

CAPÍTULO 40

Princípios Básicos da Fermentação na Ensilagem

Clóves Cabreira Jobim
Luiz Gustavo Nussio

INTRODUÇÃO

Conceitualmente, silagem é o produto da fermentação de culturas agrícolas, em condições de anaerobiose. O princípio básico da silagem é a fermentação de açúcares por bactérias, com produção de ácidos orgânicos e consequente redução do pH da massa ensilada. Embora o processo pareça bastante simples, com o uso de carboidratos solúveis próprios da forragem ou adicionados, fermentados por bactérias epífitas ou adicionadas, os possíveis caminhos da fermentação revelam um processo bastante complexo.

Portanto, um dos fatores fundamentais para a conservação do produto ensilado é o pH do meio. No entanto, o valor de pH como variável única não deve ser adotado para fazer inferências sobre a qualidade da silagem. É oportuno destacar que o termo "qualidade de silagem" deve ser empregado em referência à resposta do animal ao alimento. Invariavelmente, emprega-se o termo qualidade de silagem para definir o padrão de fermentação e a qualidade de conservação do material. Portanto, o termo não deve ser confundido com a qualidade de conservação da forragem ensilada, a qual é uma referência ao padrão de fermentação no silo e que determina a magnitude das perdas em quantidade e em qualidade da silagem.

Neste texto, enfoque será dado às fermentações homoláticas, heteroláticas e outras. Fermentações homoláticas são aquelas promovidas por bactérias que produzirão ácidos orgânicos com pequenas perdas no processo. São ditas aquelas promovidas por bactérias desejáveis, como, por exemplo, as bactérias produtoras de ácido lático. Já as fermentações indesejáveis são aquelas promovidas por microrganismos espoliadores, como, por exemplo, a atividade de

bactérias do gênero *Clostridium*. Neste contexto, as silagens apresentam diferentes perfis e concentrações de produtos da fermentação em consequência do tipo de microrganismo que atuará no processo e mesmo substrato utilizado na fermentação.

Capacidade de fermentação das plantas forrageiras

Capacidade de fermentação é a adequação da forragem à conservação na forma de silagem. Para que uma forrageira tenha bom padrão de fermentação no silo, além dos fatores ligados à tecnologia de ensilagem, são também de grande importância alguns fatores intrínsecos da planta. Dentre esses fatores, são destacados três que têm grande influência na qualidade de fermentação da massa ensilada. O teor de matéria seca, a concentração de açúcares solúveis em água e a capacidade tampão determinam em grande parte a qualidade de fermentação no silo e, por consequência, a capacidade de fermentação. Weissbach e Honig (1996), citados por Oude Elferink et al. (1999), definiram a fórmula para predizer a capacidade de fermentação, como sendo:

$$CF = MS\% + 8 \text{ [CHOs solúveis] / Poder Tampão}$$

Quando uma planta forrageira apresenta esses três fatores adequados, é então classificada como de alta capacidade de fermentação; caso contrário, tem baixa capacidade de fermentação, e cuidados especiais devem ser tomados para que a silagem tenha boa conservação. Como exemplo de plantas de alta capacidade de fermentação, destacam-se o milho e o sorgo, e como de baixa capacidade de fermentação, a alfafa e as leguminosas de maneira geral (Tabela 1).

TABELA 1- Capacidade de fermentação de plantas forrageiras.

Forrageira	Teor de MS	Carboidratos Solúveis	Capacidade Tampão	Capacidade de fermentação
Milho	Bom	Alto	Baixa	Ótima
Sorgo	Bom	Bom	Baixa	Boa
Capins	Baixo	Médio	Alta	Média
Alfafa	Baixo	Baixo	Alta	Ruim

A população epífita original das plantas também é vista como fator intrínseco responsável pelos destinos da fermentação. Estudos recentes (SANTOS et al., 2011) apontam para a alteração das rotas metabólicas de fermentação quando da alteração pronunciada da população original de microrganismos presentes na massa ensilada.

Teor de Matéria Seca

O teor de umidade da forragem no momento da ensilagem pode afetar vários aspectos do processo de conservação. Dois pontos de grande relevância: a disponibilidade de água para a atividade dos microrganismos e as perdas na forma de efluentes. Além destes, podem também ser avaliadas questões como, logística de transporte e capacidade de armazenagem dos silos (aspectos econômicos). O teor de matéria seca adequado para boa fermentação da forragem no silo está entre 28 a 40%. Valores abaixo de 28% de MS aumentam as perdas por efluentes, além de favorecer a atuação de microrganismos indesejáveis na massa ensilada. Já quando a forragem apresenta teor de MS acima de 40%, os problemas são relacionados à compactação inadequada, ocasionando uma série de fenômenos indesejáveis, determinados pela entrada de ar no silo devido à baixa massa específica. Nesta situação, haverá oportunidade para os microrganismos aeróbios e anaeróbios facultativos desenvolverem-se, com grandes prejuízos para a qualidade da silagem (PITT et al., 1991).

É fato amplamente registrado na literatura (WILKINSON, 1983; WOOLFORD, 1984; McDONALD et al., 1991; AMARAL; NUSSIO, 2011) que o excesso de umidade (80% ou mais) no momento da ensilagem implica em riscos pela ação de microrganismos indesejáveis. A elevada atividade de água (Aw) neste momento favorece o desenvolvimento das bactérias, especialmente do gênero *Clostridium* e de outras que desdobram açúcares, ácido lático, proteínas e aminoácido em ácidos acético e butírico, amônia e aminas, substâncias que afetam o consumo da silagem (WHITTEMBURRY et al., 1967; VAN SOEST, 1994; CHARMLEY, 2001; REIS et al., 2008).

Atividade da água (Aw)

O teor de MS na forragem é determinante da atividade da água (Aw), que por sua vez tem grande influência na atividade microbiana na silagem. A atividade da água é um conceito conhecido há décadas, mas somente nos últimos anos vem sendo aplicada nas indústrias químicas, farmacêuticas e alimentícias. Sua utilização, inicialmente, esteve restrita ao campo da microbiologia de alimentos, mas deve ser considerada com maior frequência no contexto de forragens conservadas.

Segundo Ditchfield (2000), o termo atividade da água foi criado para denominar a proporção de água disponível para crescimento microbiano e reações que possam deteriorar os alimentos. A Aw refere-se à medição da concentração de solutos em água e seus efeitos sobre a atividade química da água. O valor da Aw indica o nível de água em sua forma livre nos materiais e é expresso na escala de 0 a 1,0. Considera-se o valor zero para materiais livres de água e 1,0 para a água em sua forma líquida. Logo, a atividade de água pura é 1,0 e diminui com o aumento na concentração de solutos.

O desenvolvimento da maioria das bactérias e fungos está restrito a valores de Aw de 1,00 a 0,50 (Tabela 2), constatando-se que muitos dos microrganismos relacionados são comumente encontrados em silagens e fenos (www.setor1.com.br/analises/aw, 2007). Beuchat (1981) e Garcia (2004) destacaram que o limite mínimo de crescimento de fungos é de 0,78 Aw e, para a produção de aflatoxinas, é de 0,83 Aw.

TABELA 2 - Valores de atividade da água e potencial de desenvolvimento de microrganismos.

Faixa de Atividade da água (Aw)	Microrganismo capaz de se desenvolver
1,00 - 0,95	Pseudomonas, Escherichia, Proteus, Shigella, Klebsiella, Bacillus, Clostridium perfringers e algumas leveduras.
0,95 - 0,91	Salmonella, C. botulinum, Serratia, Lactobacillus, Pediococcus, alguns fungos, Rhodotorula, Pichia.
0,91 - 0,87	Muitas leveduras (Candida, Torulopsis, Hansenula), Micrococcus.
0,87 - 0,80	A maioria dos fungos, Staphylococcus aureus, a maioria das Saccharomyces spp., Debaryomyces.
0,80 - 0,75	A maioria das bactérias halófilas.
0,75 - 0,65	Fungos xerofílicos (Aspergillus chevalieri, A. candidus, Wallemia sebi), Saccharomyces bisporus.
0,65 - 0,50	Leveduras osmofílicas (Saccharomyces rouxii), poucos fungos (Aspergillus echinulatus, Monascus, Monascus bisporus).
0,50 -	Sem proliferação microbiana.

Fonte: <http://www.setor1.com.br/analises/aw/de_fi.htm> 2011

No campo da avaliação de alimentos ensilados, a Aw é de grande importância para a qualidade de fermentação e para a atividade microbiológica durante a fase de utilização da silagem (JOBIM et al., 2007; PAULY, 2009; AMARAL; NUSSIO, 2011). De acordo com Lindgren (1999), a redução na Aw pode ter efeito sinérgico na queda do pH, devido à tolerância das bactérias acidoláticas a condições de baixa umidade, assumindo grande importância na qualidade de fermentação de silagens.

Segundo McDonald et al. (1991), o crescimento de bactérias do gênero *Clostridium* é inibido com Aw abaixo de 0,94, enquanto as bactérias acidoláticas são menos sensíveis e podem dominar a fermentação em materiais ensilados com alto conteúdo de matéria seca.

Perdas por efluentes

Em relação ao teor de MS e perdas na ensilagem, a produção de efluentes merece atenção em razão da natureza dos produtos lixiviados e da redução na qualidade da silagem. Também é altamente relevante considerar os possíveis impactos ambientais ocasionados por estes efluentes.

Forragens ensiladas com alto teor de umidade apresentam perdas elevadas por efluente, que contém compostos solúveis como açúcares e ácidos orgânicos, reduzindo a qualidade da silagem. A quantidade de MS perdida depende de fatores como o teor de MS, tamanho médio de partícula (processamento) e grau de compactação (HOLMES, 2009). As perdas por efluentes, mesmo que quantitativamente não sejam elevadas, têm grande reflexo na qualidade da silagem, dada a natureza dos produtos perdidos. A ruptura de células e o extravasamento de conteúdo celular acarretam lixiviação de compostos de alto valor nutritivo, reduzindo a qualidade da silagem. Vários compostos solúveis como: açúcares, nitrogênio, ácidos orgânicos, vitaminas e minerais podem estar presentes no efluente produzido por silagens (McDONALD et al., 1991; ROTZ; MÜCK, 1994).

Na Tabela 3, são apresentados dados de produção de efluentes em silagens, sumarizados por Schmidt et al. (2011), que evidenciam o potencial de perdas por este fator.

TABELA 3 - Teor de matéria seca e produção de efluentes em silagens de gramíneas.

Forragem	MS (%)	Efluente (kg/t MV)	Referência
Capim-Marandu	19,5	39,6	Mari (2003)
Capim-Elefante	12,4	123,5	Bernardino et al. (2005)
Capim-Tanzânia	19,7	52,9	Paziani et al. (2006)
CT emurchecido	28,4	4,1	Balieiro Neto et al. (2009)
Cana-de-açúcar	25,2	6,4	Balieiro Neto et al. (2009)
Sorgo	24,1	69,7	Oliveira et al. (2010)
Milho	30,7	12,7	Junges et al. (2010)

Adaptado de Schmidt et al. (2011).

Carboidratos Solúveis

A quantidade de carboidratos solúveis (CS) em água, presentes na planta, também descritos como açúcares solúveis ou açúcares fermentescíveis, são de fundamental importância para a boa qualidade de fermentação da forragem ensilada. Os principais CS utilizados como substrato para a fermentação no silo são a glicose, frutose, sacarose e frutanos (HENDERSON, 1993). Esses açúcares são utilizados como substratos para fermentação por bactérias, produzindo ácidos orgânicos, principalmente ácido lático, que resultará na acidificação do meio e, conseqüentemente, na conservação da forragem ensilada. Plantas que apresentam baixo teor de açúcares solúveis, como, por exemplo, as leguminosas, certamente terão qualidade de fermentação inadequada e, invariavelmente, podem exigir o uso de aditivos ou emurchecimento.

Segundo McDonald et al. (1991), o valor mínimo de CS necessário para garantir fermentação láctica das silagens deve ser de 6 a 8% na MS. No entanto, segundo Ribeiro et al. (2008), somente a análise dos teores de CS da forragem, no momento da ensilagem, poderá subestimar a quantidade de substratos fermentescíveis disponível, pois assim que o material é ensilado, as he-

micelulases presentes na massa e, na seqüência, a hidrólise ácida, disponibilizam xilose e arabinose aos microrganismos, o que não é evidenciado quando o teor de CS é mensurado no momento da ensilagem.

De acordo com Woolford (1984) e Rotz e Muck (1994), durante o processo de ensilagem, as enzimas liberadas pela ruptura das células, em função do corte da forragem, e as enzimas microbianas hidrolisam proteínas, produzindo peptídeos e aminoácidos livres, e carboidratos polimerizados até açúcares simples. A ruptura das células fornece o substrato para microrganismos, como leveduras, fungos e bactérias aeróbias e anaeróbias.

Em condições normais, as plantas e as forragens de alta capacidade de fermentação, como o milho e o sorgo, apresentam teores de CS acima do estabelecido como mínimo para fermentação adequada no silo. Outras culturas, como a alfafa e gramíneas (capins) apresentam teores baixos de CS, e em alguns casos, como nas leguminosas, existe o agravante de apresentarem alta capacidade tampão e baixo teor de MS (WILKINSON et al., 2003). Na Tabela 4, são apresentados valores de CS normalmente observados em culturas para ensilagem.

TABELA 4 - Teores de carboidratos solúveis (CS) em culturas destinadas à ensilagem.

Cultura	CS (%MS)	Autor
Milho	13 a 18	Almeida Filho et al. (1999)
Sorgo	9,6 a 14,5	Pedreira et al.(2003)
Sorgo	12,24 a 19,86	Gontijo Neto et al. (2004).
Capim-Elefante	5,0	Rodrigues et al.(2005)
Braquiaria cv. Marandu	1,2	Bernardes et al.(2005)
Cana-de-açúcar	17,30 – 50,24	Garcia et al.(2011)
Alfafa	8,90 a 7,07	Rangrab et al. (2000)

Capacidade Tampão

No contexto da ensilagem, a capacidade tampão (CT) é entendida como resistência da massa de forragem ao abaixamento do pH. Didaticamente, pode-se explicar um tampão agindo como uma "esponja". À medida que se adiciona mais ácido, a "esponja" absorve o ácido sem grande alteração do pH. No entanto, a capacidade da esponja é limitada. Assim que a capacidade tampão se esgota, o pH muda mais rapidamente à medida que ácidos são liberados no meio.

A CT, também descrita como poder tampão, depende basicamente da composição da planta no que se refere ao teor de proteína bruta, íons inorgânicos (Ca, K, Na) e presença de ácidos orgânicos, como fosfórico, málico, cítrico, glicérico, entre outros (McDONALD et al., 1991; MUCK et al., 1991; BUXTON; O'KIELY, 2003). No processo de ensilagem, a CT tem conseqüências negati-

vas, pois tem relação direta com a velocidade de abaixamento do pH e por conseqüência, com as perdas de matéria seca. No processo de ensilagem, quanto mais rápido o pH da forragem ensilada atingir valores inibidores da atividade microbiana, menores são as perdas. A velocidade de abaixamento do pH da forragem ensilada depende da tecnologia empregada na ensilagem (tamanho de partícula, compactação, vedação, etc.) e de fatores intrínsecos da planta (capacidade de fermentação). Dentre as principais culturas para ensilagem, o milho e sorgo apresentam baixa CT, enquanto as leguminosas, como a alfafa, têm alta CT, e os capins apresentam valores intermediários.

Fermentações no processo de ensilagem

O termo fermentação deriva do verbo latino *fervere* que significa ferver e que é resultante do conjunto de reações bioquímicas, tais como oxirreduções, ao longo das quais a energia das moléculas orgânicas é parcialmente transferida para moléculas de ATP e em que o receptor final de elétrons é uma molécula orgânica (www.knoow.net/, 2011). A fermentação é um processo de obtenção de energia utilizado por alguns organismos. Ele ocorre com a quebra da glicose ou de outros substratos em piruvato, que depois é convertido no produto final, como o lactato e álcool etílico (McDONALD et al., 1991).

Muitas bactérias não são tolerantes ao oxigênio, por isso são denominadas de anaeróbias obrigatórias, e somente sobrevivem em ambientes redutores. No entanto, outras bactérias mais especializadas conseguem adaptar-se a situações diversas: tanto na presença quanto na ausência de oxigênio, sendo chamadas de anaeróbias facultativas. Esse processo facultativo não é restrito apenas às bactérias, ocorrendo também em alguns tipos de fungos (as leveduras) de grande importância no processo de ensilagem (www.mundoeducacao.com.br/, 2011).

Fermentação homolática

Em razão da capacidade de produzir ácido lático como produto primário da fermentação de carboidratos, bactérias de diferentes gêneros são descritas como bactérias acidoláticas (BAL). Normalmente, seis gêneros (*Lactobacillus*, *Pedococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Lactococcus* e *Streptococcus*) são associados à atividade microbiana em silagens (PAHLOW et al., 2003). Dadas as diferenças na eficiência de produção de ácido lático a partir da fermentação de hexoses, as BALs são divididas em dois grupos. As BALs que produzem somente ácido lático a partir da fermentação de hexose são classificadas como homofermentativas, enquanto aquelas que produzem além do ácido lático outros produtos, como etanol e/ou ácido acético e CO_2 , são classificadas como heterofermentativas. Em relação à eficiência no uso do substrato, a via homofermentativa é mais eficiente, sem perda de MS e pequenas perdas de energia (Tabela 5). No entanto, segundo Pahlow et al. (2003), os dois caminhos de fermentação lática podem ocorrer simultaneamente.

A fermentação lática consiste na oxidação anaeróbia, parcial, de hidratos de carbono, com a produção final de ácido lático além de outras substâncias orgânicas. É processo microbiano de grande importância utilizado pelo homem na produção de latices e na conservação de forragens. Após a absorção dos monossacarídeos pe-

las células microbianas, cada molécula é clivada em ácidos pirúvico que são convertidos em ácidos lático, que também contém três átomos de carbono.

As bactérias acidoláticas (BAL) são o principal grupo de microrganismos que atuam no processo fermentativo para a conservação da massa ensilada e produzem principalmente ácido lático como produto da fermentação dos açúcares (McDONALD et al., 1991; ROOKE; HATFIELDS, 2003). No entanto, para que esse processo fermentativo ocorra com sucesso, são necessárias condições de anaerobiose, substrato adequado e uma população suficiente de BAL.

A utilização dos açúcares pelas BALs promove pequena variação na qualidade da forragem. A maioria das BALs fermentam somente mono e dissacarídeos. Entretanto, há evidências da hidrólise, por enzimas da planta, de amido e de hemicelulose, fornecendo hexoses e pentoses para a fermentação. Nesse caso, a medida dos carboidratos solúveis pode vir a subestimar o substrato disponível para a fermentação lática.

Durante o processo fermentativo, haverá perda de matéria seca e de energia, em maior ou menor proporção, em função da atuação dos vários tipos de microrganismos que podem desenvolver-se na massa ensilada. No caso das BALs as perdas de energia e de matéria seca são pequenas. Segundo Wilkinson et al. (2003), a fermentação por bactérias homofermentativas pode ser representada como: Glicose ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$) ou Frutose + 2 ADP + 2 P_i = 2 lactato ($\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3$) + 2 ATP + 2 H_2O . Nesse processo, as perdas de MS são nulas, e a perda de energia é de 0,7%.

Fermentação Heterolática

Estes mesmos autores descrevem a fermentação por bactérias heterofermentativas como: Glicose + ADP + P_i = lactato + etanol + CO_2 + ATP + H_2O ou Frutose + 2 ADP + 2 P_i = lactato + acetato + 2 manitol + 2 CO_2 + 2 ATP + H_2O . Quando o substrato para fermentação é glicose, as perdas de MS são de 24%, e as de energia, de 1,7%, e quando o substrato é frutose, as perdas são de 4,8% para MS e 1,0% para energia.

O conhecimento da atividade das BALs na fermentação de forragens ensiladas tem sido de grande importância na produção de inoculantes microbianos, visando ao aumento da estabilidade aeróbia da silagem. Embora a fermentação heterolática ocasiona maiores perdas na fase de fermentação anaeróbia no silo, o aumento da concentração de ácido acético é fator altamente determinante da redução da atividade de leveduras e de fungos durante a fase de utilização da silagem. Portanto, concentrações adequadas de ácido acético podem resultar em redução nas

perdas totais na armazenagem e no uso de silagens.

Fermentação por Enterobactérias.

A família *enterobactericea* é de interesse no processo de ensilagem em razão de incluir um grande número de patógenos que podem atacar homens, animais e plantas. As enterobactérias são bacilos Gram-negativos anaeróbios facultativos, que competem com as bactérias acidoláticas pelos açúcares no início do processo de fermentação da massa ensilada, produzindo principalmente ácido acético (PAHLOW et al., 2003; ADESOGAN; QUEIROZ, 2009).

Imediatamente após a eliminação do oxigênio no silo, a fermentação anaeróbia inicia-se pelo crescimento de enterobactérias que normalmente crescem intensivamente durante os primeiros dias de ensilagem, mas sua população decresce rapidamente à medida que o meio é acidificado, sendo geralmente inibidas em pH abaixo de 5,0 (PAHLOW et al., 2003). Um grande número de enterobactérias na forragem é capaz de retardar, temporariamente, a produção de ácido lático e acético. De acordo com Pahlow et al. (2003) e Adesogan e Queiroz (2009), esse comportamento pode ser devido à competição entre enterobactérias e bactérias acidoláticas pelos açúcares solúveis no início do processo de fermentação.

O mecanismo de fermentação das enterobactérias é semelhante ao das bactérias acidoláticas heterofermentativas, ocasionando perdas de matéria seca e pequenas perdas de energia (MCDONALD et al., 1991; PAHLOW et al., 2003). Os principais produtos da fermentação por enterobactérias são ácido acético, etanol e também compostos de quatro carbonos, como acetoína e 2,3butanodiol (ROOKE; HATFIELD, 2003). Além disso, as enterobactérias têm capacidade para deaminar e descarboxilar aminoácidos, sendo que algumas estirpes reduzem nitrato para nitrito e óxido-nítrico, formando gases no interior do silo (PAHLOW et al., 2003, ROOKE; HATFIELD, 2003). Consequentemente, alguma perda de proteína pode resultar da atividade das enterobactérias no processo inicial da fermentação.

Durante a deterioração aeróbia das silagens, a qual é associada com degradação de ácido lático e consequente elevação do pH, as enterobactérias têm oportunidade adicional para reiniciar o crescimento. Assim sendo, uma correta tecnologia durante a ensilagem e a descarga do silo, no momento da utilização da silagem, pode contribuir para reduzir possíveis contaminações por enterobactérias e consequente redução no risco sanitário aos animais que consumirão a silagem.

Fermentação butírica

Fermentação butírica é a reação química realizada por ação de bactérias do gênero *Clostridium* na ausência de oxigênio, por meio da qual se forma o ácido butírico. As bactérias anaeróbias do gênero *Clostridium* têm efeito negativo sobre a qualidade da silagem, especialmente se o pH não for suficientemente baixo para inibir seu crescimento. Esses microrganismos fermentam açúcares, ácido lático e aminoácidos produzindo ácidos butírico, acético, propiônico, etanol e aminas (ROOKE; HATFIELD, 2003). Esse tipo de fermentação resulta em significativas perdas de matéria seca, e os produtos da fermentação podem reduzir a palatabilidade da silagem (VAN SOEST, 1994; REIS et al., 2008; ADESOGAN; QUEIROZ, 2009). Wilkinson et al. (2003) descrevem a fermentação por clostrídeos como sendo: $2 \text{ Lactato} + \text{ADP} + \text{P}_i = \text{Butirato} + 2 \text{ CO}_2 + 2 \text{ H}_2 + \text{ATP} + \text{H}_2\text{O}$. Segundo McDonald et al. (1991), nesse processo, as perdas de MS são de 51,1%, enquanto as perdas de energia são de 18,4%.

A acidez da silagem é fator de grande importância no controle de fermentações por clostrídeos. O pH no qual a atividade dos clostrídeos cessa está na dependência da atividade da água, relacionada ao teor de matéria seca da silagem. Isso está ligado ao fato de que os clostrídeos são sensíveis ao aumento na pressão osmótica. A atividade dessas bactérias diminui acentuadamente em silagens com alto teor de matéria seca, enquanto em forragens com alta umidade os clostrídeos podem tolerar altas concentrações de ácidos e íons H^+ , sendo necessário pH baixo para conservar a silagem (MCDONALD et al., 1991; ADESOGAN; QUEIROZ, 2009).

Outra desvantagem da fermentação por clostrídeos (MCDONALD et al., 1991) é que o ácido butírico é fraco para a conservação da silagem, e há grandes perdas de energia durante o processo fermentativo (mais de 20%), em relação à fermentação lática onde as perdas de energia são reduzidas (menos de 5%).

A fermentação por clostrídeos em silagens caracteriza-se por lenta elevação de temperatura no silo, alto pH, alto teor de nitrogênio solúvel em água, alto nitrogênio volátil e baixa concentração de ácido lático. O ácido butírico presente na silagem é indicador de extensão em que ocorreu a atividade dos clostrídeos, uma vez que, em condições normais, esse produto é produzido apenas por essas bactérias.

Os açúcares e também o ácido lático são utilizados pelos clostrídeos como fonte de energia de forma similar, sendo ácido butírico, CO_2 e H^+ os produtos finais desta fermentação (MCDONALD, et al., 1991; PAHLOW et al., 2003). Esse tipo de fermentação ocasiona perdas em três

níveis: 1°) formação de produtos gasosos (CO₂ e H₂); 2°) redução de açúcares solúveis; 3°) transformação de ácido forte (lático) em ácido fraco (butírico).

De acordo com a literatura (McDONALD et al., 1991; PAHLOW et al., 2003), os clostrídeos podem ser divididos em três grupos: a) **Clostridium sacarolítico** (ex.: *C. tyrobutiricum*, *C. butyricum*), que são aqueles que produzem ácido butírico a partir da fermentação de açúcares e ácido lático (2 glicose → 2 ác. butírico + 4 CO₂ + 4H₂; 2 ác. lático → 1 ác. butírico + 2 CO₂ + 2H₂); b) **Clostridium proteolítico** (ex.: *C. sporogenes*) são aqueles que fermentam aminoácidos com produção de vários ácidos, (butírico, acético, propiônico) amônia e aminas (histamina, putrescina, cadaverina) e CO₂; c) **Clostridium sacaroproteolítico** (ex.: *C. sporogenes*, *C. perfringens*) que são aqueles que fermentam ambos, açúcares e aminoácidos.

Fermentação alcoólica

É o processo pelo qual certos açúcares, principalmente sacarose, glicose e frutose, são transformados em álcool etílico (ou etanol). Entretanto, para que isto ocorra, torna-se necessária a ação de um "pool enzimático" (produzido por leveduras) para o desdobramento destes açúcares em álcool.

As leveduras são encontradas em todo tipo de silagem, principalmente em silagens que têm a fase inicial aeróbia prolongada. A maioria dos fungos necessita de oxigênio para o crescimento; no entanto, algumas leveduras crescem em condições anaeróbias (anaeróbias facultativas), podendo manter altas populações nessas condições pela fermentação alcoólica dos açúcares (Glicose 2ADP + 2 Pi → 2 etanol + 2CO₂ + 2ATP + 2H₂O). Segundo McDonald et al. (1991) e Wilkinson et al. (2003), nessa situação, as perdas de MS são elevadas (48%), enquanto as perdas de energia são pequenas (0,2%).

Muitas espécies de leveduras são relativamente insensíveis ao pH, sendo encontradas em silagens com pH variando de 3,7 a 6,5, podendo manter altas populações sob condições anaeróbias pela fermentação dos açúcares. As leveduras podem utilizar açúcares e também ácido lático, empreendendo competição com as bactérias ácido lácticas no início do processo fermentativo, formando principalmente etanol. A formação de etanol não tem valor preservativo para a silagem, com o agravante de ocasionar perdas de MS.

Embora não ocorra perda energética significativa no silo, a possível volatilização e a conversão de etanol em ácido acético, no rúmen, geram perda de energia efetivas para o animal.

Segundo Rooke e Hatfield (2003), em anaerobiose, os produtos da fermentação são ácidos (acético, lático, propiônico) e também álcoois (butanol, propanol), mas na presença do O₂, o ácido lático é transformado em ácido acético, CO₂ e H₂O, acompanhado de elevação da temperatura e do pH da silagem. A fermentação em aerobiose por leveduras é a principal razão para a deterioração da silagem quando exposta ao O₂. Atualmente, ênfase é dada à atividade de leveduras na fase de descarga do silo (fase de alimentação), uma vez que esses microrganismos são os principais responsáveis pelo início da deterioração aeróbia da silagem.

Na Tabela 5 (McDONALD et al., 1991), é apresentado um resumo dos principais tipos de fermentação que ocorrem em silagens, seu produto final e as estimativas de recuperação de MS e de energia. Também Jobim e Gonçalves (2003) sumarizaram os principais fenômenos que podem ocorrer no processo de ensilagem e possíveis consequências para a qualidade da silagem (Tabela 6).

TABELA 5 - Produto final da fermentação e recuperação de matéria seca e de energia em silagens.

Tipo de Fermentação	Produto final	Recuperação de MS (%)	Recuperação de energia (%)
Homolática (Glicose)	Ácido lático	100	99
Heterolática (Glicose)	Ácido lático, etanol, CO ₂	76	98
Heterolática (Frutose)	Ácido lático, acetato, manitol, CO ₂	95	99
Levedura (Glicose)	Etanol, CO ₂	51	99
Clostrídeo (Glicose, ác. lático)	Ácido butírico, CO ₂	49	82

Fonte: McDonald et al. (1991).

TABELA 6 - Fenômenos que podem ocorrer no processo de ensilagem e consequências para a qualidade da forragem.

Fermentação	Presença de O ₂	pH		Substrato	Produto Final	Resultado na Silagem
		Ótimo	Limite			
Fermentação Homolática	Não	4,5 - 5,0	3,2 - 3,8	Açúcares	Ác. Lático	Rápida ↓ pH Inibe fermentações indesejáveis
Fermentação Heterolática	Não	5,5 - 6,0	3,8 - 4,4	Açúcares Ác. Orgânicos	Lático Acético Álcool CO ₂	Ácido forte Ácido fraco Perdas de MS
Fermentação Acética	Sim/não	7,0	4,3 - 4,6	Açúcares	Ác. Acético Álcool CO ₂	Ácido Fraco Perdas de MS
Fermentação Butírica	Não	7 - 7,5	4,0 - 4,8	Açúcares Lático Proteínas	Ác. Butírico Amônia Aminas CO ₂	Ácido fraco Perdas de MS Perdas de PB Baixo consumo
Fungos	Sim	5,0 - 7,0	2,5 - 3,5	Açúcares MO	Amônia CO ₂	Perdas de MS Baixo consumo
Leveduras	Sim/não	4,0 - 6,0	1,3 - 2,5	Açúcares Ác. Lático	Ác. Acético Álcool, CO ₂	Elevação do pH Perda de MS

Jobim e Gonçalves (2003).

Processos fermentativos nas diferentes fases de produção e utilização de silagem

A conservação de forragens como silagens envolve um complexo processo bioquímico e microbiológico, da colheita até sua utilização na alimentação animal. A forragem ensilada é conservada por meio de fermentações, conforme apresentado anteriormente, passando por várias fases. A atividade microbiológica em cada uma destas fases tem grande efeito na qualidade final do produto.

Fase aeróbia no campo: Esta é uma fase relativa à tecnologia de produção de silagem pré-secada. Por ocasião da ensilagem, as forrageiras que apresentam alto teor de umidade (18 a 25% de MS), normalmente, produzem silagem de baixa qualidade, não só pela drenagem de nutrientes, como também pela degradação de proteínas e pela possibilidade de fermentação butírica. O pré-murchamento ou desidratação parcial de forragens com alta umidade pode melhorar a qualidade da silagem. A perda de efluentes é reduzida, e a fermentação por clostrídeos é restringida em razão da redução na Aw.

Fase aeróbia no silo: É o primeiro estágio, envolvendo a morte dos tecidos das plantas e rápida exaustão do oxigênio, em conjunto com a proliferação de bactérias aeróbias. A respiração ajuda a criar um ambiente anaeróbio no silo. No entanto, excessiva respiração é indesejável porque reduz o conteúdo de energia da silagem com menor disponibilidade de CS para fermentação pelas BALs além de produzir calor excessivo. Portanto, um dos fatores mais importantes

na qualidade da silagem é a disponibilidade de oxigênio na massa ensilada, promovendo a respiração da planta, o crescimento de microrganismos e, conseqüentemente, a liberação de calor, aumentando os produtos da reação de Maillard (McDONALD et al., 1991; WILKINSON et al., 2003). Durante essa fase, os CS são convertidos a CO₂ e H₂O nas células das plantas e pelos microrganismos aeróbios, com liberação de calor. Esse processo continua até que o O₂ seja eliminado do meio. Em condições ideais de umidade, tamanho das partículas e compactação, a fase aeróbia pode durar poucas horas (WILKINSON et al., 2003). No entanto, um silo com vedação inadequada e mal compactado pode ter este efeito negativo prolongado, reduzindo a estabilidade da silagem pela proliferação de microrganismos aeróbios como fungos e leveduras.

A fase aeróbia é ineficiente em perspectivas de conservação do material ensilado, porém pode trazer alguns benefícios como: criar condições anaeróbias; produzir compostos bioquímicos (antimicrobóticos) que aumentam a estabilidade das silagens durante o descarregamento dos silos (McDONALD et al. 1991; ROOKE; HATIFIELD, 2003). As principais desvantagens de uma fase aeróbia prolongada são: excessiva perda de MS (principalmente forrageiras ricas em carboidratos solúveis); temperaturas elevadas no interior do silo com aumento nos produtos de Maillard e queda na qualidade da silagem.

Fase de colonização (lag-phase): É uma fase de curta duração (poucas horas) entre a fase aeróbia e a fase de fermentação ácida (fase ana-

eróbia). Nessa fase, inicia-se um rápido crescimento de microrganismos anaeróbios, principalmente bactérias lácticas, que promoverão intensa produção de ácidos orgânicos, com consequente queda no pH do meio (VAN SOEST, 1994; ROOKE; HATFIELD, 2003).

Fase de fermentação (fase anaeróbia): A fase de fermentação é a fase mais longa no processo de ensilagem, continuando até que o pH da forragem seja suficientemente baixo para inibir o crescimento potencial de todos os microrganismos. O tempo de fermentação depende, principalmente, de características intrínsecas da forragem (teor de carboidratos solúveis, capacidade tampão, teor de matéria seca) e da tecnologia de ensilagem (compactação, tamanho de partícula, tempo de enchimento do silo, vedação).

Os microrganismos anaeróbios que se desenvolvem na silagem fermentam hexoses (glicose e frutose) e pentoses (ribose e xilose), produzindo etanol, ácidos graxos voláteis (AGV), ácido láctico e CO₂ (McDONALD et al., 1991; PAHLOW et al., 2003). Quanto mais rápida for a fermentação, com rápida acidificação da massa ensilada, melhor será a qualidade da silagem em função da redução nas perdas de MS. Porém, se a acidificação é lenta, o resultado será silagem com alto teor de ácido acético (podendo também ocorrer fermentação butírica) e alto teor de nitrogênio solúvel/N total. Isso ocorre porque, segundo Pahlow et al. (2003), no início dessa fase, microrganismos (anaeróbios e anaeróbios facultativos), tais como enterobactérias, clostrídeos e leveduras, podem competir com as BALs pelos CS. De acordo com McDonald et al. (1991), à medida que o pH declina, a atividade de enterobactérias e clostrídeos é inibida, com dominância de fermentação por BAL.

Dependendo das práticas de manejo (idade em que a cultura foi cortada, teor de umidade, compactação, etc.) e da população de BAL, uma variada quantidade de AGV (acético, propiônico, butírico), ácido láctico e vários isoácidos serão produzidos. O ácido láctico é o mais forte, sendo o mais efetivo para o rápido declínio do pH e a manutenção da estabilidade da silagem durante a armazenagem no silo. Em silagens onde houve boa fermentação, o ácido láctico, geralmente, compõe mais de 60% do total de ácidos orgânicos, com concentração entre 3 e 8% na MS.

Fase de estabilidade em anaerobiose: Esta fase é caracterizada pela baixa atividade de microrganismos, com pequenas alterações na composição química da silagem. Quando a silagem está estável em condições de ausência de

oxigênio, significa que a silagem está pronta para ser consumida pelos animais.

De acordo com Rotz e Muck (1994) e Pahlow et al. (2003), somente enzimas tolerantes a acidez continuam em atividade, podendo ocorrer lenta hidrólise ácida de carboidratos estruturais e de reserva. Isso pode ser uma importante fonte de CS para algumas espécies de leveduras altamente tolerantes ao meio ácido que se mantêm quase inativas durante a fase de armazenagem da silagem.

Fase aeróbia pós-abertura: A estabilidade aeróbia da silagem pode ser definida como a resistência da massa de forragem à degradação após a abertura do silo. Ou seja, estabilidade aeróbia da silagem nada mais é do que a velocidade com que a massa deteriora após a abertura do silo. A estabilidade aeróbia é definida por O'Kiely et al. (2001) como o tempo que a silagem leva para atingir temperatura superior a 20°C acima da temperatura ambiente.

A estabilidade da silagem é determinada pela deterioração aeróbia que ocorre após a abertura do silo. Portanto, a concentração de oxigênio e a profundidade que o ar penetra no silo são fatores-chave. Isso evidencia que a massa específica (kg de silagem/m³) determina a porosidade da silagem e, por consequência, a concentração de oxigênio no painel do silo. A atividade dos microrganismos que decompõem a silagem será mais intensa, quanto melhor for a qualidade da silagem, em função dos maiores teores de CS e de ácido láctico residuais. Os principais substratos utilizados pelos microrganismos deterioradores são os ácidos, a proteína e os açúcares solúveis, resultando em aumento do pH e em redução na digestibilidade e no conteúdo de energia. Schlatter e Smith (1999) afirmam que a alteração na concentração de nutrientes afeta negativamente a digestibilidade do alimento. O consumo de MO digestível é ainda mais reduzido pelo menor consumo de alimento.

A deterioração aeróbia da silagem está associada, principalmente, com o desenvolvimento de fungos e leveduras. De forma geral, o processo inicia-se com leveduras, que oxidam açúcares e ácido láctico até CO₂ e água (PAHLOW et al., 2003).

As pesquisas sobre deterioração de silagens durante a utilização evidenciam que a temperatura, a concentração de CS, a população de fungos e a concentração de ácidos orgânicos em interação com o pH são os parâmetros que mais afetam a estabilidade das silagens durante a fase de utilização. O aumento do pH após a exposição da silagem ao ar, queda no teor de CS e baixa concentração de ácido láctico são impor-

tantes indicadores da deterioração, com redução significativa da qualidade da silagem. Mas, em condições de campo, a deterioração da silagem pode ser facilmente identificada pela elevação da temperatura no painel do silo, e, em estágio mais avançado, a presença de bolores.

Padrão de fermentação e qualidade da silagem

O princípio básico para obter-se uma silagem de alta qualidade é utilizar uma forrageira de bom valor nutritivo e empregar tecnologia apropriada em todas as fases do processo de ensilagem. Cabe lembrar que se pode obter uma silagem de baixa qualidade de uma forrageira de alta qualidade, se a tecnologia empregada não for adequada. Da mesma forma, jamais será obtida uma silagem de alta qualidade a partir de uma forrageira de baixa qualidade. Nesse contexto, é importante destacar as alterações que podem ocorrer na qualidade da forragem em função do processo de ensilagem.

Como foi evidenciado no presente texto, o processo de fermentação na ensilagem altera a composição química da forragem. Essas alterações podem ser relevantes, influenciando o valor alimentício do volumoso. Por exemplo, em caso de fermentações indesejáveis, poderá resultar em silagem com alto teor de produtos inibidores de consumo, como, por exemplo, o ácido butírico, amônia, aminas e ácido acético. Dessa forma, além das perdas no valor nutricional (perdas de nutrientes) haverá grandes prejuízos em razão do baixo consumo animal, e em consequência da queda no desempenho animal.

No processo de ensilagem as principais perdas são de conteúdo celular e consequência da atividade fermentativa nas diferentes fases do processo. Em situações inadequadas, poderá haver aumento significativo da fração fibra da forragem. Sabe-se que dietas com alto teor de fibra não fornecem energia suficiente para altas produções de leite ou ganho de peso, comprometendo a expressão do potencial genético dos animais. Essa pode ser uma situação facilmente encontrada quando da administração de silagem de capim de baixa qualidade ou mesmo silagem de milho ou sorgo com baixo teor de grãos.

Em adição, os componentes voláteis originados da fermentação constituem-se em fonte energética importante para os animais e raramente são considerados no conteúdo energético das silagens.

O controle de perdas no processo de ensilagem é considerado passo fundamental para garantir eficiência a essa estratégia e atribuir profissionalização ao segmento de conservação de forragens.

REFERÊNCIAS

- ADESOGAN, A.T.; QUEIROZ, O.C.M. Silage pathogenicity and implications for the ruminant production chain. In: INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON FORAGE QUALITY AND CONSERVATION, 2009, São Pedro. *Proceedings...* p.225-241.
- ALMEIDA FILHO, S.L.; FONSECA, D.M.; GARCIA, R.; et al. Características Agronômicas de Cultivares de Milho (*Zea mays* L.) e Qualidade dos Componentes e Silagem. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v.28, n.1, p.7-13, 1999.
- AMARAL, R.C. NUSSIO, L.G. Fungos e micotoxinas em silagens. In: SIMPÓSIO SOBRE PRODUÇÃO E UTILIZAÇÃO DE FORRAGENS CONSERVADAS, 2011, Maringá. *Anais...* Maringá: Ed. Sthampa, 2011 p. 221-250.
- ANALISE DE ALIMENTOS. 2007. Disponível em: <www.seorl.com.br/analises/aw/de.fi.htm>. Acesso em: 17 maio 2011.
- BALIEIRO NETO, G.; SIQUEIRA, G.R.; NOGUEIRA, J.R. et al. Perdas fermentativas e estabilidade aeróbia de silagens de cana-de-açúcar aditivadas com cal virgem. *Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal*, Salvador, v.10, n.6, p. 24-33, 2009.
- BERNARDES, T. F.; REIS, R. A.; MOREIRA, A. L. Fermentative and microbiological profile of marandu-grass ensiled with citrus pulp pellets. *Scientia Agrícola*, Piracicaba, v. 62, n.3, p. 214-220, 2005.
- BERNARDINO, F.S.; GARCIA, R.; ROCHA, F.C. et al. Produção e características do efluente e composição bromatológica da silagem de capim-elefante contendo diferentes níveis de casca de café. *Revista Brasileira de Zootecnia*, Viçosa, MG, v.34, n.6, p. 2185-2191, 2005.
- BEUCHAT, L.R. Microbial stability as affected by water activity. *Cereal Foods World*, Minneapolis, v. 26, n.7, p.345-349, 1981.
- BUXTON, D.R.; O'KIELY, P. Preharvest factors affecting ensiling. In. BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. *Silage science and technology*. Madison: ASA, CSSA, SSSA, 2003. p. 199-250. (Agronomy, 42)
- CHARMLEY, E. Towards improve silage quality: a review. *Canadian Journal of Animal Science*, Ottawa, n.81, p.57-168, 2001.
- DITCHFIELD, C. *Estudos dos métodos para a medida da atividade da água*. 2000. 195 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Escola Politécnica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2000.