

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO NORTE FLUMINENSE DARCY RIBEIRO

JOSÉ RIBEIRO DE MEIRELLES JÚNIOR

EFEITO DA CASCA DE CAMARÃO TRATADA NA QUALIDADE E  
PRESERVAÇÃO DA SILAGEM DE MILHO

Campos dos Goytacazes – RJ

2024

JOSÉ RIBEIRO DE MEIRELLES JÚNIOR

EFEITO DA CASCA DE CAMARÃO TRATADA NA QUALIDADE E  
PRESERVAÇÃO DA SILAGEM DE MILHO

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de produção de ruminantes no trópico úmido.

ORIENTADOR: Prof. Tadeu Silva de Oliveira

Campos dos Goytacazes

2024

**FICHA CATALOGRÁFICA**

UENF - Bibliotecas

Elaborada com os dados fornecidos pelo autor.

M514 Meirelles Júnior, José Ribeiro de.

Efeito da casca de camarão tratada na qualidade e preservação da silagem de milho / José Ribeiro de Meirelles Júnior. - Campos dos Goytacazes, RJ, 2024.

46 f. : il.  
Inclui bibliografia.

Dissertação (Mestrado em Ciência Animal) - Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias, 2024.  
Orientador: Tadeu Silva de Oliveira.

1. aditivo. 2. conservação . 3. estabilidade aeróbica. I. Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro. II. Título.

CDD - 636



Governo do Estado do Rio de Janeiro  
Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro  
Centro de Ciências e Tecnologias Agropec.

## DECLARAÇÃO

Declaro para fim de validação da ata de defesa de Dissertação de José Ribeiro de Meirelles Júnior, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre, que foi aprovada pelo membro da banca Elizabeth Fônsaca Processi, impossibilitada de assinar presencialmente.

Campos dos Goytacazes, 21 março de 2024

Tadeu Silva de Oliveira  
Orientador e Presidente da Banca de Defesa  
ID. Funcional 4467986-6



Documento assinado eletronicamente por **Tadeu Silva de Oliveira, Professor**, em 21/03/2024, às 15:44, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento nos art. 28º e 29º do [Decreto nº 48.209, de 19 de setembro de 2022](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [http://sei.rj.gov.br/sei/controlador\\_externo.php?acao=documento\\_conferir&id\\_orgao\\_acesso\\_externo=6](http://sei.rj.gov.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=6), informando o código verificador **70815653** e o código CRC **64F57B00**.

Referência: Processo nº SEI-260009/004636/2023

SEI nº 70815653

Avenida Alberto Lamego, 2000, - Bairro Pq. Califórnia, Campos dos Goytacazes/RJ, CEP 28013-602  
Telefone: - www.uenf.br

JOSÉ RIBEIRO DE MEIRELLES JÚNIOR

**EFEITO DA CASCA DE CAMARÃO TRATADA NA QUALIDADE E  
PRESERVAÇÃO DA SILAGEM DE MILHO**

Dissertação apresentada ao Centro de Ciências e Tecnologias Agropecuárias da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ciência Animal, na área de concentração de produção de ruminantes no trópico úmido.

Aprovada em 22 de fevereiro de 2024.

BANCA EXAMINADORA

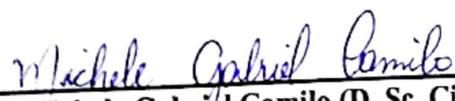


---

Prof. Dr. Alberto Magno Fernandes (D. Sc, Zootecnia) – UENF

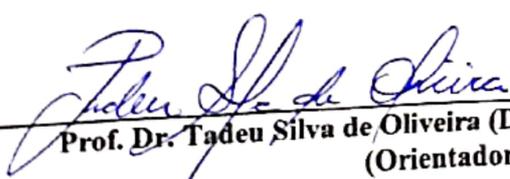
---

Profª Elizabeth Fônsaca Processi (D. Sc, Ciência Animal) – UFRRJ



---

Profª Michele Gabriel Camilo (D. Sc, Ciência Animal) – FAETEC



---

Prof. Dr. Tadeu Silva de Oliveira (D. Sc, Zootecnia) – UENF  
(Orientador)

**Dedico aos meus pais,  
Sônia Vieira e José Ribeiro.**

## AGRADECIMENTOS

A Deus, pelo dom da vida, por estar presente em todos os momentos da minha vida, me protegendo e me dando forças para superar todos os obstáculos que surgiram ao longo da vida.

Aos meus pais, Sônia Maria Vieira Meirelles e José Ribeiro de Meirelles. Aos meus irmãos Jarbas, Jardel e Juliano, por sempre apoiarem minhas decisões e lutarem junto comigo para que este sonho se tornasse realidade.

À Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, em especial ao programa de Pós-Graduação em Ciência Animal. Agradeço a oportunidade e o conhecimento adquirido durante o mestrado.

Ao professor e orientador Tadeu Silva Oliveira pela orientação, incentivo, apoio e contribuição na pesquisa. Obrigado por todo o suporte para alcançar os objetivos traçados e pelo seu diferencial como orientador, estando sempre presente durante as atividades do meu mestrado.

Ao professor Alberto Magno Fernandes pelos conselhos, amizade, confiança depositada e suporte ao trabalho.

Agradeço a todos os funcionários da UENF e da UFRRJ, em especial ao Sr. Paulo Roberto Bernardo Laurindo, matrícula-10544/5, ao Sr. Sérgio Américo Ribeiro, matrícula-10542/9 “Bonerge” e Robson Alves de Carvalho, matrícula 10376/2 “Robinho”, estendendo também esse agradecimento a Elizabeth Processi, que foi de grande ajuda no cumprimento das atividades.

Ao grupo NUPRO pela amizade, aprendizado e por toda a parceria ao longo desses dois anos.

À minha namorada, Naiane, que sempre me ouviu e acreditou em mim. Agradeço a paciência e por estar disponível para me ajudar sempre. Obrigado também pelos momentos de descontração e pela confiança de que tudo daria certo.

Em especial, agradeço ao meu pai, que foi responsável pelos primeiros contatos com as Ciências Agrárias.

Agradeço aos meus amigos Dion Lenon e Gustavo Torres. Obrigado pela amizade de longa data e essenciais momentos de descontração. Vocês foram muito importantes.

Aos amigos(as) da UENF, em especial: Ismael, Bruno, Lilian e Elon. Agradeço a amizade, ajuda nas atividades de pesquisa e por nossos momentos agradáveis juntos. Agradeço a todos que, de alguma forma, colaboraram com a minha formação profissional.

“O presente trabalho foi realizado com apoio da Fundação Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.”

**“A imaginação é mais importante que a ciência, porque a ciência é limitada, ao passo que a imaginação abrange o mundo inteiro”. (Albert Einstein)**

## RESUMO

**MEIRELLES JR, José Ribeiro, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Fevereiro de 2024. *Efeito da casca de camarão tratada na qualidade e preservação da silagem de milho.* Orientador: Tadeu Silva Oliveira.**

O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito da casca de camarão tratada química ou termicamente adicionada na silagem de milho sobre a composição química, degradação *in vitro*, perdas fermentativas, contagem microbiológica, perfil fermentativo e estabilidade aeróbica. O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Zootecnia da Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, no município de Campos dos Goytacazes/RJ. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos avaliados foram: Controle (CON) ensilagem de milho sem aditivo; 185 g de casca de camarão moída na ensilagem de milho (GSS); 185 g de casca de camarão tratada termicamente na ensilagem de milho (SSH); 75 g de casca de camarão tratada com NaOH na ensilagem de milho (SSNaOH); 55 g de quitosana na ensilagem de milho (CHI). Os aditivos afetaram ( $P < 0,05$ ) a composição química da silagem de milho. A utilização da SSH na silagem de milho promoveu o aumento nos teores de matéria seca (MS) ( $P < 0,001$ ), proteína bruta (PB) ( $P < 0,001$ ) e a redução da fibra em detergente neutro (FDN) ( $P = 0,002$ ), fibra em detergente ácido (FDA) ( $P < 0,001$ ), lignina (Lig) ( $P = 0,004$ ), celulose (Cel) ( $P < 0,001$ ) e hemicelulose (Hem) ( $P = 0,002$ ) em relação ao CON. Ao analisarmos a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), não observamos influência dos aditivos na silagem ( $P = 0,296$ ). Porém, o GSS e SSNaOH reduziram a DIVMS em 11,47 e 6,19%, respectivamente. Os aditivos não afetaram a temperatura de abertura do silo ( $P = 0,995$ ), porém o GSS aumentou ( $P < 0,001$ ) o pH em 31,11% em relação ao CON. Os aditivos promoveram maior ( $P < 0,001$ ) perda de nitrogênio amoniacal ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) na silagem. Os aditivos não afetaram as concentrações dos ácidos acético ( $P = 0,933$ ) e butírico ( $P = 0,317$ ). Entretanto, reduziu as concentrações de ácido propiônico ( $P = 0,05$ ). Os aditivos aumentaram ( $P < 0,001$ ) as perdas por gases, mas não afetaram as perdas por efluentes ( $P = 0,372$ ). Entretanto, somente o GSS não promoveu aumento ( $P = 0,006$ ) na recuperação da matéria seca. O SSH aumentou ( $P = 0,045$ ) a população de bactérias ácido-láticas (BAL's) em relação aos demais tratamentos. Já a população de fungos não foi afetada pela utilização de aditivos ( $P = 0,527$ ). Ao analisarmos a estabilidade aeróbica, observamos que os tratamentos GSS e SSH promoveram maiores ( $P < 0,001$ ) estabilidade na silagem ao longo tempo. Já em relação ao pH, o SSH manteve ( $P < 0,001$ ), ao longo do tempo, uma variação de 0,35. Em conclusão, observamos que a casca de camarão tratada termicamente apresenta um ótimo potencial como aditivo para a conservação na silagem de milho.

**Palavras-chave:** aditivo, conservação, estabilidade aeróbica.

## ABSTRACT

**MEIRELLES JR, José Ribeiro, M. Sc., Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, February 2024. *Effect of treated shrimp shells on the quality and preservation of corn silage.* Supervisor: Tadeu Silva Oliveira.**

The aim of this study was to evaluate the effect of chemically or thermally treated shrimp shells added to corn silage on its chemical composition, *in vitro* degradation, fermentation losses, microbiological count, fermentation profile and aerobic stability. The study was carried out at the Zootechnics Laboratory of the Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro – UENF, in the city of Campos dos Goytacazes, state of Rio de Janeiro, Brazil. The experimental design was completely randomized, with five treatments and four replications. The treatments evaluated were Control (CON) corn silage without additives; 185 g of ground shrimp shells in corn silage (GSS); 185 g of heat-treated shrimp shells in corn silage (SSH); 75 g of shrimp shells treated with NaOH in corn silage (SSNaO); 55 g of chitosan in corn silage (CHI). The additives affected ( $P < 0.05$ ) the chemical composition of corn silage. The use of HSS in corn silage resulted in an increase in dry matter (DM) ( $P < 0.001$ ), crude protein (CP) ( $P < 0.001$ ) and a decrease in neutral detergent fiber (NDF) ( $P = 0.002$ ), acid detergent fiber (FDA) ( $P < 0.001$ ), lignin (Lig) ( $P = 0.004$ ), cellulose (Cel) ( $P < 0.001$ ) and hemicellulose (Hem) ( $P = 0.002$ ) compared to CON. When we analyzed the *in vitro* degradability of dry matter (IVDM), we found no influence of the additives in the silage ( $P = 0.296$ ). However, GSS and SSNaOH reduced DIVMS by 11.47 and 6.19%, respectively. The additives did not affect silo opening temperature ( $P = 0.995$ ), but GSS increased pH by 31.11% ( $P < 0.001$ ) compared to CON. The additives caused a greater ( $P < 0.001$ ) loss of ammoniacal nitrogen ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) in the silage. The additives did not affect the concentrations of acetic ( $P = 0.933$ ) and butyric ( $P = 0.317$ ) acids. However, they decreased the concentrations of propionic acid ( $P = 0.05$ ). The additives increased gas losses ( $P < 0.001$ ) but did not affect effluent losses ( $P = 0.372$ ). However, GSS alone did not increase dry matter recovery ( $P = 0.006$ ). HSS increased the population of lactic acid bacteria (LAB) compared to the other treatments ( $P = 0.045$ ). The population of fungi was not affected by the use of additives ( $P = 0.527$ ). When analyzing the aerobic stability, we observed that the GSS and SSH treatments promoted greater ( $P < 0.001$ ) stability in the silage over time. Regarding pH, HSS maintained a variation of 0.35 over time ( $P < 0.001$ ). In conclusion, we observed that heat-treated shrimp shells have excellent potential as an additive for preserving corn silage.

**Keywords:** additive, conservation, aerobic stability.

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Esquema de preparação de quitina e quitosana a partir de exoesqueleto (carapaças) de crustáceos e fungos e suas aplicações. ....	18
<b>Figura 2</b> - Comparação das estruturas moleculares da celulose e da quitosana. ....	19
<b>Figura 3</b> - Plantio de milho ( <i>Zea mays</i> ).....	24
<b>Figura 4</b> - Minissilos de policloreto de vinila (PVC).....	25
<b>Figura 5</b> - Silagem de milho com os tratamentos .....	25
<b>Figura 6</b> - Processo de lavagens para retirada do sal e impurezas residuais. ....	26
<b>Figura 7</b> - Preparação de alíquotas para contagem microbiana e nitrogênio amoniacal. ....	28
<b>Figura 8</b> - Digestibilidade <i>in vitro</i> . ....	29
<b>Figura 9</b> - Minissilos com bolores sendo retirados durante o período de abertura.....	30
<b>Figura 10</b> - Placas de Petri (contagem de microrganismos).....	31
<b>Figura 11</b> - Medição de temperatura e pH.....	32
<b>Figura 12</b> - Estabilidade aeróbia da silagem de milho com diferentes aditivos durante sete dias. ....	37

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão na composição química da silagem de milho. ....	33
<b>Tabela 2</b> - Efeitos de diferentes tratamentos com casca de camarão na degradabilidade <i>in vitro</i> e na energia bruta da silagem de milho.....	34
<b>Tabela 3</b> - Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão no perfil fermentativo da silagem de milho. ....	34
<b>Tabela 4</b> - Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão nas perdas e recuperação de matéria seca da silagem de milho.....	36
<b>Tabela 5</b> - Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão nas populações microbianas da silagem de milho.....	36

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>13</b>
<b>2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>16</b>
2.1 PRODUÇÃO DE CAMARÃO .....	16
2.2 QUITINA E QUITOSANA .....	17
2.3 SILAGEM DE MILHO .....	19
2.3.1. FERMENTAÇÕES NO PROCESSO DE ENSILAGEM .....	20
2.4. ESTABILIDADE AERÓBIA .....	22
2.4.1 DETERIORAÇÃO AERÓBIA .....	23
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
3.1 LOCAL DE ESTUDO E CONDIÇÕES CLIMÁTICAS .....	23
3.2 PREPARAÇÃO E TRATAMENTO DE SILAGENS .....	24
3.2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL .....	25
3.3 TRATAMENTO DA CASCA DE CAMARÃO.....	26
3.4 ANÁLISES QUÍMICAS .....	27
3.5 PERDAS DE GASES E EFLUENTES E RECUPERAÇÃO DE MATÉRIA SECA ...	29
3.6 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS .....	30
3.7 ESTABILIDADE AERÓBICA.....	31
3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	32
<b>4. RESULTADOS .....</b>	<b>33</b>
<b>5. DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>6. CONCLUSÃO.....</b>	<b>40</b>
<b>7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....</b>	<b>42</b>

## 1. INTRODUÇÃO

O milho é a forrageira mais utilizada para produção de silagem por apresentar condições ideais, como o teor de matéria seca no momento da ensilagem, entre 30 e 35%, alto teor carboidrato solúvel na matéria original e baixo poder tampão (Muck, 1988; Borreani *et al.*, 2017). Entretanto, por ser rica em carboidratos solúveis e gerar altas concentrações de ácido lático, se tornam mais suscetíveis à deterioração aeróbia no pós-abertura dos silos. Os fungos, as leveduras e algumas espécies de bactérias promovem a assimilação aeróbia de lactato da silagem, reduzindo o seu potencial de conservação (Pahlow *et al.*, 2003; Muck, 2010; Kung Jr. *et al.*, 2018).

Assim, as bactérias heterofermentativas (ex.: *Lactobacillus buchneri*) são utilizadas para controlar a deterioração aeróbia durante a exposição da silagem ao ar (Kung Jr. *et al.*, 2020). A quitosana tem sido amplamente estudada em diversos campos da ciência, como nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Estudos recentes mostram a eficácia da quitosana na inibição do crescimento de microrganismos patogênicos, como bactérias, leveduras e fungos (Kong *et al.*, 2010; Jeon *et al.*, 2014). A quitosana (polímero N-acetil-D-glicosamina) é um biopolímero natural derivado da desacetilação alcalina da quitina (Goiri *et al.*, 2010). Por ser um biopolímero atóxico e biodegradável, a quitosana recebe muita atenção pelo grande potencial de aplicações na medicina e na preservação de alimentos, notadamente por sua propriedade antimicrobiana contra bactérias, fungos e leveduras (Jeon *et al.*, 2014).

Os resíduos sólidos gerados na cadeia produtiva da pesca e da aquicultura correspondem a cerca de 50% do volume processado diariamente nas indústrias. Esses resíduos sólidos são descartados em lixões, córregos, rios e mares. Mesmo com pesquisas sendo desenvolvidas para otimizar o gerenciamento dos resíduos de pescado, grande parte dessa cadeia, principalmente da pesca artesanal e de indústrias de beneficiamento de pequeno porte, continua realizando o descarte inadequado dos resíduos, ocasionando sérios problemas ambientais (Pinto *et al.*, 2017). Em particular, os resíduos de camarão, siri e caranguejo (crustáceos) têm despertado grande interesse em seu reaproveitamento (Dias Neto, 2011). Tais resíduos são constituídos, em média, por 15-20% de quitina, 25-40% de proteínas, 40-55% de carbonato de cálcio e outros pigmentos.

Entretanto, não há informações consistentes na literatura sobre a utilização da casca de camarão como aditivo de silagem, embora tenham sido demonstrados efeitos positivos da adição de quitosana no perfil fermentativo, perdas fermentativas, estabilidade aeróbica e qualidade nutricional da silagem (Gandra *et al.*, 2016; Del Valle *et al.*, 2017; Morais *et al.*,

2021; Sirakaya; Beyzi 2022).

Assim, nós hipotetizamos que a adição de casca de camarão tratada química ou termicamente afeta positivamente o padrão de fermentação e a estabilidade aeróbia, diminuindo as perdas de matéria seca da silagem de milho.

## **OBJETIVO**

Avaliar o efeito da casca de camarão tratada química ou termicamente adicionada na silagem de milho sobre a composição química, degradação *in vitro*, perdas fermentativas, contagem microbológica, perfil fermentativo e estabilidade aeróbica.

## 2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 PRODUÇÃO DE CAMARÃO

O Brasil tem grande potencial pesqueiro, em um litoral vasto e várias bacias hidrográficas, além de uma enorme diversidade de fauna aquática. A produção do camarão criado em cativeiro foi de 113,3 mil toneladas, em 2022, um aumento de 5,9% comparado ao ano anterior, sendo um recorde identificado pela pesquisa do IBGE (IBGE, 2022). A região Nordeste tem condições climáticas bastante favoráveis para a prática da carcinicultura, pois apresenta uma extensa faixa costeira e dispõe de um clima quente durante todo o ano, o que facilita o desenvolvimento dos organismos, permitindo concluir até três ciclos anuais (Carvalho, 2019). Dentro da região Nordeste, a produção também é concentrada: o Rio Grande do Norte e o Ceará são os maiores produtores nacionais de camarão, com 34,8% e 33,2% do volume da produção brasileira, respectivamente (Caderno Setorial Etene, 2022). Na região Sudeste, os estados do Espírito Santo e Rio de Janeiro são os dois estados em destaque na produção de camarão, com aproximadamente 12,9 e 12,4 mil kg anualmente, respectivamente. O destaque, no estado do Rio de Janeiro, vai para os municípios de Silva Jardim e Guapimirim, que, juntos, obtiveram um valor de produção, em 2022, de R\$ 693 mil (IBGE, 2022). A região Norte fluminense é uma das principais mesorregiões do estado do Rio de Janeiro (ERJ), na qual fica localizada a cidade de Campos dos Goytacazes, que mantém grande parte das atividades aquícolas presentes nesse estado. Essas atividades fomentam o desenvolvimento social e econômico do município, gerando fonte de renda para os produtores, que são, em sua maioria, pequenos agricultores. A cidade teve os primeiros projetos de cultivo intensivo de camarão no estado do Rio de Janeiro, implementados no início de 2018 em duas fazendas, a Select, em Barra do Furado, e a Six, em Travessão.

Há vários anos a indústria pesqueira tem se preocupado com o destino adequado dos seus resíduos, de modo que as agressões ao meio ambiente sejam cada vez mais reduzidas. Na medida em que a geração de resíduos de camarão é bastante significativa e que tais resíduos são constituídos por quitina, proteínas, carbonato de cálcio e pigmentos, tem havido grande interesse em seu reaproveitamento, buscando alternativas à sua disposição final, com vistas ao desenvolvimento de produtos de valor agregado (Craveiro, 1999).

O camarão tem de 5 a 7% de quitina (Mathur; Narang, 1990; Naczka, 2004). Seus resíduos são normalmente utilizados para a produção de farinha de pescado, porém esse uso

reduz a qualidade nutricional do produto. Uma forma de agregar valor aos resíduos do camarão é a produção de quitosana, utilizada na medicina e nas indústrias alimentícia, farmacêutica e química.

## 2.2 QUITINA E QUITOSANA

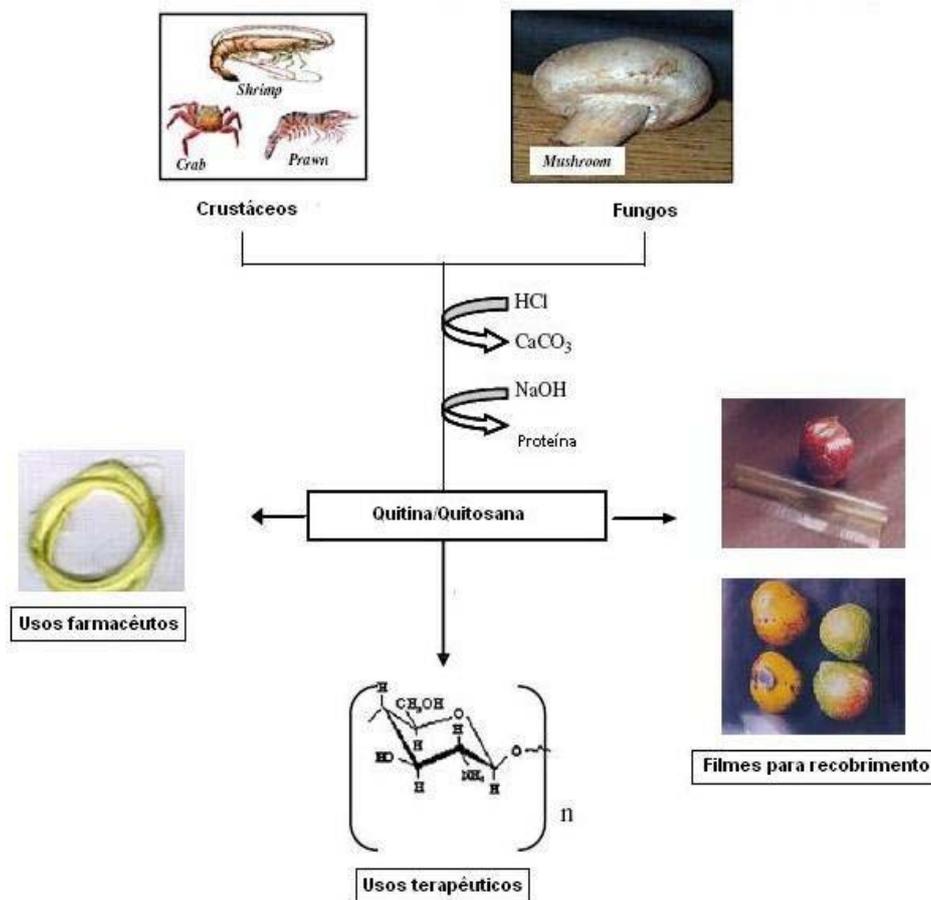
A quitina foi isolada por Braconnot em 1881 (trinta anos antes do isolamento da celulose), mas a falta de conhecimento básico sobre suas propriedades, incluindo a reatividade química, limitou severamente suas aplicações industriais até o início dos anos 1970 (Roberts, 1992). A partir de então, o interesse progressivo na química pela quitina resultou no desenvolvimento de muitos estudos que visaram aumentar o conhecimento sobre as relações estruturas/propriedades desse polímero e seus derivados.

A utilização pela indústria e em larga escala de quitina ainda é muito menos importante que a de celulose, mas alguns segmentos importantes do mercado já são ocupados por derivados de quitina. A quitosana é um exemplo de polímero muito versátil com aplicações nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos. Sua capacidade de interagir com uma variada gama de substâncias, tais como proteínas, lipídeos, pesticidas, corantes, íons metálicos e radioisótopos, qualifica a quitosana para aplicações voltadas tanto para detecção e análise dessas substâncias como para sua concentração ou recuperação (Damour *et al.*, 1994).

O isolamento da quitina de outros componentes da carapaça ocorre por meio de processo químico que envolve as etapas de desmineralização e desproteínização das carapaças com soluções diluídas de HCl e NaOH, seguido de descoloração com  $\text{KMnO}_4$  e ácido oxálico, por exemplo. A quitina obtida, o biopolímero contendo grupos acetil ( $\text{NHCOCH}_3$ ), é desacetilada com solução concentrada de NaOH, produzindo a quitosana. A quitosana é um produto natural obtido da quitina de carapaças de crustáceos. Um esquema de obtenção desses materiais se encontra representado na Figura 1.

Quitina e quitosana são polímeros atóxicos, biodegradáveis, biocompatíveis e produzidos por fontes naturais renováveis, cujas propriedades vêm sendo exploradas em aplicações industriais e tecnológicas há quase setenta anos (Roberts, 1992; Goosen, 1996). Ambas as estruturas são constituídas por unidades de 2-acetamido-2-deoxi-Dglicopirranose e 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose, unidas por ligações glicosídicas  $\beta(1\rightarrow4)$ . Entretanto, os polímeros diferem quanto à proporção relativa dessas unidades e quanto à solubilidade. Na estrutura da quitina, que é insolúvel na maioria dos solventes testados, predominam unidades de 2-acetamido-2-deoxi-Dglicopirranose, enquanto na quitosana, que é predominantemente

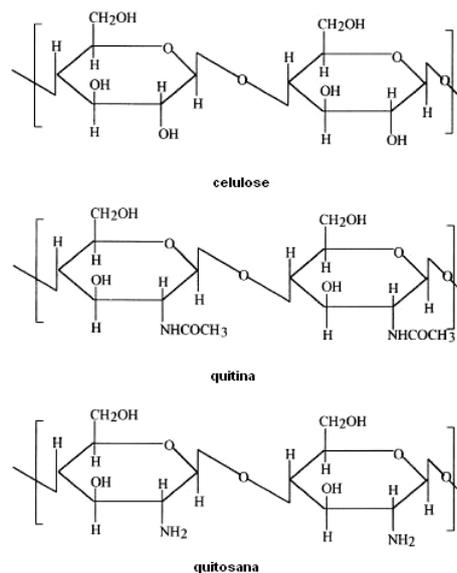
formada por unidades de 2-amino-2-deoxi-D-glicopirranose, é solúvel em soluções aquosas diluídas de ácidos orgânicos e inorgânicos (Roberts, 1992; Mathur; Narang, 1990).



Fonte: Tharanathan e Prashanth (2007)

Figura 1. Esquema de preparação de quitina e quitosana a partir de exoesqueleto (carapaças) de crustáceos e fungos e suas aplicações.

A quitosana, um biopolímero do tipo polissacarídeo, tem uma estrutura molecular quimicamente similar à fibra vegetal chamada celulose, diferenciando-se somente nos grupos funcionais. A Figura 2 mostra a comparação entre as estruturas moleculares da celulose e as da quitosana, nas quais os grupos hidroxila (OH) estão dispostos na estrutura geral do carboidrato para a celulose, e os grupos amino (NH<sub>2</sub>), para a quitosana. É solúvel em meio ácido diluído, formando um polímero catiônico, com a protonação (adição de prótons) do grupo amino (NH<sup>+</sup>), que confere propriedades especiais diferenciadas em relação às fibras vegetais (Goosen, 1996).



Fonte: (Majeti; Kumar, 2000)

Figura 2. Comparação das estruturas moleculares da celulose e da quitosana.

### 2.3 SILAGEM DE MILHO

A ensilagem é o principal processo de conservação de forragem, sendo bastante utilizada em períodos de baixa oferta de massa forrageira no pasto ou em sistemas mais intensivos da produção animal. Há vários séculos, a preservação de culturas frescas em silos, por meio de fermentação, é utilizada como alternativa à secagem. Antigos registros egípcios de cerca de 1200-1500 a.C. indicam a utilização dessa técnica na conservação de alimentos. A palavra “silo” é derivada do grego, de *siros*, que significa “um poço ou buraco afundado no solo para armazenar forragens verdes”, algo bastante parecido com os compartimentos usados para a ensilagem. A silagem é considerada o produto da fermentação de culturas agrícolas, em condições de anaerobiose, tendo como princípio básico a fermentação de açúcares por bactérias, com produção de ácidos orgânicos e consequente redução do pH da massa ensilada (reis *et al.*, 2014).

Embora o processo pareça bastante simples, por meio da fermentação dos carboidratos solúveis, sejam eles próprios da forragem ou adicionados ao material, o processo é considerado bastante complexo, sendo realizado por bactérias epífitas ou adicionadas. Esse método é realizado por um processo denominado ensilagem, no qual o material sofre a picagem, compactação e vedação da planta forrageira em silos, os quais podem apresentar diversos formatos e/ou tamanhos (Checolli, 2014; Ramos *et al.*, 2020). Durante o período de armazenamento, a forragem normalmente mantém uma fermentação primária (lática), na qual, a partir de carboidratos presentes na matéria-prima, as bactérias do ácido lático (BAL's) geram,

principalmente, ácido lático e ácido acético (este em menor grau). Como consequência, o pH é reduzido a um nível em que uma fermentação secundária (clostridial) é evitada. A fermentação secundária resulta na utilização dos produtos de fermentação desejados (ácido lático e de açúcares, proteínas e aminoácidos), para formar ácidos butírico e superiores, além de aminas, amidas e amônia. Dessa forma, a qualidade do produto final é julgada de acordo com a proporção de produtos da fermentação primária para os da fermentação secundária, sendo que quanto maior for a proporção, melhor será a qualidade (Reis *et al.*, 2014).

O processo da ensilagem envolve vários fatores importantes, como a escolha da forrageira para cultivo, passando pela colheita, demais etapas do processo de ensilagem, até a abertura do silo, visando sempre à qualidade da forragem conservada (Macêdo *et al.*, 2019). Por volta do século XIX, ocorreram inovações tecnológicas na área de manejo da ensilagem (Wilkinson *et al.*, 2003). A partir desse ponto, a engenharia de equipamentos, estruturas de estocagem (silos), filmes plásticos para a vedação e aditivos tiveram importantes desenvolvimentos por muitas regiões.

No Brasil, o milho é a principal espécie cultivada para a produção de silagens em fazendas leiteiras (Bernardes; Rego, 2014). É a espécie mais escolhida pelos pecuaristas por apresentar características favoráveis ao processo de ensilagem, tais como alto potencial de produção de matéria seca no momento do corte e ensilabilidade, alta concentração de carboidratos solúveis, baixo poder tamponante, além de ter elevado teor energético (Pereira *et al.*, 2004; Buxton; O’Kiely, 2003). Outra razão que faz com que a silagem de milho seja amplamente utilizada em fazendas leiteiras é a elevada concentração de energia, devido à presença do amido e de fibra. A alta concentração de amido é benéfica por estimular a produção de proteína microbiana no rúmen, aumentando a produção de leite. A presença da fibra estimula a salivacão, que tampona a acidez ruminal, evitando, assim, vários problemas de saúde, sendo também um precursor da gordura do leite (Adesogan, 2010).

### 2.3.1. FERMENTAÇÕES NO PROCESSO DE ENSILAGEM

O termo “fermentação” é utilizado para definir um conjunto de reações bioquímicas nas quais ocorre uma conversão de carboidratos solúveis em ácidos orgânicos por meio de microrganismos inerentes ao meio ou exógenos. Em termos gerais, a fermentação é um processo de obtenção de energia utilizado por alguns organismos. Esse processo 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).

A conversão da forragem na forma de silagem ocorre por meio de quatro fases de fermentação que são normalmente completadas aos 21 dias de ensilagem (Penn State, 2004). Segundo Weinberg e Muck (1996), o processo de ensilagem é dividido em quatro fases:

**Fase 1 - Pré-fechamento do silo:** esta fase ocorre quando a forragem é colhida no campo, é picada e transportada para o local onde será ensilada, ocorrendo a compactação desse material, que tem como principal objetivo a expulsão do O<sub>2</sub> atmosférico presente no meio. Durante essa fase, as rupturas das células em função do corte da forragem permitem o extravasamento de líquido celular, que contém enzimas proteases, hemicelulases, amilases, polissacaridases da própria planta, que podem hidrolisar proteínas em aminoácidos livres e carboidratos em monossacarídeos. Assim, a liberação desses substratos permite o desenvolvimento de microrganismos oriundos da microbiota epifítica, como fungos, leveduras e bactérias aeróbias e anaeróbias facultativas. Devido ao O<sub>2</sub> residual presente na massa ensilada, ocorre a respiração celular das células oriundas das plantas, bem como o desenvolvimento de vários grupos microbianos, convertendo aminoácidos livres e açúcares solúveis em ácidos orgânicos, calor, CO<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>O, e a respiração, nesta fase, não somente poderá causar perdas de MS, bem como poderá induzir processos oriundos pelo aumento da temperatura, como é o caso da reação de Maillard, na qual aminoácidos e açúcares se complexam, tornando-se caramelizados e indisponíveis. A duração desta fase pode variar dependendo das condições específicas da ensilagem e do tipo de forragem utilizada, geralmente de 2 a 7 dias.

**Fase 2 - Fermentação Ativa:** a duração desta fase depende das características da planta ensilada e das condições do processo de ensilagem. Aqui, a respiração da planta remove o O<sub>2</sub> residual, promovendo condições anaeróbias, iniciando-se a fase de fermentação, indo aproximadamente até o 21º dia, dependendo dos teores de MS e da população microbiana (McDonald *et al.*, 1991; Bolsen *et al.*, 1996). Ocorre quebra das células das plantas, as que liberam mais quantidades de conteúdo celular, ocorrendo também perdas de efluentes (contendo carboidratos solúveis e frações nitrogenadas). Na fase inicial da fermentação, pode ocorrer competição de microrganismos pelos substratos disponíveis, podendo haver o desenvolvimento de enterobactérias, clostrídios, bacilos, leveduras e BALs, homofermentativas e heterofermentativas, depois ocorrendo uma fase estável, quando o pH é reduzido abaixo de 4,5, e a população de enterobactérias e de outros microrganismos deletérios declina rapidamente, tornando-se as BALs os principais microrganismos na silagem, incluindo a produção de ácido lático.

**Fase 3 - Fermentação Estável:** ocorre diminuição da fermentação, de forma que as BALs dominam a massa ensilada devido à produção de AGVs, em sua maioria ácido lático. Ocorre a conservação do material ensilado, o pH permanece em torno de 4,0, ocorrendo declínios da população de BALs devido à acidez promovida pelo ácido lático, permanecendo em equilíbrio por tempo indeterminado. A estabilidade do pH e a inativação dos micro-organismos ocorre aproximadamente no 21º dia, que marca o final da fase fermentativa.

**Fase 4 - Abertura do silo:** durante esta fase, o material, após fermentado, é exposto ao ambiente aeróbio, a concentração de ácido lático e de açúcares solúveis residuais pode ser utilizada para o desenvolvimento de microrganismos aeróbios deterioradores do alimento, como fungos filamentosos e leveduras. Esse excesso de açúcares pode provocar baixa estabilidade aeróbia das silagens. Esses microrganismos começam a se multiplicar na presença de O<sub>2</sub>, promovendo aquecimento e liberação de H<sub>2</sub>O da massa ensilada e contribuindo com alterações químicas principais da silagem, indicadas por uma redução de ácido lático, elevação do pH e um decréscimo substancial no valor nutricional, podendo, ainda, produzir compostos tóxicos para a saúde animal.

#### 2.4. ESTABILIDADE AERÓBIA

A estabilidade aeróbia de silagem se refere à capacidade da silagem de se manter estável quando exposta ao oxigênio do ar após a abertura do silo. O termo “estabilidade aeróbia” é definido como o tempo necessário para se verificar mudanças mensuráveis de temperatura, sendo altamente variável de poucas horas a semanas (Siqueira *et al.*, 2005). Normalmente, a quebra da estabilidade aeróbia é definida como o tempo necessário para que a silagem ultrapasse a temperatura ambiente de 2°C (Kung Jr. *et al.*, 2003). Além da temperatura, de acordo com Pitt *et al.* (1991) e Phillip e Fellner (1992), a concentração de carboidratos solúveis, 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. Phillip e Fellner (1992) afirmaram que o aumento do pH após a exposição da silagem ao ar, a queda no teor de carboidratos solúveis e a baixa concentração de ácido lático são importantes indicadores da deterioração da massa ensilada. Nesse contexto, as silagens de milho, tanto as de plantas como as de grãos úmidos, representam um substrato de alto valor nutricional para o desenvolvimento dos microrganismos oportunistas, responsáveis pela deterioração aeróbia, sendo caracterizadas como silagens de alta degradação aeróbia (Jobim; Branco, 2002).

### 2.4.1 DETERIORAÇÃO AERÓBIA

A deterioração aeróbia é caracterizada pela entrada de ar no silo. Como consequência disso, há multiplicação de microrganismos aeróbios e o consumo dos compostos energéticos presentes na silagem. O oxigênio penetra na massa ensilada, que, com seu movimento, proporciona porosidade do material. Além disso, essa ação reduz a qualidade da silagem desde a exposição da silagem no painel do silo até o cocho (Pahlow *et al.*, 2003).

A temperatura é um dos elementos que provocam a deterioração da massa ensilada em consequência da ação prolongada do crescimento das leveduras e fungos filamentosos (McDonald *et al.*, 1991). O desenvolvimento desses microrganismos ocorre quando há picos termais ocasionados pela exposição da massa ao ar. O oxigênio penetra na massa ensilada, e os microrganismos aeróbicos começam a se desenvolver devido à disponibilidade dos substratos solúveis.

Nesse sentido, as leveduras são as iniciadoras do processo de deterioração aeróbica, consumindo os carboidratos que elevam a temperatura e o pH da silagem, principalmente aquelas que consomem o lactato (Pahlow *et al.*, 2003).

Os fungos são os principais microrganismos relacionados à deterioração da silagem exposta ao ar, destacando-se as leveduras, e as bactérias do gênero *Bacillus* (Woolford, 1984), podendo permanecer inativas dentro do silo até a exposição da massa ensilada ao oxigênio. Esses microrganismos utilizam substratos derivados diretamente da forragem ou indiretamente da fermentação para o seu desenvolvimento.

Para obter uma silagem de qualidade, é necessário observar os fatores supracitados a fim de evitar que ocorram em mínima escala, devendo haver atenção em todas as etapas do processo da ensilagem, principalmente no momento da compactação, para remover o máximo de ar possível e obter um melhor controle desse processo. A deterioração aeróbia contribui com as perdas de matéria seca e do valor nutritivo, influenciando negativamente no desempenho produtivo dos animais (Bernardes *et al.*, 2007).

## 3. MATERIAL E MÉTODOS

### 3.1 LOCAL DE ESTUDO E CONDIÇÕES CLIMÁTICAS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Zootecnia da Universidade Estadual do

Norte Fluminense Darcy Ribeiro (UENF) – Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil (21°45'41”S, 41°17'27”W e 10 m acima do nível do mar). A região é caracterizada por clima tropical úmido, com precipitação média anual de 1.020 mm e temperatura média de 23,9 °C.

### 3.2 PREPARAÇÃO E TRATAMENTO DE SILAGENS

As plantas de milho (*Zea mays* cv. UENF MSV2210) (Figura 3) foram colhidas manualmente com matéria seca média de 323,17g/kg com base na matéria fresca. Em seguida, o material foi picado em cortador de forragem (JF Maxxium, JF Agricultural Machinery Ltda., Brasil) com tamanho médio de partícula de 2–3 cm.



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 3. Plantio de milho (*Zea mays*)

Foram utilizados silos de policloreto de vinila (PVC), com 150 mm de diâmetro x 50 cm de altura, com válvula Bunsen para exaustão dos gases. Aproximadamente 600 g de areia seca foram colocados nos silos de PVC, separados por tecido de algodão para determinação das perdas por efluentes. Os silos foram acondicionados com densidade de 600 kg/m<sup>3</sup> (material fresco) e, em seguida, todos os silos foram armazenados em sala apropriada, com temperatura

de  $25 \pm 2,3^{\circ}\text{C}$ , por 60 dias (Figura 4).

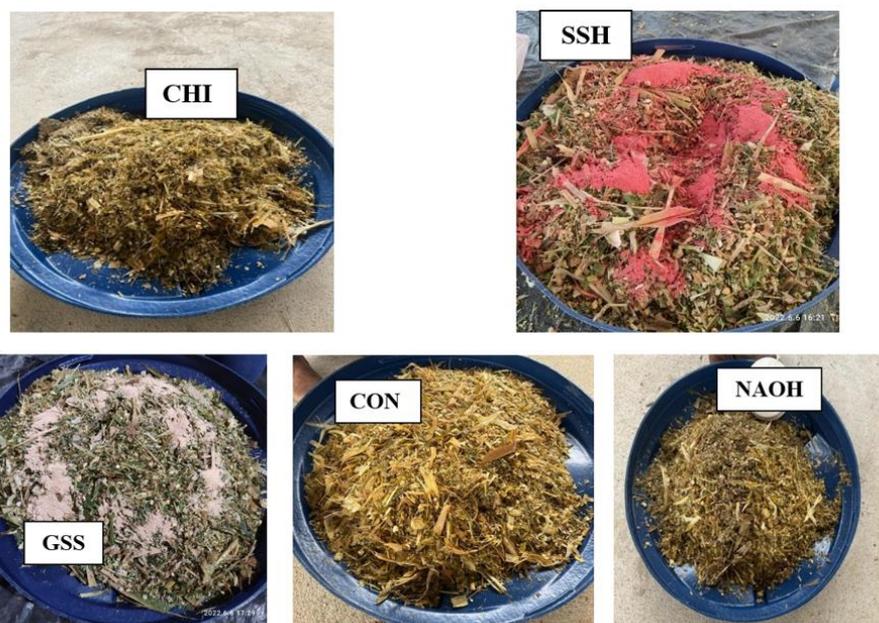


Fonte: Arquivo pessoal

Figura 4 . Minissilos de policloreto de vinila (PVC)

### 3.2.1 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

O experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado com cinco tratamentos e quatro repetições. Os tratamentos avaliados foram os seguintes: milho Controle (CON), ensilado sem aditivo; 185 g de casca de camarão moída (GSS); 185 g de casca de camarão tratada termicamente (SSH); 75 g de casca de camarão tratada com NAOH (SSNaOH); 55 g de Quitosana (CHI) (Figura 5).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 5. Silagem de milho com os tratamentos

### 3.3 TRATAMENTO DA CASCA DE CAMARÃO

As cascas frescas foram obtidas da pesca artesanal. Esse material, inicialmente, passou por sucessivas lavagens para a retirada do sal e impurezas residuais (Figura 6). Em seguida, foram secas em estufa de ar forçado, a 55°C, por 48 horas, e processadas em moinho Wiley, equipado com peneira de 1 mm. A quitosana foi determinada por meio da metodologia descrita por Felipe *et al.* (2017).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 6. Processo de lavagens para retirada do sal e impurezas residuais.

Para a obtenção do tratamento SSNaOH, as cascas foram tratadas com uma solução de 1M NaOH, durante 24h, em temperatura ambiente. Após essa etapa, as cascas foram filtradas e passaram por sucessivas lavagens, até que atingissem a neutralidade (pH 7). Depois, o material foi seco em estufa de circulação de ar por 12h a 55°C. Em seguida, uma parte desse material passou pelos processos de desmineralização, com 0.25 M de HCl, durante 24h, em temperatura ambiente, e a descoloração com 0.02% KMnO<sub>4</sub>, durante 24 horas, em temperatura a 60°C, para a obtenção da quitina. A quitosana foi obtida por meio da desacetilação alcalina com a utilização de NaOH 60% em agitação mecânica a 350 rpm, por 6 horas.

Após a obtenção da quitosana, a partir da casca *in natura*, foi calculada a dose de cada tratamento de acordo com os rendimentos das etapas de purificação, de modo que todos apresentassem a mesma concentração de CHI. Os tratamentos foram determinados na seguinte forma:

$GSS = 55g \text{ CHI} / 29,7\%$  (rendimento da CHI a partir da casca *in natura*)

$NaOH = 185g \text{ GSS} \times 40,5\%$  (rendimento da desproteíntização a partir da casca *in natura*)

A quitosana apresentou densidade de 0,66 g/mL, 22,0 g/kg de cinzas, pH 7,0-9,0, viscosidade <200 cps e nível de desacetilação de 95%.

Para a obtenção da casca de camarão tratada termicamente, o camarão inteiro passou por uma etapa de cozimento (temperatura de 100 °C e pressão de 1 atm), em solução salina, nas concentrações de 7% (p/p) de NaCl, no tempo de 7 minutos. Em seguida, foi realizada a pré-secagem em um secador de bandeja, sob uma temperatura de 50 °C (umidade relativa do ar de 41%) e um fluxo do ar de secagem de 3,0 m/s. Nessas condições, as amostras de camarão foram colocadas em uma bandeja perfurada com abertura de 2 mm e área de 380 cm<sup>2</sup> e levada ao secador por 15 minutos. Logo após, a casca foi processada em moinho Wiley equipado com peneira de 1 mm. A dosagem do SSH foi a mesma do GSS.

### 3.4 ANÁLISES QUÍMICAS

Na abertura de cada silo, o material foi homogeneizado e foi retirada uma amostra de 25 g de silagem fresca para a determinação do pH e do nitrogênio amoniacal (NH<sub>3</sub>-N). Em seguida, a amostra foi processada com 225 mL de solução salina (0,85%), por 1 minuto, em liquidificador. O material foi filtrado com papel-filtro Whatman (Whatman Inc., Clifton, NJ, EUA), e três alíquotas foram coletadas: duas para determinar o perfil fermentativo e uma para quantificar as contagens microbianas.

Na primeira alíquota, o pH foi medido por meio de um potenciômetro (modelo W3B, Tecnal, Brasil), e foi adicionado 0,036 N de ácido sulfúrico para a determinação do NH<sub>3</sub>-N por meio de destilação com óxido de magnésio, conforme descrito por Fenner (1965).

A segunda alíquota foi usada para quantificar ácidos graxos de cadeia curta (SCFAs). Nessa alíquota, foi adicionado 0,5 mL de solução de ácido sulfúrico (50%), conforme Ranjit e Kung Jr. (2001), sendo armazenada a -18°C até a análise. As concentrações de SCFAs foram determinadas por Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (HPLC; YL9100 HPLC System [Young Lin]), equipada com coluna: REZEX RCM – Monossacarídeo Ca<sup>+2</sup> (8%). Água ultrapura foi utilizada como fase móvel, com fluxo de 0,7 mL/min, e a temperatura da coluna foi mantida a 60 °C. Além disso, um detector de índice de refração foi utilizado. Previamente, foi realizada uma curva de calibração com intervalo de linearidade dos compostos analisados entre 0,5 e 1 g/L para os ácidos butírico e acético e 1 a 2 g/L para o ácido propiônico (Figura

7).



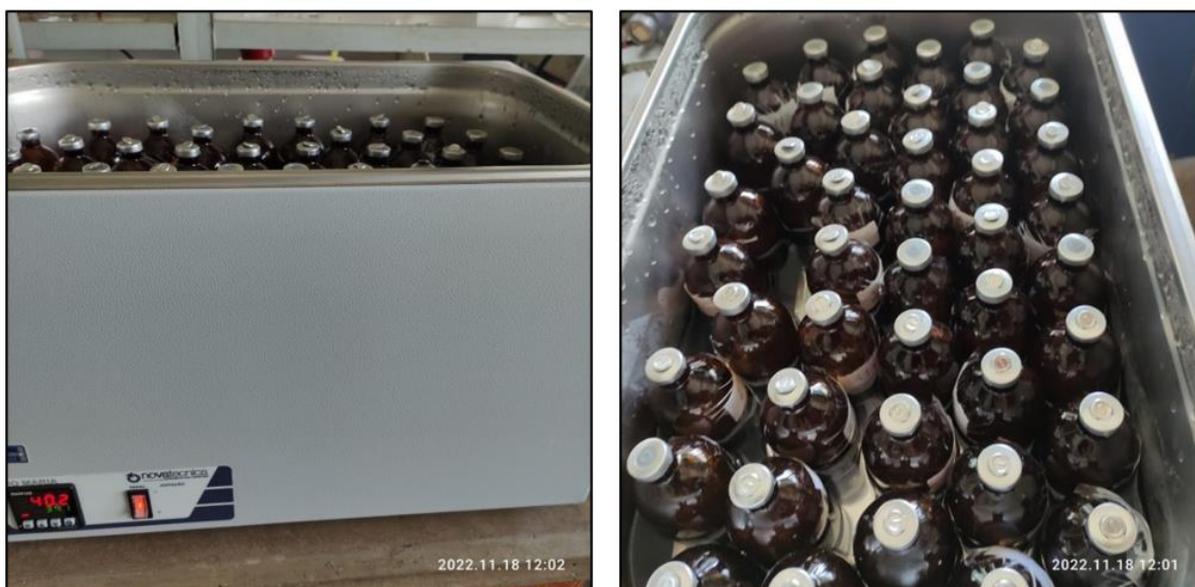
Fonte: Arquivo pessoal

Figura 7. Preparação de alíquotas para contagem microbiana e nitrogênio amoniacal.

Amostras de aproximadamente 300 g da forrageira fresca da planta do milho foram coletadas, e as amostras de silagem foram secas em estufa de ar forçado a 55 °C, por 72 horas, e processadas em moinho Wiley equipado com peneira de 1 mm. Foi analisada a matéria seca total (MS, método AOAC 967.03, AOAC, 2019), gordura bruta (GB, método AOAC 2003.06, AOAC, 2019), cinzas (Método AOAC 942.05, método AOAC, 2019), e a proteína bruta (PB) foi obtida pela determinação do N total (método 2001.11, AOAC, 2019) usando um fator de conversão fixo (6,25). A fibra em detergente neutro (FDN) foi determinada utilizando-se amilase termoestável e expressa exclusiva de cinzas residuais (FNDA, método INCT-CA F-001/1; Detmann *et al.*, 2012), fibra em detergente ácido (FDA), de acordo com o INCT- CA F-003/1, descrito por Detmann *et al.* (2012) e lignina (Lig) (método INCT-CA F-005/1; Detmann *et al.*, 2012). O carboidrato não fibroso (CNF) foi estimado como  $CNF (g/kg) = 1000 - CP - Fat - Ash - NDF$ . A hemicelulose foi calculada pela diferença entre FDN e FDA, e a celulose, pela diferença entre FDA e lignina, todas expressas em g/kg MS. A energia bruta (EB) foi analisada em amostras usando um calorímetro de bomba adiabática PARR (Modelo N° 2081).

O ensaio de degradação *in vitro* da matéria seca e da FDN foi realizado de acordo com Tilley e Terry (1963), omitindo a etapa com pepsina. O líquido ruminal foi proveniente de três ovinos mantidos com silagem de milho e ração concentrada para o atendimento das necessidades de manutenção. Foi utilizada solução tampão de McDougall (1948), e 500 mg de MS (desvio padrão =10 mg) de amostras de silagem foram adicionados em frascos âmbar com 50 mL do inóculo previamente preparado. Antes da coleta do líquido ruminal, os ovinos foram adaptados por 14 dias a uma dieta com silagem de milho e ração concentrada para atender às

exigências de manutenção (Figura 8).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 8. Digestibilidade *in vitro*.

Todos os procedimentos experimentais foram aprovados pelo Comitê de Ética no Uso de Animais Experimentais – UENF, protocolo 419/2019.

### 3.5 PERDAS DE GASES E EFLUENTES E RECUPERAÇÃO DE MATÉRIA SECA

As perdas fermentativas e a recuperação de matéria seca (RMS) foram calculadas segundo Jobim *et al.* (2007), desta forma:

As perdas de gás foram calculadas usando a equação 1:

$$PG = (SMA - SMB) / (MFE \times MSE) \times 100 \quad \text{Eq.1}$$

Onde: PG = perdas de gases (% matéria seca); SMB = massa do silo antes da ensilagem (kg); SMA = massa do silo após abertura (kg); MFE = massa de forragem ensilada (kg); e MSE = matéria seca ensilada (% matéria seca).

As perdas de efluentes foram calculadas conforme a equação 2:

$$PE = \{[(MESo - M) - (MESc - M)] / EFM\} \quad \text{Eq.2}$$

Onde: PE=perdas de efluentes (kg/t material fresco); MESc = massa do silo vazio + massa de areia no fechamento (kg); M = massa do silo vazio (kg); MESo = massa do silo vazio + massa de areia após abertura (kg); e MFE = massa de forragem ensilada (kg).

A recuperação de matéria seca foi calculada utilizando a equação 3:

$$RMS = (MFA \times MSA) / (MFE \times MSE) \times 100 \quad \text{Eq.3}$$

Onde: RMS = recuperação de matéria seca (%MS); MFA= massa de forragem na abertura (kg); MSA = matéria seca na abertura (%); MFE = massa de forragem ensilada (kg); e MSE = matéria seca ensilada (% matéria seca) (Figura 9).



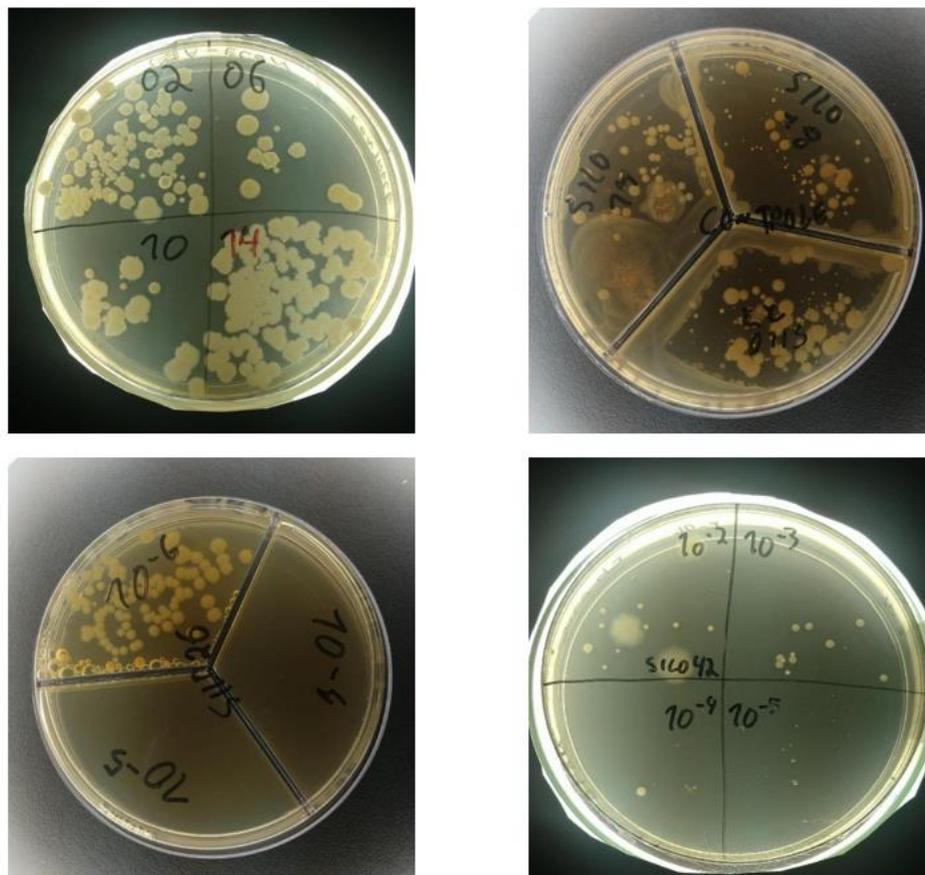
Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 9. Minissilos com bolores sendo retirados durante o período de abertura.

### 3.6 CONTAGEM DE MICRORGANISMOS

A terceira alíquota do extrato aquoso da silagem foi filtrada, e 9 mL foram adicionados em tubo Falcon, estéril, e esse material foi submetido a diluições seriadas ( $10^{-1}$  a  $10^{-6}$ ) para a contagem de microrganismos. Para a contagem de Enterobactérias, foi utilizado o meio de cultura Violet Red Bile (Shanghai Bioway Technology Co., Ltd, Shanghai, China), com tempo de incubação de 24 horas (h), a  $37^{\circ}\text{C}$ . Para a contagem de fungos, foi utilizado o Agar Batata Dextrose (Shanghai Bioway Technology Co., Ltd, Shanghai, China) com tempo de incubação de quatro dias, a  $25^{\circ}\text{C}$ , e, para bactérias lácticas, o De Man, Rogosa e Sharpe (Shanghai Bioway Technology Co., Ltd, Xangai, China) foi utilizado durante 48 horas a  $37^{\circ}\text{C}$ , em uma incubadora anaeróbica. As contagens microbianas foram expressas como unidades formadoras de colônias por grama (ufc/g). Os dados microbianos foram obtidos como unidades formadoras de colônias

(ufc) e transformados em  $\log_{10}$  para obter a distribuição log-normal (Figura 10).



Fonte: Arquivo pessoal.

Figura 10. Placas de Petri (contagem de microrganismos).

### 3.7 ESTABILIDADE AERÓBICA

Após a abertura dos silos, 2,0 kg de silagem foram acondicionados em baldes plásticos com capacidade de 5,0 kg, nos quais permaneceram por sete dias para avaliação da estabilidade aeróbia. Essas amostras foram mantidas em temperatura ambiente e monitoradas a cada 6 horas com *data loggers* (Log 110 EXF Incoterm; Brasil), inseridos a 10 cm de profundidade no centro da massa ensilada. A estabilidade aeróbia foi calculada como o tempo, em horas, em que a temperatura da silagem excedeu a temperatura ambiente em 2°C após a exposição ao ar (Ranjit; Kung Jr., 2001). O pH da silagem, após exposição aeróbia, foi avaliado a cada 24 horas: foram obtidas amostras da silagem (15 g), diluídas em água destilada (250 g), processadas em liquidificador por 1 minuto, e o pH da silagem foi analisado por meio de um potenciômetro (modelo W3B, Tecnal, Brasil) (Figura 11).



Fonte: Arquivo pessoal

Figura 11. Medição de temperatura e pH.

### 3.8 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados de composição química, perdas, contagens microbianas, perfil fermentativo, degradabilidade *in vitro* e energia bruta foram comparados por meio do teste de Tukey, com nível de significância de 0,05, utilizando o pacote misto do SAS (SAS University Edition, SAS Institute Inc., Cary, Carolina do Norte, EUA). Foi considerada tendência quando  $0,10 > P > 0,05$ . O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ij} = \mu + \alpha_i + e_{ij}$$

Em que:  $Y_{ij}$  é o valor observado para a variável em estudo referente à j-ésima repetição do i-ésimo nível do fator  $\alpha$ ;  $\mu$  é a média de todas as unidades experimentais da variável em estudo;  $\alpha_i$  é a adição de aditivos nas silagens com  $i = 1,2,3,4,5$ ;  $e_{ij}$  é o erro associado à observação  $Y_{ij}$ .

Os dados de estabilidade aeróbia e pH foram analisados como medidas repetidas ao longo do tempo por meio de análise de regressão, com nível de significância de 0,05, utilizando o pacote MIXED do SAS (versão SAS University Edition, SAS Institute Inc., Cary, NC, EUA). O seguinte modelo estatístico foi utilizado:

$$Y_{ijk} = \mu + \alpha_i + \tau_j + \alpha\tau_{ij} + e_{ijk}$$

Em que:  $Y_{ijk}$  é o valor observado para a variável em estudo referente à k-ésima réplica do i-

ésimo nível do fator  $\alpha$  na  $j$ -ésima hora;  $\mu$  é a média de todas as unidades experimentais da variável em estudo;  $\alpha_i$  é a adição de aditivos nas silagens com  $i = 1,2,3,4,5$ ;  $\tau_k$  é o efeito aleatório das horas de avaliação com  $j = 0,24, \dots, 144$  para pH e  $0,8,16, \dots, 162$  para temperatura;  $\alpha\tau_{ij}$  é a interação entre aditivos e horas de avaliação;  $e_{ijk}$  é o erro associado à observação  $Y_{ijk}$ .

#### 4. RESULTADOS

Os aditivos afetaram ( $P < 0,05$ ) a composição química da silagem de milho. A utilização da SSH na silagem de milho promoveu o aumento nos teores de matéria seca (MS) ( $P < 0,001$ ), proteína bruta (PB) ( $P < 0,001$ ) e a redução da fibra em detergente neutro (FDN) ( $P = 0,002$ ), fibra em detergente ácido (FDA) ( $P < 0,001$ ), celulose (Cel) ( $P < 0,001$ ) e hemicelulose (Hem) ( $P = 0,002$ ) em relação ao CON (Tabela 1). Já a silagem contendo GSS apresentou redução nos teores de MS ( $P < 0,001$ ) e matéria orgânica (MO) ( $P = 0,002$ ) e aumento nos teores de cinzas ( $P = 0,006$ ), CNF ( $P = 0,015$ ) em relação ao CON (Tabela 1). As silagens contendo CHI e SSNaOH apresentaram comportamento semelhante em relação ao CON (Tabela 1).

Tabela 1. Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão na composição química da silagem de milho.

Variáveis	Milho	Aditivos					EPM	Valor P
		CON	SSH	GSS	CHI	SSNaOH		
MS	323,17	293,43 <sup>c</sup>	325,66 <sup>a</sup>	295,52 <sup>bc</sup>	309,2 <sup>b</sup>	306,73 <sup>bc</sup>	2,348	<,0001
MO	261,44	228,1 <sup>a</sup>	231,65 <sup>a</sup>	191,72 <sup>b</sup>	243,24 <sup>a</sup>	228,11 <sup>a</sup>	3,332	0,002
PB	54,7	60,50 <sup>d</sup>	97,70 <sup>a</sup>	83,29 <sup>b</sup>	72,06 <sup>c</sup>	71,78 <sup>c</sup>	2,402	<,0001
PIDN	49,57	54,63 <sup>d</sup>	87,41 <sup>a</sup>	75,17 <sup>b</sup>	65,06 <sup>c</sup>	64,76 <sup>c</sup>	2,126	<,0001
GB	23,4	32,57 <sup>a</sup>	37,51 <sup>a</sup>	23,43 <sup>b</sup>	32,42 <sup>a</sup>	30,05 <sup>ab</sup>	1,052	0,001
Cinzas	61,72	65,33 <sup>b</sup>	94,01 <sup>ab</sup>	103,8 <sup>a</sup>	65,96 <sup>b</sup>	78,62 <sup>ab</sup>	3,669	0,006
FDN	553,98	546,63 <sup>a</sup>	488,36 <sup>b</sup>	554,17 <sup>a</sup>	554,97 <sup>a</sup>	546,01 <sup>a</sup>	5,156	0,002
FDA	266,93	297,97 <sup>b</sup>	268,86 <sup>c</sup>	323,44 <sup>a</sup>	312,7 <sup>ab</sup>	308,01 <sup>ab</sup>	3,766	<,0001
Lig	15,99	91,50 <sup>c</sup>	110,19 <sup>bc</sup>	120,63 <sup>abc</sup>	145,58 <sup>a</sup>	139,52 <sup>ab</sup>	3,898	0,004
CNF	306,19	294,97 <sup>a</sup>	282,42 <sup>a</sup>	235,31 <sup>b</sup>	274,57 <sup>ab</sup>	273,54 <sup>ab</sup>	4,477	0,015
Cel	287,04	288,82 <sup>a</sup>	257,84 <sup>b</sup>	311,37 <sup>a</sup>	298,14 <sup>a</sup>	294,06 <sup>a</sup>	3,531	<,0001
Hem	250,94	248,67 <sup>a</sup>	219,49 <sup>c</sup>	230,73 <sup>bc</sup>	242,27 <sup>ab</sup>	237,99 <sup>ab</sup>	2,124	0,002

Milho = planta de milho antes da ensilagem; CON = Controle; SSH = casca de camarão tratada termicamente; GSS = silagem da casca de camarão moída; CHI = Quitosana; SSNaOH = casca de camarão tratada com NaOH; EPM = Erro padrão da média. MS = matéria seca; MO = matéria orgânica; PB = Proteína bruta; PIDN = proteína bruta insolúvel em detergente neutro; GB = Gordura bruta; FDN = Fibra em detergente neutro; FDA = Fibra em detergente ácido; Lig = Lignina; CNF = Carboidrato não fibroso; Hem = Hemicelulose; e = Celulose, todas expressas em g/kg, exceto MS, expressa como alimentado e NDICP, expresso em % de PB.

\*Médias seguidas de diferentes letras em uma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Ao analisarmos a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS), não observamos

influência dos aditivos na silagem ( $P = 0,96$ ). Porém, o GSS e SSNaOH reduziram a degradabilidade *in vitro* da matéria seca (DIVMS) em 11,47 e 6,19%, respectivamente (Tabela 2). Entretanto, a CHI reduziu ( $P = 0,001$ ) a degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro (DIVFDN) em 18,14% quando comparado com o CON (Tabela 2). Apesar de não apresentar diferença ( $P = 0,303$ ) entre os tratamentos, a CHI aumentou a energia bruta (EB) em 3,82% (Tabela 2).

Tabela 2. Efeitos de diferentes tratamentos com casca de camarão na degradabilidade *in vitro* e na energia bruta da silagem de milho.

Variáveis	Milho	Aditivos					EPM	Valor P
		CON	SSH	GSS	CHI	SSNaOH		
DIVMS, g/kg	502	525	543	465	504	492	10,335	0,296
DIVFDN g/kg	283	294 <sup>ab</sup>	308 <sup>ab</sup>	321 <sup>a</sup>	241 <sup>c</sup>	263 <sup>bc</sup>	6,937	0,001
EB, MJ/kgMS	16,7	16,6	16,5	16,7	17,3	16,6	0,065	0,303

Milho = planta de milho antes da ensilagem; CON = Controle; SSH = casca de camarão tratada termicamente; GSS = casca de camarão moída; CHI = Quitosana; SSNaOH = casca de camarão tratada com NaOH; EPM = Erro padrão da média. DIVMS = Degradabilidade *in vitro* da matéria seca; DIVFDN = Degradabilidade *in vitro* da fibra em detergente neutro; EB = Energia bruta. \*Médias seguidas de diferentes letras em uma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os aditivos não afetaram a temperatura de abertura do silo ( $P = 0,995$ ), porém o GSS aumentou ( $P < 0,001$ ) o pH em 31,11% em relação ao CON. Os aditivos promoveram maior ( $P < 0,001$ ) perda de nitrogênio amoniacal ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) na silagem (Tabela 3). Os aditivos não afetaram as concentrações dos ácidos acético ( $P = 0,854$ ) e butírico ( $P = 0,21$ ). Entretanto, reduziram as concentrações de ácido propiônico ( $P = 0,042$ ) (Tabela 3).

Tabela 3. Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão no perfil fermentativo da silagem de milho.

Variáveis	Aditivos					EPM	Valor-P
	CON	SSH	GSS	CHI	SSNaOH		
T, °C após abertura do silo	22,4	22,5	22,4	22,5	22,6	0,111	0,995
pH depois de abrir o silo	3,6 <sup>b</sup>	4,0 <sup>b</sup>	5,2 <sup>a</sup>	3,7 <sup>b</sup>	3,8 <sup>b</sup>	0,105	<,0001
$\text{NH}_3\text{-N}$ , g/kg PB	0,9 <sup>c</sup>	1,4 <sup>bc</sup>	2,4 <sup>a</sup>	1,5 <sup>bc</sup>	1,7 <sup>b</sup>	0,086	<,0001
Ácido acético, g/kg MS	28,0	35,4	21,1	23,2	35,2	5,561	0,854
Ácido propiônico, g/kg MS	1,22 <sup>a</sup>	0,19 <sup>b</sup>	0,25 <sup>b</sup>	0,25 <sup>b</sup>	0,06 <sup>c</sup>	0,112	0,042
Ácido butírico, g/kg MS	0,03	0,09	0,01	0,05	0,05	0,010	0,521

CON = Controle; SSH = casca de camarão tratada termicamente; GSS = casca de camarão moída; CHI = Quitosana; SSNaOH = casca de camarão tratada com NaOH; EPM = Erro padrão da média. T = Temperatura;  $\text{NH}_3\text{-N}$  = nitrogênio amoniacal.

\*Médias seguidas de diferentes letras em uma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey ( $P < 0,05$ ).

Os aditivos aumentaram ( $P < 0,001$ ) as perdas por gases, mas não afetaram as perdas por efluentes ( $P = 0,175$ ). Entretanto, somente o GSS não promoveu aumento ( $P = 0,002$ ) na recuperação da matéria seca (Tabela 4). O SSH aumentou ( $P = 0,045$ ) a população de bactérias ácido-láticas (BALs) em relação aos demais tratamentos (Tabela 5). Já a população de fungos não foi afetada pela utilização de aditivos ( $P = 0,526$ ) (Tabela 5).

Tabela 4. Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão nas perdas e recuperação de matéria seca da silagem de milho.

Variáveis	Aditivos					EPM	Valor-P
	CON	SSH	GSS	CHI	SSNaOH		
Perdas de gás, % MS	47,9 <sup>b</sup>	49,8 <sup>b</sup>	106 <sup>a</sup>	49,3 <sup>b</sup>	48,9 <sup>b</sup>	5,961	<,0001
Perdas de efluentes, g/kg MS	9,92	12,90	14,96	11,28	10,46	1,181	0,175
Recuperação de matéria seca, g/kg MS	941 <sup>a</sup>	969 <sup>a</sup>	880 <sup>b</sup>	944 <sup>a</sup>	937 <sup>a</sup>	9,646	0,002

CON = Controle; SSH = casca de camarão tratada termicamente; GSS = casca de camarão moída; CHI = Quitosana; SSNaOH = casca de camarão tratada com NaOH; EPM = Erro padrão da média.

\*Médias seguidas de diferentes letras em uma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

Tabela 5. Efeitos dos diferentes tratamentos com casca de camarão nas populações microbianas da silagem de milho.

Variáveis	Aditivos					EPM	Valor-P
	CON	SSH	GSS	CHI	SSNaOH		
BAL, log10/g de silagem fresca	3,75 <sup>b</sup>	8,03 <sup>a</sup>	4,26 <sup>b</sup>	2,88 <sup>b</sup>	4,03 <sup>b</sup>	0,615	0,045
Fungos, log10/g de silagem fresca	4,03	4,72	5,89	3,21	4,96	0,338	0,526

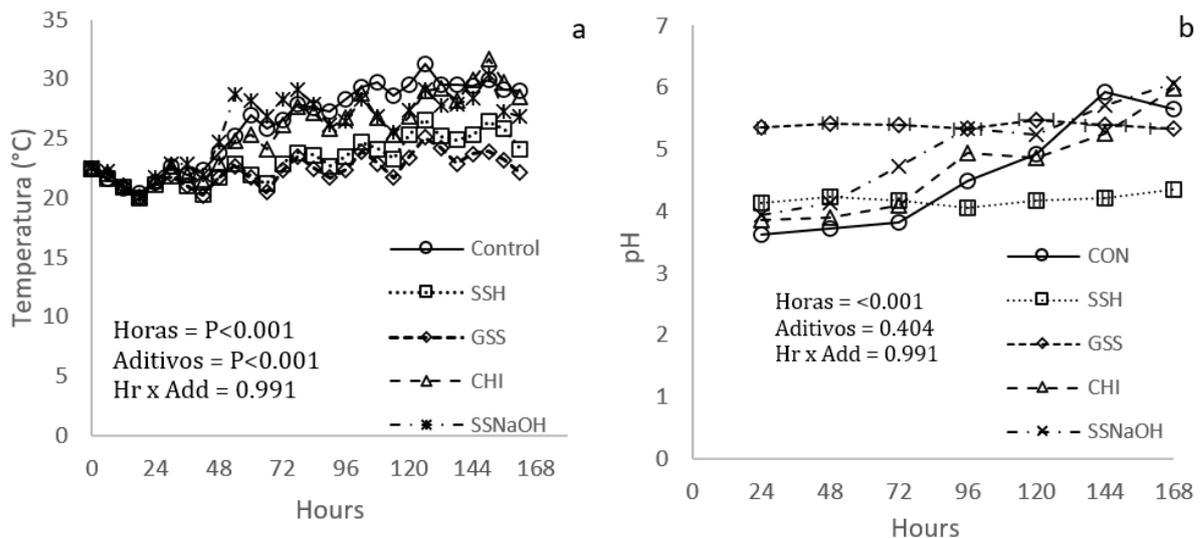
CON = Controle; SSH = casca de camarão tratada termicamente; GSS = casca de camarão moída; CHI = Quitosana; SSNaOH = casca de camarão tratada com NaOH; EPM = Erro padrão da média.

\*Médias seguidas de diferentes letras em uma linha diferem significativamente pelo teste de Tukey (P < 0,05).

†Não foi observada presença de enterobactérias nas contagens bacterianas.

Ao analisarmos a estabilidade aeróbica, observamos que os tratamentos GSS e SSH promoveram maiores ( $P < 0,001$ ) estabilidades na silagem ao longo do tempo (Figura 12a). Já em relação ao pH, o SSH se manteve ( $P < 0,001$ ), ao longo do tempo, com uma variação de 0,35 (Figura 12b).

Figura 12. Estabilidade aeróbica da silagem de milho com diferentes aditivos durante sete dias.



CON = Controle; SSH = casca de camarão tratada termicamente; GSS = casca de camarão moída; CHI = quitosana; SSNaOH = casca de camarão tratada com NaOH. No painel (A) Temperatura; e (B) pH. Temperatura acima da temperatura ambiente ( $2^{\circ}\text{C}$ ): CON ( $2,48^{\circ}\text{C}$  em 36 horas); SSH ( $2,90^{\circ}\text{C}$  em 90 horas); GSS ( $2,21^{\circ}\text{C}$  em 114 horas); CHI ( $2,42^{\circ}\text{C}$  em 36 horas); SSNaOH ( $3,40^{\circ}\text{C}$  em 36 horas).

## 5. DISCUSSÃO

A adição dos aditivos aumentou os teores de MS na silagem de milho (Tabela 1) provavelmente pela maior recuperação de MS em relação ao CON (Tabela 4). Para Muck *et al.* (2018), a redução das concentrações de ácido butírico e, conseqüentemente, das perdas fermentativas afetam a recuperação de MS, resultando em maiores teores de MS na silagem. O aumento nos teores de PB nas silagens com aditivos se dá pela concentração de proteína presente no exoesqueleto (Heu *et al.*, 2003). Porém, a maior parte dessa proteína está indisponível (Fanimó *et al.*, 2004), como comprovado neste estudo. Os teores de proteína bruta insolúvel em detergente neutro (PIDN) ficaram acima de 64,50% (Tabela 1).

Outro fato importante é que a casca de camarão, independentemente do tratamento, aumentou a proteólise na silagem (Tabela 3). Esse fato sempre ocorrerá devido à quitosana ser uma base fraca solúvel em solução aquosa de ácido abaixo de seu pKa (6.3), na qual unidades

de glucosamina ( $-\text{NH}_2$ ) são convertidas em forma protonada solúvel ( $-\text{NH}^{+3}$ ) (GOY *et al.*, 2009). Em um ambiente ácido, a quitosana é caracterizada pela maior solubilidade e capacidade de reagir com a carga negativa na superfície das células bacterianas, resultando na desintegração da membrana celular e danos na parede celular bacteriana. A quitosana, em pH acima de 7, perde suas propriedades antimicrobianas devido à falta de grupos amino protonados e baixa solubilidade (Kong *et al.*, 2010; Ma *et al.*, 2017). Entretanto, o mecanismo de ação antimicrobiana da quitina ainda é desconhecido (Kucharska *et al.*, 2020).

Apesar de aumentar a proteólise na silagem, os valores de nitrogênio amoniacal ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) foram baixos (Tabela 3) e, de acordo com McDonald *et al.* (1991), silagens de boa qualidade devem conter menos de 10% de  $\text{NH}_3\text{-N}$  do nitrogênio total. A utilização da gordura durante o processo de ensilagem é muito baixa e está ligada às perdas fermentativas. E o aumento nas perdas fermentativas resulta na redução nos teores de gordura bruta (GB) da silagem (Gandra *et al.*, 2020). Esse fato é observado neste estudo (Tabelas 1 e 4). O aumento no teor de cinzas nas silagens utilizando GSS e SSH se dá por causa da matéria mineral presente na casca do camarão. Em contrapartida, a CHI apresentou menor teor entre os tratamentos por sofrer um processo de desmineralização (Tabela 1).

A fração fibrosa sofreu influência dos aditivos, e a silagem tratada com SSH apresentou menor teor de Hem e Cel, refletindo nos teores de FDN e FDA (Tabela 1). Para Van Soest *et al.* (1991) e Harper e McNeill (2015), a hemicelulose é o constituinte da FDN com maior potencial de digestão, sendo que isso foi observado neste estudo (Tabela 2). A melhoria na degradação da FDN pode ter sido por causa da relação entre as BALs e a produção de esterase de ácido ferúlico durante a silagem armazenada (Nsereko *et al.*, 2008). A esterase do ácido ferúlico pode quebrar as ligações entre lignina e polissacarídeos estruturais da forragem, aumentando, assim, a degradabilidade da fibra (Nsereko *et al.*, 2008; Li *et al.*, 2019), e esse fato corrobora nosso estudo (Tabelas 2 e 5).

Entretanto, o aumento da DIVFDN na silagem tratada com GSS não se refletiu na redução da fração fibrosa. O motivo desse evento não está claro (Tabela 2). Já a redução da DIVFDN na silagem com CHI se dá pela natureza policatiónica da quitosana (cargas positivas de grupos amino protonados [ $\text{NH}_3^+$ ]), permitindo que ela interaja com a membrana externa carregada negativamente de muitos microrganismos, causando extensas alterações na superfície celular e levando ao vazamento de substâncias intracelulares, resultando em morte celular (Ma *et al.*, 2017). A redução da DIVFDN na silagem com SSNaOH também foi observado, e provavelmente o grupo  $-\text{NHCOCH}_3$  também seja efetivo agente antibacteriano.

A fermentação de silagens de milho normalmente é satisfatória, apresenta teores adequados de carboidratos solúveis para o processo fermentativo, possibilitando uma boa fermentação láctica, resultando em um alimento de alto valor nutritivo (Muck, 2010; Kung Jr. *et al.*, 2018). Os aditivos não melhoraram o perfil fermentativo da silagem (Tabela 3). Neste estudo, não observamos variação na temperatura de abertura entre os aditivos (22,43 – 22,62°C [mín.-máx.]). Porém, o pH da silagem tratada com GSS ficou acima do das demais, e essa elevação do pH pode ter sido causada pela maior contagem de fungos nessa silagem (Tabela 5). Esse fato pode ser comprovado pelo aumento da concentração de NH<sub>3</sub>-N (Tabela 3), uma vez que a amônia está relacionada à quebra excessiva de proteínas, causada por uma queda lenta do pH (Kung Jr. *et al.*, 2018).

Embora não tenha havido efeito significativo dos aditivos na concentração de ácido acético, o SSH e o SSNaOH proporcionaram aumentos de 25 e 18,18%, respectivamente (Tabela 3). O aumento do ácido acético leva a uma melhora na estabilidade aeróbica devido às fortes características antifúngicas. No entanto, quando presente em concentrações acima de 3%, é um indicativo de que houve alterações indesejáveis no processo de ensilagem (Kung Jr. *et al.*, 2018).

Em relação ao ácido propiônico, os aditivos reduziram a concentração desse ácido. Para Kung Jr. *et al.* (2018), altas concentrações de ácido propiônico (> 0,3 – 0,5%) são mais comumente encontradas em fermentações clostridiais, provavelmente resultado de *Clostridium propionicum*, com a possibilidade de os aditivos terem afetado a população de propionibactérias que converteram glicose e ácido láctico em ácido propiônico e ácido acético.

Assim como o ácido acético, os aditivos não afetaram o ácido butírico. Porém, os aditivos reduziram a concentração desse ácido (Tabela 3). O ácido butírico não deve ser detectado na silagem, e a presença desse ácido indica atividade metabólica de organismos clostridiais, o que leva a grandes perdas de MS e baixa recuperação de energia (Pahlow *et al.*, 2003). Alguns clostrídios são capazes de fermentar açúcares em ácido butírico (sacarolítico), e alguns podem converter ácido láctico em ácido butírico, e algumas espécies são altamente proteolíticas (Kung Jr. *et al.*, 2018).

Produzir forragem de alta qualidade na forma de silagem, evitando ao máximo as perdas fermentativas, é um desafio (Borreani *et al.*, 2017). Neste estudo, as perdas por gases aumentaram na silagem tratada com GSS (Tabela 4), e essas perdas podem estar associadas ao tipo de fermentação que ocorreu durante o processo. Quando a fermentação é feita por bactérias homofermentativas, a glicose é utilizada como substrato e pode produzir ácido láctico,

promovendo pequenas perdas (McDonald *et al.*, 1991; Muck, 2010). A recuperação de MS (RMS) foi menor na silagem tratada com GSS. Isso é justificado pelo fato de a RMS estar relacionada a baixas perdas (gases e efluentes) (Zanine *et al.* 2020). Os efeitos antifúngicos do SSH, CHI e SSNaOH podem ter influenciado na recuperação de MS da silagem de milho, corroborando Gandra *et al.* (2016).

O processo fermentativo geralmente controla a atividade microbiana, combinando um ambiente anaeróbico com a fermentação natural de açúcares pelas BALs (Muck, 2010). Apesar das BALs terem papel fundamental no processo de ensilagem, pela inibição do crescimento de microrganismos deteriorantes e permitirem maior recuperação da energia dos carboidratos fermentados por meio da produção de ácido lático (Muck 2010; Borreani *et al.* 2017), no presente estudo, observamos que aumentaram a contagem de BALs na silagem tratada do SSH. A provável explicação para tal fato pode ser a baixa ação antibacteriana. Porém, a razão para esse aumento não está clara (Tabela 5). Apesar de não termos observado efeitos dos tratamentos, a CHI reduziu a contagem de fungos na silagem, corroborando o estudo de Gandra *et al.* (2016).

A deterioração aeróbia da silagem é causada por microrganismos aeróbicos (leveduras, fungos filamentosos e bactérias aeróbias). Esses microrganismos consomem os ácidos produzidos durante o processo de conservação (ácido lático) e os componentes solúveis da silagem, produzindo dióxido de carbono, água e calor (Muck 2010; Borreani *et al.* 2017). O presente estudo mostra que SSH e GSS foram eficazes para diminuir a temperatura e aumentar a duração do período de estabilidade aeróbia (Figura 1a). Apesar da maior estabilidade aeróbica da GSS, houve perda de MS. Esse fato pode estar ligado à composição química. Para Gandra *et al.* (2016), se mais substrato estiver disponível para o crescimento microbiano, poderá ocorrer maior perda de MS. O pH apresentou comportamento semelhante à temperatura (Figure 1b), e o SSH e o GSS foram eficientes em manter o pH das silagens, auxiliando na estabilidade aeróbica. Embora o pH das silagens tratadas com SSH e GSS terem ficado acima da faixa ideal (3,2 a 4,2), que promove a conservação eficiente da massa ensilada (McDonald *et al.* 1991), as variações ao longo das 168 horas foram de 0,35 e 0,24, respectivamente.

## 6. CONCLUSÃO

A utilização de SSH melhorou a composição química e a degradabilidade *in vitro* da silagem de milho. Os aditivos não promoveram melhorias no perfil fermentativo, tampouco nas perdas. Porém, o SSH, CHI e SSNaOH aumentaram a recuperação de matéria seca. O SSH

aumentou a população de BALs, e a CHI apresentou maior eficiência na redução da população de fungos. Apesar disso, a utilização de SSH e GSS aumentou o tempo de exposição ao ar na silagem de milho. Assim, a casca tratada termicamente pode ser uma alternativa de aditivos na ensilagem de milho.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ADESOGAN, A. T. 2010. Corn silage quality in tropical climates. Proc. 5th Symposium on Strategic Management of Pasture, VISCOSA, Brazil. November, 11-13, 2010.
- ANIM. FEED SCI. TECHNOL. 145,122–135, <http://dx.doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.06.039>. AOAC, 2019. Official methods of analysis, 21st ed. Association of Official Analytical Chemistry, Washington, DC, USA.
- BERNARDES, T. F., REIS, R. A., SIQUEIRA, G. R., AMARAL, R. C. D., & PIRES, A. J. V. (2007). Estabilidade aeróbia da ração total e de silagens de capim-marandu tratadas com aditivos químicos e bacterianos. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 36(4), 754-762. doi: <https://www.scielo.br/pdf/rbz/v36n4/02.pdf>.
- BERNARDES, T.F.; REGO, A.C. Study on the practices of silage production and utilization on Brazilian dairy farms. *Journal of Dairy Science*, Champaign, v.97, n.3, p.1852-1861, 2014.
- BOLSEN, K. K., ASHBELL, G., WEINBERG, Z. G. Silagem fermentation and silage additives – Review -. *Asian Journal Animal Science*, v. 9, p. 483 – 493, 1996.
- BORREANI G., TABACCO E., SCHMIDT RJ., HOLMES B.J., MUCK R.E. (2017). Factors affecting dry matter and quality losses in silages. *Journal of Dairy Science* 5, 3952-3979. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13837>.
- BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISSON, J.H. (Eds.) Silage science and technology. Madison: American Society of Agronomy; Crop Science Society of America; Soil Science Society of America, p.547-608, 2003.
- CADERNO SETORIAL ETENE VIDAL, F. V. Ano 7, nº 222, Abril 2022.
- CARVALHO, T. P. P. Caracterização da carcinicultura em águas interiores no agreste paraibano. 2019. 38p. Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharel em Zootecnia) Centro de Ciências Agrárias -Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB, 2019.
- CHECOLI, M. B. Silagens de cana-de-açúcar tratadas com *Lactobacillus kefir* e *L. brevis*: Efeitos no perfil fermentativo e na estabilidade aeróbia. 2014. 35f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Animais Domésticos; Nutrição e Alimentação Animal; Pastagens e Forragicultura). Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2014.
- CRAVEIRO, A. A.; CRAVEIRO, A. C.; QUEIROZ, D. C. *Quitosana*: a fibra do futuro. Parque de Desenvolvimento Tecnológico – PADETEC, Fortaleza, 1999.
- DAMOUR, A.; GUEUGNIARD, P. Y.; BERTHIN-MAGHIT, M.; *Clinical Matter* 1994, 15, 273.
- DEL VALLE, T. A. *et al.* Dietary chitosan improves nitrogen use and feed conversion in diets for mid-lactation dairy cows. *Livestock Science*, v. 201, p. 22–29, 2017. <https://doi.org/10.1016/j.livsci.2017.04.003>.
- DETMANN, E., SOUZA, M.A., VALADARES FILHO, S.C., QUEIROZ, A.C., BERCHIELLI, T.T., SALIBA, E. O.E., CABRAL, L.S., PINA, D.S., LADEIRA, M.M.,

- AZEVEDO, J.A.G., 2012. Métodos para análise de alimentos (INCT - Ciência Animal). Editora UFV, Viçosa, MG, Brazil.
- DIAS NETO, J. 2011. Proposta de plano nacional de gestão para o uso sustentável de camarões marinhos do Brasil. Brasília: MMA/IBAMA, 242p.
- FANIMO, A.O., ODUGUWA, O.B., ODUGUWA, O.O., AJASA, O.Y., JEGEDE, O. 2004. Feeding value of shrimp meal for growing pigs. *Archivo de Zootecnia*, 53, 77-85.
- FELIPE, L.O., RABELLO, L.A., OLIVEIRA JR, E.N., SANTOS, J.B. 2017. Quitosana: Da química básica à Bioengenharia. *Química Nova na Escola*, 39, 312-320. <http://dx.doi.org/10.21577/0104-8899.20160089>.
- GANDRA, J.R., OLIVEIRA, E.R., TAKIYA, C.S., GOES, R.H.T.B., PAIVA, P.G., OLIVEIRA, K.M.P., GANDRA, E.R.S., ORBACH, N.D., HARAHI, H.M.C. 2016. Chitosan improves the chemical composition, microbiological quality, and aerobic stability of sugarcane silage. *Animal Feed Science and Technology*, 214, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2016.02.020>.
- GOIRI, I., OREGUI, L. M., GARCIA-RODRIGUEZ, A. 2010. Use of chitosans to modulate ruminal fermentation of a 50:50 forage-to-concentrate diet in sheep. *Journal of Animal Science*, 88, 749-755.
- GOOSEN, M. E. A – “Applications of chitin and chitosan”, *Technomic Publishing Company*, Lancaster (1996).
- GOY RC, BRITTO D, ASSIS OCG (2009). A review of the antimicrobial activity of chitosan. *Polímeros* 19, 241–247. <http://dx.doi.org/10.1590/S0104-142820090003>.
- HARPER KJ, MCNEILL DM (2015). The role of iNDF in the regulation of feed intake and the importance of its assessment in subtropical ruminant systems (the role of iNDF in the regulation of forage intake). *Agriculture* 5, 778-790. <https://doi.org/10.3390/agriculture5030778>.
- HEU MS, KIM JS, SHAHIDI F (2003). Components and nutritional quality of shrimp processing by-products. *Food Chemistry* 82, 235-242. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00519-8](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00519-8).
- IBGE. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. Prod, Pec, munic., Rio de Janeiro, v. 41, p.1-108, 2022.
- JEON, S.J., OH, M., YEO, W.S., GALVÃO, K.N., JEONG, K.C. 2014. Underlying mechanism of antimicrobial activity of chitosan microparticles and implications for the treatment of infectious diseases. *Plos One*, 9, 1-10.
- JOBIM, C. C.; BRANCO, A. F.; GAI, V. F. Qualidade de forragens conservadas versus produção e qualidade do leite de vacas. In: SIMPÓSIO SOBRE SUSTENTABILIDADE DA PECUÁRIA LEITEIRA NA REGIÃO SUL DO BRASIL, 2., 1991, Maringá. *Anais...* Maringá. p.98-122, 2002.
- JOBIM, C.C., NUSSIO, L.G., REIS, R.A., SCHMIDT, P. 2007. Avanços metodológicos na avaliação da qualidade da forragem conservada. *Rev. Bras. Zootec.* 36, 101-119. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982007001000013>.

- KONG, M., CHEN, X.G., XING, K., PARK, H.J. 2010. Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International Journal of Food Microbiology*, 144:51–63.
- KUCHARSKA, M., SIKORA, M., BRZOZO-MALCZEWSKA, K., OWCZAREK, M. 2020. Antimicrobial properties of chitin and chitosan. In: *Chitin and Chitosan: Properties and Applications* (Ed. Lambertus, A.M., van den Broek, Boeriu, C.G.). John Wiley & Sons Published, pp. 169-187.
- KUNG JR., L., SAVAGE, R.M., SILVA, E.B., POLUKIS, S.A., SMITH, M.L., JOHNSON, A.C.B., MILLER, M.A. 2020. The effects of air stress during storage and low packing density on the fermentation and aerobic stability of corn silage inoculated with *Lactobacillus buchneri* 40788. *Journal of Dairy Science*, 104, 4206-4222.
- KUNG JR., L., SHAVER, R.D., GRANT, R.J., SCHMIDT, R.J. 2018. Interpretation of chemical, microbial, and organoleptic components of silages. *Journal of Dairy Science*, 101, 4020-4033.
- KUNG JR., L.; STOKES, M.R.; LIN, C.J. Silage additives. In: BUXTON, D.R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H. (Eds.) *Silage Science and Technology*. 1.ed. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p.305-360.
- LI, F., DING, Z., KE, W., XU, D., ZHANG, P., BAI J., MUDASSAR, S., MUHAMMAD, I., GUO, X. 2019. Ferulic acid esterase-producing lactic acid bacteria and cellulase pretreatments of corn stalk silage at two different temperatures: Ensiling characteristics, carbohydrates composition and enzymatic saccharification. *Bioresource Technology*, 282, 211-221.
- MA Z, GARRIDO-MAESTU A, JEONG KC (2017). Application, mode of action, and *in vivo* activity of chitosan and its micro- and nanoparticles as antimicrobial agents: A review. *Carbohydrate Polymers* **176**, 257–265. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.08.082>.
- MACÊDO, A. J. S. *et al.* Potencialidades e limitações de plantas forrageiras para ensilagem: Revisão. *Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal*, v. 13, n. 2, p. 320–337, 2019.
- MAJETI N.V. AND KUMAR R. A review of chitin and chitosan applications. *Reactive & Functional Polymers* 46, 1–27, 2000.
- MATHUR, N. K.; NARANG, K. C. Chitin and chitosan: versatile polysaccharides from marine animals. *Journal of Chemical Education*, v. 67, n. 11, p. 938-942, 1990.
- MCDONALD P, HENDERSON AR, HERON SJE (1991). *The biochemistry of silage* (2nd ed.) (Chalcomb Publications: Edinburgh, UK).
- MCDOUGALL, E.I., 1948. The composition and output of sheep's saliva. *Biochem. J.* 43, 99-109.
- MORAIS G.J., BUMBIERIS JUNIOR V.H., HORST E.H., GUIMARÃES V.A.P., MASSARO JUNIOR F.L., MEZA D.A.R., GALBEIRO S. (2021). Effect of microbial inoculants on the chemical composition and aerobic stability of Tanzania guinea grass silages. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.7, n.3, p. 24907-24919.
- MUCK RE (2010). Silage microbiology and its control through additives. *Revista Brasileira de*

*Zootecnia* **39**, 183-191. <https://doi.org/10.1590/S1516-35982010001300021>.

MUCK, R.E. 1988. Factors influencing silage quality and their implications for management. *Journal of Dairy Science*, 71, 2992-3002.

MUCK, R.E., NADEAU, E.M.G., MCALLISTER, T.A., CONTRERAS-GOVEA, F.E., SANTOS, M.C., KUNG JR., L. 2018. Recent advances and future uses of silage additives. *Journal of Dairy Science*, 101, 3980-4000.

NACZK, M.; WILLIAMS, J.; BRENNAN, K.; LIYANAPATHIRANA, C.; SHAHIDI, F. Compositional characteristics of green crab (*Carcinus maenas*). p. 6. 2004.

NSERIKO, V.L., SMILEY, B.K., RUTHERFORD, W.M., SPIELBAUER, A., FORRESTER, K.J., HETTINGER, H.G., HARMAN, E.K., HARMAN, B.R., 2008. Influence of inoculating forage with lactic acid bacterial strains that produce ferulate esterase on ensilage and ruminal degradation of fiber.

PAHLOW G, MUCK RE, DRIEHUIS F, OUDE ELFERINK SJWH, SPOELSTRA SF (2003). Microbiology of ensiling. *American Society of Agronomy*. <https://doi.org/10.2134/agronmonogr42.c2>.

PAHLOW, G; MUCK, R.E.; DRIEHUIS, F. *et al.* Microbiology of ensiling. In: BUXTON, D. R.; MUCK, R.E.; HARRISON, J.H (Eds). **Silage Science and Technology**. 1 ed. Madison: American Society of Agronomy, 2003. p. 31-94.

PENN STATE. 2004. From harvest to feed: understanding silage management. State College: Pennsylvania State University 1-40.

PEREIRA, M.N.; VON PINHO, R.G.; BRUNO, R.G.D.S.; CALESTINE, G.A. Ruminal degradability of hard or soft texture corn grain at three maturity stages. *Scientia Agricola*, Maringá. v.61, n.4, p.358-363, 2004.

PHILLIP, L.E., FELLNER, V. 1992. Effects of bacterial inoculation of high-moisture ear corn on its aerobic stability, digestion, and utilization for growth by beef steers. *J. Anim. Sci.*, 70(10):3178-3187,1992.

PINTO, B.V.V., BEZERRA, A.E., AMORIM, E., VALADÃO, R.C., OLIVEIRA, G.M. 2017. O resíduo de pescado e o uso sustentável na elaboração de coprodutos. *Revista Mundi Meio Ambiente e Agrária*, 2, 1-15.

PITT, R.E., MUCK, R.E., PICKERIG, N.B. 1991. A model of aerobic fungal growth in silage.2. Aerobic stability. *Grass Forage Sci.*, Oxford, 46(3)301-312.

RAMOS NETO, K. X. C. *et al.* Inclusão de diferentes níveis de fubá de milho em silagem de capim-elefante (*Pennisetum purpureum* schum cv. Napier). *Revista Nutritime*, v. 17, n. 5, p. 8781- 8787. set, out, 2020.

RANJIT, N.K., KUNG, L. JR., 2001. The effect of *Lactobacillus buchneri* and other additives on the fermentation and aerobic stability of barley silage. *J. Dairy Sci.*, 84 ,1149-1155.

RANJIT, N.K.; KUNG JR., L. The effect of *Lactobacillus buchneri*, *Lactobacillus plantarum*, or a chemical preservative on the fermentation and aerobic stability of corn silage. *Journal of*

Dairy Science, v.83, p.526-535, 2000.

REIS, RICARDO ANDRADE *et al.* Forragicultura: Ciência, Tecnologia e Gestão dos Recursos Forrageiros. 1. ed. Jaboticabal: FUNEP/UNESP, 2014. 714 p. ISBN 9788588805408.

ROBERTS, G. A. F. - “Chitin Chemistry”, *The Macmillan Press*, London (1992).

SIQUEIRA, G.R.; BERNARDES, T.F.; REIS, R.A. Instabilidade aeróbia de silagens: efeitos e possibilidades de prevenção. In: REIS, R.A.; SIQUEIRA, G.R.; BERTIPAGLIA, L.M.A. (Eds.). Volumosos na produção de ruminantes. 2.ed. Jaboticabal: FUNEP, 2005. p.25-60.

SIRAKAYA, S. e BEYZI, S. B. Treatment of alfalfa silage with chitosan at different levels to determine chemical, nutritional, fermentation, and microbial parameters. *Journal of Animal and Feed Sciences*, 31, 1, 2022, 73–80, 2022.

TILLEY, J.M.A., TERRY, R.A., 1963. A two-stage technique for the in vitro digestion of forage crops. *Grass Forage Sci.* 18, 104-111. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2494.1963.tb00335>.

WEINBERG, Z. G., & MUCK, R. E. (1996). New trends and opportunities in the development and use of inoculants for silage. *FEMS Microbiology Reviews*, 19(1), 53-68. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.1996.tb00253>.

WOOLFORD, M. K. (1984). *The silage fermentation*. New York: Marcel Dekker. 305p.

ZANINE AM, SENE OA, FERREIRA DJ, PARENTE HN, PARENTE MOM, PINHO RMA, SANTOS EM, NASCIMENTO TVC, LIMA AGVO, PERAZZO AF, PORTELA YN, BANDEIRA DM (2020). Fermentative profile, losses and chemical composition of silage soybean genotypes amended with sugarcane levels. *Scientific Reports* 10, 21064. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-78217-1>.