

EL ACIDO FORMICO COMO CONSERVADOR DE LA ALFALFA ENSILADA

Por C. Carpintero
y A. Suárez

INTRODUCCION

El ácido fórmico ha sido utilizado con buenos resultados como conservador en el ensilado de forrajes según distintos autores escandinavos (ULVESI y SAUE, 1965 y SAUE y BREIREN, 1969). Con forrajes de difícil conservación, como es el caso de la alfalfa, los resultados han sido variables según las dosis empleadas (ZELTER, 1960 y CARPINTERO, HOLDING y McDONALD, 1969).

MELVIN (1965) por su parte, ha encontrado que las pequeñas variaciones que aparecen en el contenido de azúcares, a causa del distinto grado de maduración de los forrajes, no son suficientes para explicar las posibles diferencias que aparecen en la fermentación. Un aumento en el contenido de materia seca de la alfalfa ensilada, producido por predesecación, orienta favorablemente la conservación según GOUET y FANTIANOFF (1965), mientras que diferencias en el contenido de materia seca, también con alfalfa verde ensilada, sin conservador, no tuvieron el mismo resultado (CARPINTERO 1969).

SAUE (1969), WALDO, KEYS y GORDÓN, (1969) y CASTLE y WATSON, (1970) han estudiado la digestibilidad «in vivo» de los forrajes ensilados con ácido fórmico.

En estos experimentos se trata de medir la eficacia que distintos niveles de ácido fórmico tienen en la conservación de la alfalfa por medio de ensilado, cuando los contenidos en materia seca son diferentes por el distinto grado de madurez de la misma. Se trata de buscar la dosis óptima para la conservación, así como la influencia del ácido fórmico sobre la digestibilidad «in vitro» de los distintos ensilados obtenidos.

PARTE EXPERIMENTAL

Se realizaron dos experimentos análogos durante dos años sucesivos (1970 y 1971). En el primero de ellos se ensiló alfalfa con un contenido en materia seca de 23,4 %, utilizando para ello silos de laboratorio con una capacidad aproximada de 1,200 Kgs. Como conservador se empleó ácido fórmico de 85 % en niveles de 0 - 0,25 - 0,48 - 0,60 - 0,80 y 1 % en peso de alfalfa recién cortada. En cada uno de los tratamientos se disponía de cuatro microsilos dos de los cuales fueron abiertos a los 68 días y un número igual a los 164.

En una segunda prueba la alfalfa fue segada en una fase menos avanzada de vegetación, cuando tenía solamente el 15,07 % de materia seca, y se sometió a conservación por ensilado con niveles de ácido fórmico equivalentes a 0 - 0,40 0,60 - 0,80 y 1 %, también por peso de alfalfa. Los silos fueron abiertos, por triplicado, para cada uno de los tratamientos a los 110 y 160 días de conservación respectivamente. En los dos experimentos al abrir los silos se tomaron las correspondientes muestras para su análisis.

Técnicas analíticas.

La determinación de la materia seca en el forraje se realizó en estufa a 105°C., mientras que en los ensilados este dato fue hallado por el método de destilación con tolueno (DEWAR y McDONALD 1961). Para hallar el contenido en carbohidratos solubles en agua hemos seguido el método de la antrona BARNETT (1960) y los ácidos grasos volátiles, extraídos con un ácido mineral, fueron separados por cromatografía en columna y valorados, con un tritador automático LESSARD y McDONALD (1966).

El nitrógeno total y el amoniácal con los métodos descritos y utilizados por McDONALD y colaboradores (1960). La capacidad buferadora siguiendo la técnica empleada por PLAYNE y McDONALD (1966). Finalmente para la determinación de la digestibilidad «in vitro» empleamos la técnica de TILLEY y TERRY (1963) sobre muestras de ensilado liofilizado y utilizando líquido ruminal de ovejas fistuladas alimentadas con heno de alfalfa.

RESULTADOS

Experimento I.: La composición del forraje de alfalfa y del ensilado obtenido con ella en esta prueba puede verse en las tablas I y II.

El ácido fórmico, aunque redujo considerablemente la capacidad buferadora de los ensilados, no consiguió llevar el valor del pH a cifras adecuadas para asegurar la formación de un ensilado estable con la consiguiente variabilidad entre ellos. El pH de los testigos de la segunda fase de la conservación fue significativamente más alto ($P = 0,01$) que cualquiera de los ensilados con conservador sin que se alcanzase otra diferencia significativa entre los distintos

TABLA I
Composición de la alfalfa fresca y ensilada (% M. S.) a los 98 días de conservación

Alfalfa:	(en M.S.)
Materia seca (M. S.)	23,4 %
Carbohidratos solubles en agua	6,1 %
Digestibilidad de la M. O. «in vitro»	67,3 %

Silos:	Dosis de ácido fórmico (%)					
	0	0,25	0,48	0,60	0,80	1,00
Materia seca	19,4	23,1	20,1	21,6	23,5	24,5
Capacidad buferadora: (m-equiv./100 g. M.S.)	126	73	96	80	71	66
Nitrógeno total	3,19	2,99	3,25	3,25	2,65	2,87
Amoniaco-N (% de N. total) ..	3,19	12,9	21,8	17,8	16,9	13,9
Ácido fórmico	0,10	0,22	0,18	0,52	0,68	0,19
Ácido acético	2,09	0,67	1,36	0,58	0,74	0,63
Ácido propiónico	0,22	0,07	0,15	0,01	0,09	0,07
Ácido butírico	0,29	0	0,26	0,09	0,16	0,05
Ácido succínico	2,06	0,35	0,58	0,47	0,51	0,34
Ácido láctico	0,55	3,34	2,01	1,13	1,21	1,10
Ácidos totales	5,31	4,65	4,54	3,80	3,39	2,38

Composición del ensilado obtenido a los 164 días						
Materia seca	17,9	21,6	25,1	21,2	24,3	23,5
Capacidad buferadora (m-equiv./100 g. M. S.)	147	67	86	88	73	63
Nitrógeno total	3,15	3,08	2,68	3,30	2,36	3,56
Amoniaco-N (% N total) ..	27,1	11,4	12,4	7,8	10,4	5,2
Ácido fórmico	0,07	0,14	0,16	0,25	0,15	0,51
Ácido acético	1,81	0,68	0,78	0,62	0,73	0,50
Ácido propiónico	0,19	0,02	0,15	0,06	0,09	0,09
Ácido butírico	0,43	0,02	0,40	0,08	0,10	0,12
Ácido succínico	1,41	0,39	0,49	0,56	0,69	0,41
Ácido láctico	0,81	2,93	1,68	0,89	0,69	0,93
Ácidos totales	4,72	4,18	3,66	2,46	2,45	2,56

niveles. La formación de nitrógeno amoniácal fue significativamente más alta ($P = 0,05$ y $P = 0,01$) en los silos testigos en la primera y en la segunda fase de la conservación, respectivamente, siendo más baja ($P = 0,05$) la formación de amoniaco en esta última fase para la dosis de 1,0 % de conservador que para las dos primeras.

Los carbohidratos solubles en agua se mantuvieron significativamente más altos, con distintos grados de significación, en las tres últimas dosis de conservador empleadas, disminuyendo, lógicamente, en la segunda fase. La formación de ácido butírico fue reducida, en general, con el conservador.

TABLA II.
Otros componentes del silo y su significación

Dosis de ácido fórmico utilizado (%)	Primera fase de conservación			Segunda fase de conservación			Digest. «in vitro» de la M. O. (% M. S.)
	pH	NH ₃ -N (% M. S.)	Carboh. solubles en agua (% M. S.)	pH	NH ₃ -N (% M. S.)	Carboh. solubles en agua (% M. S.)	
0	6,4	1,08	1,02	6,3	0,85	0,62	65,1
0,25	4,7	0,38	2,43	4,8	0,35	2,21	70,5
0,48	5,2	0,72	1,75	5,1	0,33	2,60	65,9
0,60	5,9	0,58	2,35	5,5	0,26	4,86	68,4
0,80	5,3	0,45	5,70	5,7	0,34	2,90	68,7
1,00	5,8	0,40	5,67	4,9	0,14	5,16	67,6
MDS 5 %	0,9	0,50	1,66	0,3	0,17	2,44	6,0
MDS 1 %	1,5	0,92	2,75	0,5	2,25	3,70	

MDS = mínimas diferencias significativas

No se encontró ninguna diferencia significativa en la digestibilidad de la materia orgánica.

Experimento 2.: El conservador redujo el pH del ensilado siendo significativamente más alto ($P = 0,05$) el pH en el silo testigo que en el conservador con la dosis más baja de ácido y muy significativa ($P = 0,01$) su diferencia con relación a los conservados con dosis más altas. Fue significativamente más alto también el pH de los silos con el conservador al 0,40 % que los de niveles más altos, no encontrándose ninguna diferencia entre las dosis de 0,60, 0,80 y 1,0 %. En la segunda fase de conservación se observan diferencias análogas consiguiéndose ensilados de una gran estabilidad.

La formación N-amoniacial ha seguido una dirección análoga a la del pH siendo significativamente más alta ($P = 0,05$) la formación de este en los silos sin conservador y con dosis de 0,40 % que en los que se utilizó 0,60 % y significativamente ambas ($P = 0,01$) con relación a las dos últimas dosis. Con relación a las tres dosis altas el efecto fue el mismo, no teniendo ninguna significación las diferencias entre ellas.

Los carbohidratos fueron metabolizados durante la fermentación y sólo se han encontrado diferencias significativas respecto al testigo con las dosis más altas, es decir, 0,80 y 1,0 %.

La cantidad de ácido fórmico encontrada en el ensilado fue significativamente más alta ($P = 0,01$) en las dos últimas dosis con relación al testigo y a la primera dosis. No fue hallada diferencia a partir de las dosis de 0,60 %.

La digestibilidad de los ensilados con conservador fueron ligeramente más altas, pero en ningún caso significativas.

TABLA III.—Experimento II
Composición de la alfalfa fresca y ensilada (% M. S.) después de 110 días de conservación

Alfalfa:	(Medias de silos triplicados)					ten M. S.)
	Materia seca (M. S.)	Carbohidratos solubles en agua	Digestibilidad «in vitro» de la M.O.			
Materia seca (M. S.)	15,07 %					
Carbohidratos solubles en agua	7,57 %					
Digestibilidad «in vitro» de la M.O.	78,8 %					
Silos:						
	Dosis de ácido fórmico (% en peso)					
	0	0,40	0,60	0,80	1,00	
Materia seca (M.S.)	12,36	15,18	17,78	15,99	16,43	
Capacidad buferadora: (m-equiv./100 g. M.S.)	193	156	139	120	112	
Nitrógeno total	4,20	3,63	3,49	3,49	3,86	
Amoníaco-N (% del N total)	14,40	15,05	10,58	6,04	5,15	
Ácido propiónico	0,21	0,10	0,07	0,13	0,15	
Ácido butírico	0,25	0,0	0,0	0,09	0,07	
Ácido succínico	0,02	0,34	0,25	0,29	0,28	
Ácido láctico	2,55	2,09	3,02	2,45	1,27	
Ácidos totales	5,11	5,88	6,16	6,05	5,10	
	Composición de los silos a los 160 días de conservación					
Materia seca (M.S.)	13,12	15,32	14,08	14,94	15,88	
Capacidad buferadora: (m-equiv./100 g. M. S.)	223	164	150	133	134	
Nitrógeno total	3,88	3,58	3,85	3,48	3,44	
Amoníaco-N (% N total)	15,3	15,9	9,2	6,1	3,6	
Ácido propiónico	0,14	0,13	0,08	0,08	0,08	
Ácido butírico	0,13	0,07	0,02	0,08	0,07	
Ácido succínico	0,49	0,56	0,23	0,23	0,21	
Ácido láctico	1,94	2,71	2,58	3,23	2,25	
Ácidos totales	8,76	7,35	5,82	6,49	6,03	

TABLA IV
Otros componentes del silo y su significación

Dosis de ácido fórmico utilizadas.	pH	Primera fase de conservación				Segunda fase de conservación			
		NH ₃ -N (% M. S.)	Carboh. Solubles en agua (% M. S.)	Ácido fórmico (% M. S.)	Ácido acético (% M. S.)	Digest. "in vitro" de M. O. (% M. S.)	NH ₃ -H (% M. S.)	pH	Carboh. solubles en agua (% M. S.)
0	5,0	0,60	0,94	0,72	1,36	80,5	5,1	0,84	0,13
0,40	4,6	0,59	1,37	0,76	2,59	80,6	4,7	0,57	1,40
0,60	4,3	0,36	1,86	1,55	1,27	83,4	4,3	0,35	2,57
0,80	4,1	0,21	3,49	2,09	1,00	82,0	4,3	0,21	2,77
1,00	4,2	0,31	3,52	2,24	1,09	80,4	4,1	0,12	3,22
MDS 5 %	0,2	0,21	2,46	0,79	1,27	5,9	0,2	0,19	1,80
MDS 1 %	0,4	0,37	1,17			0,3	0,3	0,29	1,37
									2,46

MDS = mínimas diferencias significativas.

DISCUSIÓN DE LOS RESULTADOS

Los tres principales criterios a seguir cuando se trata de obtener una fermentación normal en cualquier ensilado serían: una adecuada cantidad de carbohidratos susceptibles de fermentación, la presencia de una población microbiana apta y obtener unas inmediatas condiciones anaeróbicas en el silo que se han de mantener a lo largo del proceso. Para pequeñas variaciones en la cantidad de carbohidratos presentes, el último factor puede influir en el desarrollo posterior de la fermentación. Un contenido alto en la humedad de los forrajes (85 % o superior), puede neutralizar el efecto conservador del ácido láctico y favorecer el desarrollo de la actividad de gérmenes del género *Clostridium*, pero con él puede conseguirse un mayor grado de consolidación necesario para alcanzar unas condiciones aneróbicas óptimas, difíciles de conseguir con algunas clases de plantas (MILLER 1969).

En los silos preparados con alfalfa con un contenido en materia seca del 23,4 %, se obtuvo un menor grado de densidad, para los mismos silos (1,200 kilogramos), que con el material más húmedo (1,600 kgs.). Esto pudo haber influido en el comportamiento y en la formación de silos menos estables en el primer experimento que en el segundo. Es posible también que un mayor contenido en jugos celulares de la planta menos madura y su corte en un estado con contenido en materias digestibles y nutritivas (digestibilidad de la M. O. = 67,9 % en Exp. 1 y 78,8 % en Exp. 2) más alto tengan un efecto más positivo que sólo la consideración de la materia seca del forraje fresco ensilado.

El efecto del conservador expresado en la obtención de un pH adecuado, no se consiguió en el primer experimento aun cuando la capacidad buferadora en estos silos fue más baja que en el segundo, desarrollándose una actividad clostridial de tipo proteólico como lo indica la cantidad de N en forma amoniacal encontrada. Una considerable degradación de aminoácidos en silos de pH comprendido entre 4,8 y 5,7 ha sido también señalada por otros autores (DE VUYST 1971).

La adición del ácido favoreció significativamente la conservación de los carbohidratos solubles en agua, pero sólo con las dosis más altas utilizadas. Inhibió en general la formación de ácido butírico y la cantidad de ácidos encontrada fue inferior en los silos con conservador.

La reducción del pH alcanzado en el segundo experimento, cuando las dosis utilizadas fueron de 0,60 % y superiores, dio lugar a la formación de ensilados de mejor calidad y más estables a lo largo de todo el período de conservación. Una completa inhibición de las bacterias del ácido láctico a una dosis determinada de conservador depende del tipo de forraje utilizado y de su contenido en materia seca HENDERSON y McDONALD (1971) (1972).

WILSON y WILKINS (1973) no han encontrado diferencias significativas en el pH de alfalfa y dactilo ensilados con dosis de ácido fórmico del 0,45 % y su-

periores. Teniendo en cuenta el valor del pH y el contenido en N-amoniacial, no hemos encontrado en nuestro experimento, diferencias significativas para ambos parámetros con dosis del 0,60 % (ácido fórmico del 85 %) y más altas. Dichos valores, pH = 4,2 y N-amoniacial < 11 (como % del N total), junto con un valor para el contenido en ácido butírico < 0,1 están dentro de los límites establecidos por diferentes autores BUTLER y BAILEY (1973) como ensilados de buena calidad. En los silos testigo y con dosis de 0,40 % estos valores son superiores a esas cotas fijadas.

La calidad de ácido acético, en la segunda fase de la conservación, aumentó, a expensas, lógicamente, de la disminución del ácido láctico. Los contenidos significativamente más altos fueron encontrados en los silos testigo y dosis de ácido más bajas, no siendo significativas las diferencias entre las dosis de 0,60 % y las más altas. El contenido de ácido fórmico fue significativamente superior en los ensilados con conservador, no existiendo diferencias de nuevo entre los valores hallados para las tres últimas dosis.

El valor nutritivo de los silos conservados con ácido fórmico, su digestibilidad «in vivo», el efecto sobre la apetecibilidad y ganancia en peso de los animales alimentados con dichos ensilados ha sido estudiada por varios autores WALDO (1971) (1973), VALENTINE (1973) y CASTLE y WATSON (1973). Determinaciones del contenido en M. O. digestible medida «in vitro» muestran un ligero aumento de la digestibilidad en los que llevan conservadores, no encontrándose ninguna diferencia significativa con el testigo o entre las distintas dosis. Este resultado concuerda con los obtenidos por algunos de los autores mencionados.

RESUMEN

Diferentes dosis de ácido fórmico (85 %) de hasta 1 % (p/p) fueron utilizados en dos experimentos sobre alfalfa cosechada en dos estados de madurez próximos.

La adición del ácido a los silos preparados con alfalfa en un más avanzado estado de madurez (M. S. = 23,4 Experimento 1), fue menos efectiva y dio lugar a ensilados menos estables que los preparados con alfalfa más joven con un contenido inferior en materia seca (M. S. = 15,07, Experimento 2.).

El ácido redujo significativamente el pH, la formación de nitrógeno amoniacial y el contenido en ácido acético de los silos en ambas experiencias. No fue encontrada ninguna diferencia significativa en cuanto al contenido de estos tres componentes en el segundo experimento con dosis de conservador de 0,60 % respecto a los más altos.

La digestibilidad del ensilado cuando se empleaba conservador fué ligeramente más alta, pero estas diferencias no fueron significativas.

RESUME

De différentes doses d'acide formique (85 %) de jusqu'à 1 % (p/p) ont été utilisées dans deux expériences sur de la luzerne récoltée à deux phases de maturité proche l'une de l'autre.

L'addition de l'acide aux silos préparés avec de la luzerne à une phase de maturité plus avancée (matière sèche (M. S.) = 23,4, Expérience 1) fut moins efficace et donna lieu à des silotages moins stables que ceux qui furent préparés avec de la luzerne plus jeune avec une teneur inférieure en matière sèche (M. S. = 15,07, Expérience 2).

L'acide diminua significativamente le pH, la formation de nitrogéne ammoniacal et la teneur en acide acétique des silos dans les deux expériences. Aucune différence significative n'a été trouvée quant à la teneur de ces trois composants dans la deuxième expérience avec des doses de conservateur de 0,60 % en rapport aux plus élevés.

La digestibilité du silotage quand on employait un conservateur était légèrement plus élevée, mais ces différences ne furent pas significatives.

SUMMARY

Different levels of formic acid (85 %) at up to 1 % (w/w) of the fresh weight were used in two experiments on lucerne harvested ad two stages of maturity.

The addition of formic acid on the silage made with lucerne in the later stage of growth (DM = 23,5, Experiment 1) was less effective and produced silages less stable and not as well preserved as those prepared with lucerne at an earlier stage of growth with a lower dry matter content (DM = 15.07 %. Experiment 2).

Treatment with formic acid significantly reduced the pH ammonia and acetic acid content in both experiments. Differences for these three components in experiment 2 were not significant with addition of 0,60 % level or higher.

«In vitro» digestibility of the preserved silages was slightly higher than untreated ones but these differences were not significant.

BIBLIOGRAFIA

- BARNETT, A. J. G. and MILLER, T. B.: The determination of soluble carbohydrate in dried samples of grass silage by the anthrone method. *J. Sci. Fd Agric.*, 1950, 1, 336.
- BUTLER, G. W. and BAILEY, R. W.: Chemistry and Biochemistry of herbage, 1973. Vol. 3. Academic Press, London.
- CARPINTERO, M. C., HOLDING, A. J. and McDONALD, P.: Fermentation studies on lucerne. *J. Sci. Fd. Agric.* 1969, 20, 677.
- CASTLE, M. E. and WATSON, J. N.: Silage and milk production, a comparison between wilted and unwilted grass silages made with and without formic acid. *J. Br. Grassl. Soc.* 1970, 25 (4), 278.
- CASTLE, M. E. and WATSON, J. S.: Silage and milk production. A comparison between wilted grass silages made with and without formic acid. *J. Br. Grassl. So.* 1973, 28, 73.
- DE VUYST, A. et al.: La valeur de l'acide formique comme conservant pour ensilage. Communication du Centre de Recherches Zootechniques de l'University de Louvain. 1971, n.º 10.
- DEWAR, W. A. and McDONALD, P.: Determination of dry matter in silage by distillation with toluene. *J. Sci. Fd. Agric.* 1961, 12, 790.
- GOUET, Ph., FATIANOFF, N. et al.: Influence de l'élévation du taux de matière sèche sur l'évolution biochimique et bactériologique d'une lucerne conservée par ensilage. *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 1965, 5 (1), 79.
- HENDERSON, A. R., McDONALD, P. and WOOLFORD, M. K.: Chemical changes and losses during the ensilage of wilted grass treated with formic acid. *J. Sci. Fd. Agric.* 1972, 23, 1.079.
- HENDERSON, A. R. and McDONALD, P.: Effect of formic acid on the fermentation of grass of low dry matter content. *J. Sci. Fd. Agric.* 1971, 22, 157.
- LESSARD, J. R. and McDONALD, P.: A silica gel chromatographic procedure adapted to liquid-scintillation counting of 14 labelled organic acids from plant material and silage. *J. Sci. Fd. Agric.* 1966, 17, 257.
- McDONALD, P., STIRLING, A. G., HENDERSON, A. R. et al.: Studies on ensilage. *Tech. Bull. Edimb. Sch. Agric.* 1960, n.º 24.
- MELVIN, J. F.: Variations in the carbohydrate content of lucerne and the effect on ensilage. *Aust. J. Agric. Res.* 1965, 16, 951.
- MILLER, T. B.: Forage conservation in the tropics. *J. Brit. Grassl. Soc.* 1969, 24 (2), 158.
- PLAYNE, M. J. and McDONALD, P.: The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Fd. Agric.* 1966, 17, 264.
- SAUE, O. and BREIREN, K.: Formic acid as a silage additive. Proc. 3rd Gen. Meet. European Grassl. Fed. Braunschweig. 1969, 161.
- SAUE, O. et al.: Comparison of formic acid silage with other silages and dried grassland products in feeding experiments. Proc. 3rd Gen. Meet. European Grassl. Fed. Braunschweig. 1969, 282.
- TILLEY, J. M. A. and TERRY, R. A.: A two-stage technique for the «in vitro» digestion of forage crops. *J. Br. Grassl. Soc.* 1963, 18, 104.
- ULVESLI, O. and SAUE, O.: Comparison of different additives used in ensiling forage crops. 1965. Institute of Animal Nutrition, Agricultural College of Norway. Report. n.º 121.
- VALENTINE, S. C. and BROWN, D. C.: Formaldehyde as a silage additive. II. The chemical composition and nutritive value of lucerne hay, lucerne silage, and formaldehyde and formic acid-treated lucerne silages. *Aust. J. Agric. Res.* 1973, 24, 939.
- WALDO, D. R. et al.: Effect of formic acid on recovery, intake, digestibility and growth from unwilted silage. *J. Dairy Sci.* 1971, 52 (1), 77.
- WALDO, D. R. et al.: Preservation, efficiency and dairy heifer response from unwilted formic and wilted, untreated silages. *J. Dairy Sci.* 1973, 56, 129.
- WALDO, D. R., KEYS, J. E. and GORDON, C. H.: Additional comparisons of formic acid silage. *J. Dairy Sci.* 1969, 52, 936.
- WILSON, R. F. and WILKINS, R. J.: Formic acid as a silage additive for wet crops of cocksfoot and lucerne. *J. Agric. Sci. Camb.* 1973, 80, 225.
- ZELTER, S. Z.: Fermentative behaviour of lucerne ensiled different methods Proc. 8th Int. Grassl Cong. Reading. 1960, 6.