

198

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



---

**EFFECTO SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DEL  
ENSILADO DE ALFALFA TRATADO CON DIFEREN-  
TES NIVELES DE FORMALDEHIDO (0 AL 20%)**

**T E S I S**  
**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE**  
**MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA**  
**P R E S E N T A**

**LEONOR SANGINES GARCIA**

**ASESORES: M.V.Z. FERNANDO PEREZ GIL ROMO**  
**M.V.Z. BENE A. LEDESMA FERET**

**MEXICO, D. F.**

**1981**



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E .

RESUMEN

I)	INTRODUCCION	1
II)	MATERIAL Y METODOS	9
III)	RESULTADOS Y DISCUSION	15
IV)	CONCLUSION	24
V)	BIBLIOGRAFIA	25

"EFECTO SOBRE LA COMPOSICION QUIMICA DEL ENSILADO DE ALFALFA  
TRATADO CON DIFERENTES NIVELES DE FORMALDEHIDO (0 al 20% )"

SANGINES GARCIA, LEONOR

Asesores:

M.V.Z. Fernando Pérez Gil Romo  
M.V.Z. René A. Ledesma Feret.

El objetivo de este trabajo, fué investigar el efecto del formaldehido a diferentes concentraciones, sobre la composi  
ción química de la alfalfa ensilada; y observar si existe protec  
ción sobre las proteínas.

Se ensiló alfalfa en frascos con capacidad de 750 ml., agregándoseles 5, 10, 15 y 20% de formol en una proporción de 5 litros por tonelada; además de un control.

Se determinó pH, amoníaco, análisis químico proximal, fibra cruda por el método de Van Soest, ácidos grasos volátiles y ácido láctico.

Se obtuvieron valores de pH entre 5.73 y 6.23; con una diferencia significativa de ( $P < .01$ ) y ( $P < .05$ ); entre el control y el tratamiento con 5%, no hubo diferencia significativa.

Con respecto a amoníaco, se encontró una diferencia de ( $P < .01$ ) entre los ensilados tratados y el control, siendo mayor para éste último.

Para el ácido acético no se encontraron diferencias sig  
nificativas. Sin embargo, para el ácido propiónico, ácido butíri  
co y ácido láctico se obtuvo una diferencia de ( $P < .01$ ).

La cantidad de ácidos totales disminuyó en los tratamien  
tos con respecto al control.

Por los resultados anteriores se concluye que en los en  
silados tratados hubo una disminución de la fermentación bacteria  
na con respecto al control, al mismo tiempo que disminuyó la de  
gradación de la proteína a amoníaco; concluyendo que el nivel óp  
timo de formaldehido es el de 5%.

MARZO DE 1981.

## INTRODUCCION:

La contribución más importante que los alimentos de origen animal -leche y subproductos lácteos, carne, pescado y huevos- aportan a la nutrición humana, se encuentra en las proteínas de alta calidad que suministran.

Las proteínas son esenciales en la nutrición humana y animal; su excepcional importancia dietética ha quedado confirmada por los estudios sobre la naturaleza y funciones que de las mismas se han realizado, mucho antes de que la nutrición pasará a formar parte de las Ciencias Biológicas.

Además de suministrar los amino ácidos esenciales que son las unidades a partir de las cuales se sintetiza el tejido, las proteínas se emplean también en forma de núcleo-proteínas y enzimas, como activadores de procesos de importancia vital como son: la reproducción, el crecimiento, la maduración y la diferenciación celular, la actividad inmunológica y la actividad genética.

Los elevados costos de producción en las explotaciones pecuarias y la creciente competencia entablada entre los animales y el hombre por los cereales, imponen el empleo de cantidades mínimas de concentrados para los animales rumiantes, con una utilización más eficiente de piensos y forrajes. Esto ha llevado al hombre a crear métodos de conservación de forrajes, ya que por las condiciones climatológicas existentes en las diversas zonas agropecuarias del mundo, no es posible disponer de alimento suculento para alimentar al ganado durante todo el año.

Dentro de este tipo de procedimientos técnicos, se cuenta con los sistemas de henificación y ensilaje de diversos productos y subproductos agrícolas.

El proceso de henificación consiste en reducir el contenido de agua de los forrajes verdes de un 70-75% a un 25% aproximadamente, para que puedan ser almacenados en grandes cantidades,

sin que se presente una fermentación pronunciado o un enmohecimiento. Para que éste sea de alto valor nutritivo, es necesario que se elabore con plantas cortadas en un estado de madurez conveniente, que conserve la mayor cantidad de hojas, que los tallos se encuentren blandos y plegadizos, que conserve su color verde y esté libre de materias extrañas (24).

Por lo que respecta al proceso de ensilaje, la química de éste, no puede ser separada de la microbiología, porque el ensilado es un proceso de fermentación bacteriana. El proceso de ensilaje consiste en una serie de cambios físicos y químicos que pueden dividirse en dos etapas: respiración de las células de la planta aún vivas, y fermentación debida a la actividad microbiana.

El proceso de ensilaje puede dividirse en 5 fases: la primera fase principia cuando el forraje es colocado en el silo. Incluye la respiración de las células vegetales con producción de calor y bióxido de carbono ( $CO_2$ ), y esto tiene una gran influencia sobre el futuro del ensilado, porque el calor producido determina si la temperatura es o no óptima y el  $CO_2$  prevee una mejor anaerobiosis.

La segunda fase marca el final de la respiración celular y el principio de la producción de ácido, principalmente acético, disminuyendo el pH lo suficiente, como para prevenir el crecimiento de otras bacterias, que de otro modo serían capaces de producir compuestos indeseables en el ensilaje. Durante esta fase actúan principalmente las bacterias coliformes.

Como la flora que produce ácido acético no puede tolerar un bajo pH, su número decrece rápidamente conforme se incrementan las bacterias productoras de ácido láctico (lactobacilos), iniciándose así la tercera fase.

Durante los primeros días, también se incluye el asentamiento del forraje en el silo y se incrementa el escurrimiento que alcanza su máximo hacia el cuarto o quinto día.

La cuarta fase generalmente principia de 3 a 5 días después de ensilar y se termina después de 15 a 20 días. En esta fase se determina el éxito o el fracaso de un buen ensilado. Los lactobacilos dominan a la flora incrementando gradualmente el contenido ácido, hasta que el pH es lo suficientemente bajo como para detener la fermentación bacteriana (3.8 a 4.0).

La quinta fase representa un período indefinido, el cual refleja el valor relativo de los cambios ocurridos en las fases anteriores. Si los procesos fueron exitosamente realizados en esta fase, el ensilado permanecerá constante; pero si hubo una producción de ácido en la masa, ésta última queda como materia sujeta a la descomposición por bacterias indeseables, como son las productoras de ácido butírico, que pueden emplear los carbohidratos y el ácido láctico como sustrato, de manera que los resultados son impredecibles, hasta que la fuente de energía es agotada. En buenas condiciones el forraje puede ser conservado por más de 5 años.

Los azúcares hidrosolubles de la masa desaparecen en el producto final, pero los almidones son poco atacados. Las proteínas son degradadas parcialmente y disminuye su porcentaje en la materia seca final.

Tradicionalmente se considera bueno un ensilado, cuando reúne las siguientes características:

- 1) pH menor de 4.5
- 2) bajo contenido volátil alcalino (0.5% o menos expresado como amoníaco, en base a materia seca (M.S.))
- 3) 3.5% o más de ácido láctico en M.S.
- 4) Contenido de ácido butírico de 2% o menor en M.S.

Para tener éxito en la elaboración de un ensilaje, el secreto es la ausencia de aire, ya que éste se considera como el principal factor negativo, debido a que puede ocasionar grandes pérdidas (19); aunque también se debe tomar en cuenta el contenido de humedad de la planta al ensilar, tomándose como rango de seguridad un 60 a 75% (24 y 25).

El método de ensilaje es el más utilizado en la conservación de gramíneas, como el maíz y el sorgo, con los cuales se han obtenido buenos resultados. Sin embargo, cuando se pretende hacer lo mismo con productos más ricos en proteína, como sería el caso de la alfalfa o del trébol, la calidad del producto final puede ser baja, e inclusive podría llegar a perderse totalmente (21 y 45).

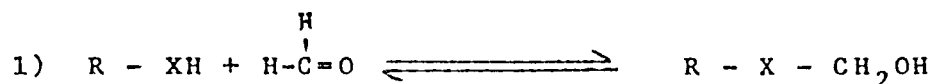
Este fenómeno se debe principalmente, a que durante el proceso del ensilaje ocurren dos grandes cambios:

- a) la transformación de carbohidratos solubles en agua a ácidos orgánicos de cadena corta y,
- b) la debradación de la proteína de la planta a compuestos nitrogenados no proteícos (10 y 45).

En los últimos años se han utilizado compuestos orgánicos - para el tratamiento de los productos y subproductos agropecuarios, con la finalidad de alterar la solubilidad y por lo tanto la digestibilidad del producto tratado, provocando de esta manera la protección de las proteínas del forraje, para que ésta no sea degradada ni en el silo, ni en el rumen (9 y 43).

Entre los compuestos orgánicos más utilizados últimamente, se pueden mencionar al ácido fórmico, formaldehído, ácido propiónico y taninos (17, 26 y 31). Por ser el formaldehído el compuesto más económico y con una mejor disponibilidad resulta interesante enfocar este estudio hacia los cambios que se suceden en el ensilado de un forraje, tratado con dicho compuesto químico.

Las reacciones químicas entre el formaldehído y las proteínas, consisten en la formación de un compuesto metilol\*:



Donde R-XH = proteína; y XH, podría ser un grupo amino terminal (NH<sub>2</sub>); otros grupos funcionales que pueden reaccionar son los siguientes:

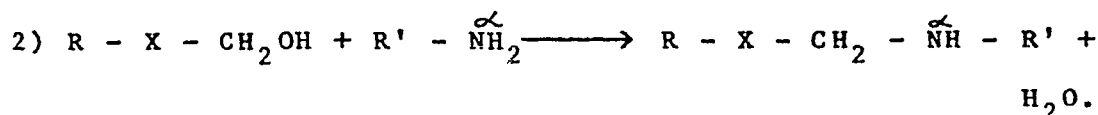
---

\* El formaldehído se reduce a un grupo metil alcohólico llamado metilol.

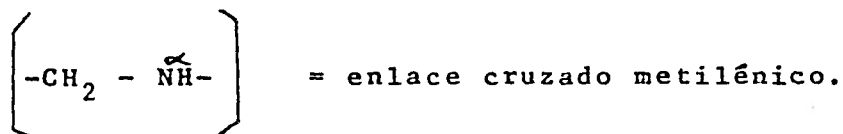
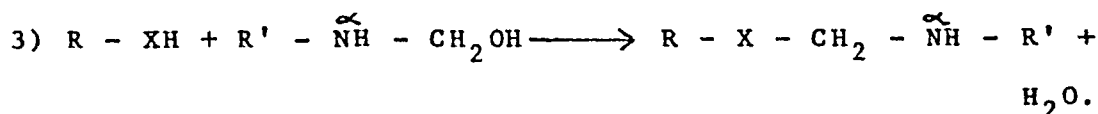


- a) E-amino de lisina
- b) Amida primario de asparragina y glutamina.
- c) Guanidil de arginina
- d) Hidróxi de treonina y serina
- e) Sulfhidril de cisteína
- f) Fenol de tirosina
- g) Fenil de fenil-alanina
- h) Indol de triptofano
- i) Imidazol de histidina

Estas reacciones se llevan a cabo en forma lenta, resultan do la formación de enlaces cruzados estables de grupos metileno, entre las cadenas de las proteínas, produciendo reacciones de - condensación.



Donde X = CH<sub>2</sub>; R' -  $\overset{\alpha}{NH}_2$  = grupo amino de una proteína.



Este tipo de reacciones se llevan a cabo en diferentes con- diciones de pH y temperatura. A pH neutro y 20°C se llevan a ca bo las reacciones de los grupos amino-terminales, los grupos pri marios de asparragina y glutamina y los grupo E-amino de lisina y guanidil de arginina (9).

Quimicamente los 3 tipos de reacciones se pueden describir como reacciones de condensación, en las cuales se necesitan gru- pos que tengan una alta densidad electrónica, con lo cual se van a efectuar reacciones de tipo nucleofílico, teniendo facilidad - en la reacción sobre grupos ceto y alcohol.

Al encontrarse modificado el sustrato sobre el cual las enzimas proteolíticas pueden actuar, debido a la acción del formaldehído, y en virtud de que estas son específicas, pueden encontrarse bloqueado su sitio de acción, y por lo tanto, no será posible que se lleve a cabo la proteólisis ni en el ensilado, ni en el rumen; por lo que aumenta la absorción de amino ácidos a nivel del intestino delgado (duodeno) (8, 10, 18, 21).

Al tratar los forrajes con formaldehído al momento de ensilar, se ha observado que los animales manifiestan un incremento en el consumo voluntario del alimento, el cual está relacionado con la proporción de nitrógeno presente en forma de amoníaco y de ácidos libres en el ensilado (6, 7, 36 y 45).

En la literatura se reportan algunos cambios en cuanto a la composición química del ensilado cuando es tratado con formaldehído. Wing (46) encontró cambios en el patrón de fermentación dentro del ensilado y disminución en la cantidad de ácido láctico producido. Barry (6) observó que el pH se eleva, causando fermentaciones secundarias como las que se desarrollan cuando el ensilado es expuesto al aire; también notó una disminución en la digestibilidad de la lignino-celulosa y hemicelulosa. Igualmente demostró que el tratamiento con formaldehído, reduce la digestibilidad de la proteína en un 10% y de la materia seca; en cuanto a energía digestible, la disminución fué de 3-4%. Sin embargo, cuando lo consumieron los animales, se elevó tres veces la ganancia de peso diaria.

En México durante el año de 1970 se cosechó una superficie de 186,013.5 Has. de alfalfa con un rendimiento de 5,041,502 Tons. (16). Anualmente se fué incrementando la superficie de alfalfa cosechada, en 1978 hubo un descenso, por lo que aumentó el precio en el mercado; sin embargo la producción fué aumentando, ya que se observa un mayor rendimiento por hectárea anual (ver cuadro No. 1).

En base a lo anteriormente expuesto y como objetivo general (mediato), se plantea la utilización del formaldehído para la conservación de la alfalfa mediante ensilaje, como una alternativa

va para la alimentación de los animales rumiantes, sobre todo en aquellas épocas del año en que su disponibilidad es baja, y que hay gran escasez de otros alimentos.

El objetivo específico (inmediato) de este trabajo, será investigar el efecto del formaldehído a diferentes concentraciones, sobre la composición química de la alfalfa ensilada; y observar si existe protección sobre las proteínas.

C U A D R O 1 .

CENSO SOBRE PRODUCCION DE ALFALFA

Año	Producción de Alfalfa en Ton.	Superficie cosechada de Alfalfa (Has.)	Rendimiento por Ha. de Alfalfa (Kg)	Precios en los medios rurales pesos/Ton.
1971	9,689,000	164,000	59,138	140
1972	10,434,000	168,000	62,143	130
1973	11,158,000	181,000	61,761	140
1974	13,278,000	201,000	66,035	170
1975	14,260,000	204,000	70,040	220
1976	14,493,000	384,000	37,721	210
1977	14,493,000	384,000	37,721	264
1978	15,631,000	200,000	78,155	470

Boletín mensual de información económica. Secretaría de Programación y Presupuesto. (16)

## MATERIAL Y METODOS:

La alfalfa (*Medicago sativa*), que se utilizó en éste estudio, se obtuvo de la región de Texontepec de Aldama, Distrito de Tula, Edo. de Hidalgo, y los análisis correspondientes se llevaron a cabo en la División de Nutrición del Instituto Nacional de la Nutrición.

La alfalfa fué ensilada en frascos con capacidad de 750 ml.; se hicieron 5 lotes para cada uno de los distintos tratamientos (0, 5, 10, 15 y 20% de formaldehído). El formol se adicionó en proporciones de 5 litros por tonelada. Se dejó un tiempo mínimo de 30 días, después de los cuales se procedió a hacer los siguientes análisis:

- 1) Químico Proximal. Método del AOAC, 1970 (5).
- 2) Determinación de Fibra Cruda. Método de Van Soest (39, 40, 41).
- 3) Determinación de Amoníaco. Método modificado de Charney y Marbarck (17, 33).
- 4) Determinación de pH; Usando el potenciómetro marca Beckman.
- 5) Determinación de Acidos Grasos Volátiles (acético, propiónico y butírico) y ácido láctico por Cromatografía de Gases. Cromatógrafo de gases marca Varian Aerograph (23 y 27).

### I. Principios del Método de Van Soest:

#### a) Determinación de fibra por el método Acido Detergente:

Este permite una rápida determinación de la lignino-celulosa en los alimentos. Sin embargo, en esta fracción también aparece el silicio. La diferencia entre el valor de las paredes celulares y la fibra ácido detergente, da una estimación del valor de la hemicelulosa, ya que esta diferencia también incluye una fracción de proteína adherida a las paredes celulares. El Método de Fibra por Acido Detergente también se emplea como paso preliminar en la determinación de la lignina (39).

b) Determinación de Paredes Celulares (Fibra Neutro Detergente) y contenido celular: El procedimiento neutro detergente para determinar los componentes de la pared celular es un método rápido para fibra total en alimentos fibrosos vegetales. Aparentemente divide la materia seca al punto de que separa los constituyentes nutricionales solubles y accesibles, de aquellas que no son totalmente aprovechables o dependen de la fermentación bacteriana. Este método no puede aplicarse a los alimentos que tienen alto contenido de proteína y bajo en fibra (40).

c) Determinación de Lignina, Celulosa y Sílicio (cenizas insolubles) por Permanganato: Un método indirecto para la determinación de la lignina por medio del permanganato, permite la determinación de la celulosa y cenizas insolubles también. La determinación de cenizas insolubles es una manera de estimar el contenido de silicio que en muchos forrajes, es factor sobresaliente en la reducción de la digestibilidad. El Método de Lignina por Permanganato presenta una alternativa al Método del Acido Sulfúrico al 72%. Considerando que cada uno tiene sus propias ventajas, la elección del método depende de las muestras que se van a analizar y el uso que se les destine a los resultados.

## II. Determinación de Amoníaco. Descripción del método:

Se toman 10 gr. del ensilado, se le agregan 5 ml. de KCl 2 molar, se agita durante 30 min. y se filtra con papel filtro del No. 1. Del filtrado se toma 1 ml. para hacerlo reaccionar con el hidróxido de sodio 5 N.

En una caja Conway se ponen en el pozo central, 0.5 ml. de  $H_2SO_4$  .28 N; en el pozo exterior, se colocan 1 ml. de la muestra problema, más 1 ml. de NaOH 5N, se tapa y se deja reposar durante 8 horas. Posteriormente se le añaden 5 ml. de agua destilada al ácido sulfúrico.

Se toma 1 ml. de la muestra del pozo central y se hace reaccionar con el fenol (1 ml.) e hipoclorito (1 ml.), se agita; una vez que toma la coloración azul se le añaden 3 ml. de agua desti

lada y se procede a leer a 540 nm, en un espectrofotómetro.

Fundamento:

Al hacer reaccionar el KCl con el ensilado, si éste tiene  $\text{NH}_3$ , se formará  $\text{NH}_4\text{Cl}$ ; este al reaccionar con el NaOH, nos va a dar hidróxido de amonio ( $\text{NH}_4\text{OH}$ ), más cloruro de sodio ( $\text{NaCl}$ ); al reaccionar el  $\text{NH}_4\text{OH}$  con el ácido sulfúrico, nos dará sulfato de amonio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ).

Posteriormente los iones de amonio reaccionan con el fenol e hipoclorito y forman un color azul cuya intensidad es proporcional a la concentración de amonio (Reacción de Berthelot) (17).

III. Determinación de Acidos Grasos Volátiles:

Condiciones del Aparato Varian Aerograph Modelo 2100.

- 1) Velocidad de flujo de los gases: a) Nitrógeno (gas acarreador): 18 seg/10 ml.  
b) Hidrógeno: 21 seg/10 ml.  
c) Aire: 3 seg/10 ml.

2) Condiciones para trabajar Acidos Grasos Volátiles\*:

Temperatura del Inyector 122°C  
Temperatura del Detector 118°C  
Temperatura de la Columna 60°C - 130°C (programable)  
Aumento de la Temperatura programable: 10°C/ min.  
Atenuación: 16 mV  
Rango:  $10^{-10}$   
Velocidad de la carta: 0.25 pulgadas/min.

3) Condiciones para trabajar Acido Láctico\*:

Temperatura del Inyector: 115°C  
Temperatura del Detector: 115°C  
Temperatura de la columna: 90°C - 130°C (programable)  
Aumento de la temperatura programable: 8°C/ min.  
Atenuación: 4 mV  
Rango:  $10^{-10}$

---

\* Estas condiciones deben encontrarse para cada muestra.

Velocidad de la carta: 0.25 pulgadas/ min.

Preparación de la Columna:

Se utilizó una columna Cromosorb "W" y Tween 80; la cual debe tener un 20% de Tween 80, 2% de ácido fosfórico concentrado y 78% de Cromosorb "W".

- 1.- Pesar el Tween 80 en un vaso de vidrio limpio.
- 2.- Agregar el ácido fosfórico concentrado.
- 3.- Disolver estos con 250 ml. de metanol (utilizar hasta 300 ml.)
- 4.- Agregar lentamente pero en forma continua el Cromosorb "W" - con agitación. Si es necesario se puede agregar más metanol.
- 5.- Pasar la mezcla a un matraz redondo (1 litro) para evaporar - todo el metanol (pasar todo el contenido del vaso al matraz; se puede lavar el vaso con metanol).
- 6.- Colocar el matraz en un rotavapor. La temperatura de evaporación es de 60°C. Se debe evaporar totalmente el metanol. Una vez evaporado, el empaque queda en condiciones para empacar la columna.

NOTA: El Cromosorb "W" debe quedar como viene en el envase.

Empacado de la columna:

- 1.- La columna debe lavarse con 3 litros de HCl al 5% y 100 ml. de acetona antes de empacar el soporte.
- 2.- Tapar con papel parafilm uno de los extremos de la columna.
- 3.- La columna se va a ir llenando con el soporte a través de un embudo.
- 4.- Al mismo tiempo de ir vaciando el empaque se debe de ir vibrando la columna, para evitar que queden espacios.

NOTA: Todo el material que se va a utilizar para la preparación del soporte de la columna, debe lavarse con HCl concentrado y acetona.

- 5.- Una vez llena la columna, vibrar 10 min. y tapar los extremos con fibra de vidrio.



La columna al momento de la vibración no debe pegar en el suelo; y debe estar en posición vertical.

Preparación del Standard para Acidos Grasos Volátiles:

Se toma 1 gr. de metanol, 1 gr. de ácido acético, 1 gr. de ácido propiónico y 1 gr. de ácido butírico, se afora a 100 ml. con agua destilada.

Preparación del Standard para Acido Láctico:

Se toman 1.5 gr. de ácido láctico y se aforan a 100 ml. con agua destilada. Tomar 1 ml. del Standard y tratarlo como a la muestra.

Preparación de la muestra para Acidos Grasos Volátiles:

Se toman 3 gr. de ensilado de alfalfa, se le agregan 8 ml. de agua destilada más 2 ml. de ácido fosfórico-fórmico (25%) en una proporción de 3:1 (para detener la fermentación), se agita durante media hora, se centrifuga a 3,000 r.p.m. durante 30 minutos, se filtra con papel filtro del No. 42.

Preparación de la muestra para Acido Láctico:

Se toma 1 ml. de la muestra para Acidos Grasos Volátiles (filtrado), se le añaden 3 ml. de metanol y 0.6 ml. de ácido sulfúrico al 50%; se agita, se pone a Baño María a una temperatura de 55°C durante una hora. Se enfría en hielo, se le agrega 1 ml. de H<sub>2</sub>O des-ionizada, se le agrega 1 ml. de cloroformo, se agita durante un minuto y se inyecta la fase orgánica (3 ml.).

CALCULOS:

1.- Para realizar los calculos se utilizó un integrador Varian - modelo CDS 111; y se utilizó la cantidad de área.

2.- 
$$\frac{\text{gr. de Standard}}{\text{No. de cuentas de área.}} = K$$

3.-  $K \times \text{No. de cuenta del \acute{a}rea problema} = \text{gr. de \acute{a}cido en la muestra.}$

4.- Llevar a 100% de Materia Seca.

Los an\u00e1lisis de pH, qu\u00edmico proximal y fibra cruda, se hicieron por duplicado, mientras que los de amon\u00edaco fueron por cuadr\u00fablico y los de \u00e1cidos grasos vol\u00e1tiles por triplicado para cada muestra.

ANALISIS ESTADISTICO: Los datos fueron analizados estad\u00edsticamente por el an\u00e1lisis de varianza y las diferencias entre tratamientos, fueron analizadas por el m\u00e9todo de Duncan (15, 20).

## RESULTADOS Y DISCUSION:

El análisis químico de la alfalfa fresca antes de ensilar, se puede observar en el cuadro No. 2.

Con respecto al pH, Barry (5 y 6), Valentin (32) y Brown (13), encontraron valores mayores de 3.5 al igual que lo obtenido en este trabajo (5.74 -6.23); lo cual no significa que el producto final se considere de mala calidad, ya que el pH elevado se debe a la presencia del formol (5); éste actúa inhibiendo la fermentación bacteriana, aunque no previene el crecimiento de moho y una descomposición parcial del forraje (3 y 13); además, de que en la alfalfa no existe una fuente elevada de carbohidratos para ser fermentados.

Se obtuvieron diferencias significativas ( $P < .01$ ) para los tratamientos de 15 y 20%; sin embargo entre el control, 5% y 10%, la diferencia fué significativa con una probabilidad de  $P < .05$ ; entre el control y el tratamiento de 5% no hubo diferencia significativa, como se puede observar en el cuadro No. 3; lo cual es indicativa de que a este nivel de formaldehído, no hay inhibición de la fermentación bacteriana.

Con respecto al amoníaco se observa (cuadro No. 3), que disminuyó significativamente ( $P < .01$ ) en los grupos tratados con respecto al control (2.67% - 1.48%), lo cual coincide con los resultados obtenidos por Valentin (37). Sin embargo, entre los tratamientos del 5 y 20% no hubo diferencia significativa; pero entre los del 10 y 15% sí la hubo ( $P < .05$ ).

Estos resultados son de gran importancia, ya que indican que el formaldehído protege a las proteínas en el ensilado de la degradación bacteriana, debido a que no fué degradada a amoníaco, y por lo tanto puede haber una mayor cantidad de proteína total disponible (de la dieta más la microbiana) para ser absorbida a nivel del intestino delgado (7).

CUADRO No. 2

COMPOSICION QUIMICA DE LA ALFALFA FRESCA (%)

Materia Seca	18.18
Proteína Cruda (N x 6.25)	29.26
Extracto Etéreo	2.46
Cenizas	12.17
Celulosa	22.61
Hemicelulosa	24.79
Lignina	2.78
Paredes Celulares	32.21

C U A D R O N o . 3

EFFECTO DEL FORMALDEHIDO SOBRE EL pH Y LA  
PRODUCCION DE AMONIACO EN EL ENSILADO DE ALFALFA.

	NIVELES DE FORMALDEHIDO:				
	0%	5%	10%	15%	20%
	n = 5	n = 4	n = 4	n = 5	n = 4
pH	5.74 <sup>Aa</sup>	5.73 <sup>Aab</sup>	5.79 <sup>Ac</sup>	6.00 <sup>Bd</sup>	6.23 <sup>Ce</sup>
	<u>+0.10</u>	<u>+0.08</u>	<u>+0.22</u>	<u>+0.23</u>	<u>+0.016</u>
Amoníaco gr/100 gr. de mues <u>tra</u>	2.67 <sup>Aa</sup>	1.50 <sup>Bb</sup>	1.64 <sup>Cc</sup>	1.72 <sup>Cd</sup>	1.48 <sup>Bb</sup>
	<u>+0.15</u>	<u>+0.05</u>	<u>+0.16</u>	<u>+0.36</u>	<u>+0.43</u>

Los promedios con letras mayúsculas diferentes tienen diferencias significativas para (P <.01) y minúsculas para (P <.05).

n = número de muestras analizadas.

Como se puede observar en el cuadro No. 4, con respecto al análisis químico proximal no hay cambios significativos. Si -  
bién, se mencionó que había un cambio significativo en cuanto a la degradación de la proteína del control con los grupos tratados, aquí no se refleja, ya que el análisis de proteína es determinado por la cantidad de nitrógeno multiplicado por el factor de 6.25; el nitrógeno determinado como se sabe, puede ser de origen proteico o no proteico. Estos datos coinciden con los reportados por Hinks et. al (24 y 25), que aunque no trabajaron con alfalfa, tampoco encontraron diferencias significativas.

En cuanto a la fibra cruda hubo un incremento significativo de la lignina en los grupos del 20% y 10%; sin embargo, esto podría deberse, a que las bacterias durante el proceso de ensilado utilizaron la celulosa y la hemicelulosa como fuente de carbohidratos para el proceso de fermentación, y al verse disminuidas, como reflejo, aumenta la lignina. Otra razón podría ser, que algunos compuestos fueron solubles con la ebullición en las soluciones ácido detergente y neutro detergente, elevando el porcentaje de lignina en la muestra (1) (Cuadro No. 5).

En los productos finales de la fermentación se observa que el ácido acético fué el predominante en todos los ensilados, - aunque fué menor en los ensilados tratados (ver cuadro No. 6). El ácido propiónico disminuyó en los ensilados con formol de 0.331 a 0.170 gr%.

Se puede observar que en los tratamientos del 15 y 20% de formol, aumenta considerablemente el ácido butírico; mientras que en los tratamientos de 5 y 10%, disminuye con respecto al control.

El valor más alto de ácido láctico se encuentra en el tratamiento del 5%; conforme aumentaron los niveles de formaldehído, fué disminuyendo el contenido de ácido láctico. (Cuadro No. 6). Esto es debido a que el formol inhibe la fermentación bacteriana y conforme aumenta la cantidad de formaldehído aumenta el pH y por lo tanto la inhibición (43).

C U A D R O N o . 4

EFFECTO DEL FORMALDEHIDO SOBRE LA  
COMPOSICION QUIMICA DEL ENSILADO DE ALFALFA.

NIVELES DE FORMALDEHIDO:

	0 % n = 5	5 % n = 3	10 % n = 4	15 % n = 5	20% n = 4
% Materia Seca	13.70 $\pm$ 0.57	13.99 $\pm$ 0.39	13.41 $\pm$ 0.39	14.05 $\pm$ 0.32	14.51 $\pm$ 0.85
% Proteína Cruda (N x 6.25)	26.40 $\pm$ 0.59	26.39 $\pm$ 1.08	24.55 $\pm$ 1.25	25.45 $\pm$ 2.09	23.61 $\pm$ 1.84
% Extracto Etereo	7.92 $\pm$ 0.68	7.29 $\pm$ 0.43	7.95 $\pm$ 1.19	8.07 $\pm$ 0.99	7.97 $\pm$ 0.76
% Cenizas	16.80 $\pm$ 0.61	17.49 $\pm$ 0.61	15.80 $\pm$ 1.06	16.09 $\pm$ 0.52	16.69 $\pm$ 0.39

No hubo diferencia significativa para (P < .01) ni para (P < .05)

n = número de muestras analizadas.

C U A D R O N o . 5

DETERMINACION DE LOS COMPONENTES DE LA FIBRA  
CRUDA DE LA ALFALFA ENSILADA CON FORMALDEHIDO

NIVELES DE FORMALDEHIDO:

	0 % n = 5	5 % n = 3	10 % n = 4	15 % n = 5	20% n = 3
% Celulosa	31.34 $\pm$ 2.59	25.54 $\pm$ 0.68	27.46 $\pm$ 0.40	26.94 $\pm$ 0.84	26.31 $\pm$ 2.18
% Hemicelulosa	38.41 $\pm$ 3.31	36.47 $\pm$ 0.28	37.47 $\pm$ 0.65	36.28 $\pm$ 1.07	40.21 $\pm$ 3.93
% Lignina	7.28 $\pm$ 1.26 <sup>Aa</sup>	10.38 $\pm$ 0.66 <sup>Aa</sup>	11.52 $\pm$ 1.05 <sup>Ab</sup>	10.30 $\pm$ 1.80 <sup>Aa</sup>	15.35 $\pm$ 1.68 <sup>Bb</sup>
% Paredes Celulares	40.73 $\pm$ 2.02	35.62 $\pm$ 1.36	37.92 $\pm$ 2.46	37.00 $\pm$ 1.45	39.97 $\pm$ 1.34

Los promedios con letras mayúsculas diferentes tienen diferencia significativa para (P < .01) y minúsculas para (P < .05).

n = número de muestras analizadas.



C U A D R O N o . 6

EFFECTO DEL FORMALDEHIDO EN LA PRODUCCION DE ALCOHOL, ACIDOS GRASOS VOLATILES Y ACIDO LACTICO EN LA ALFALFA ENSILADA.

NIVELES DE FORMALDEHIDO:

	0 % n = 5	5 % n = 3	10% n = 4	15% n = 5	20% n = 3
Ac. Acético gr/%	1.67 ±0.01	1.20 ±0.03	1.14 ±0.16	1.25 ±0.20	1.13 ±0.06
Ac. Propiónico gr/%	0.33 ±0.03 <sup>Aa</sup>	0.19 ±0.06 <sup>Bbc</sup>	0.17 ±0.02 <sup>Bb</sup>	0.24 ±0.06 <sup>ABbc</sup>	0.24 ±0.08 <sup>ABc</sup>
Ac. Butírico gr/%	0.27 ±0.04 <sup>A</sup>	0.207 ±0.10 <sup>B</sup>	0.128 ±0.02 <sup>C</sup>	0.416 ±0.09 <sup>D</sup>	0.64 ±0.10 <sup>E</sup>
Ac. Láctico gr/%	0.293 ±0.07 <sup>Aab</sup>	0.359 ±0.05 <sup>Ab</sup>	0.321 ±0.04 <sup>Aab</sup>	0.232 ± 0.08 <sup>ABa</sup>	0.13 ±0.05 <sup>Bc</sup>
Acidos Totales gr/%	2.561	1.959	1.759	2.135	2.139
Etanol gr / %	0.10 ±0.06 <sup>ABab</sup>	0.038 ±0.02 <sup>ABa</sup>	0.010 ±0.01 <sup>Aa</sup>	0.207 ±0.05 <sup>Bb</sup>	0.45 ±0.06 <sup>Cc</sup>

Los promedios con letras mayúsculas diferentes tienen diferencia significativa para (P < .01) y minúsculas para (P < .05).

n = número de muestras analizadas.

Se trabajó con errores standard promedio para:

ácido acético	=	3.14%
ácido propiónico	=	2.68%
ácido butírico	=	2.54%
ácido láctico	=	5.20%
alcohol	=	3.90%

En el cuadro No. 7, se puede observar el porcentaje correspondiente de cada uno de los ácidos en el ensilado.

C U A D R O N o . 7

PORCENTAJE DE ACIDOS PRODUCIDOS EN EL  
ENSILADO DE ALFALFA TRATADA CON FORMALDEHIDO

NIVELES DE FORMALDEHIDO:

	0%	5%	10%	15%	20%
Acido Acético	65.21	61.26	64.81	58.55	52.83
Acido Propiónico	12.92	9.85	9.66	11.10	11.50
Acido Butírico	10.43	10.56	7.28	19.48	29.73
Acido Láctico	11.44	18.33	18.25	10.87	5.94

CONCLUSION:

Basándose en los resultados obtenidos en el laboratorio, se considera el nivel de 5% de formaldehído como el más adecuado para la protección de las proteínas en el ensilado, en virtud de que éste posee un pH menor en relación a los otros grupos tratados ( $P < .01$ ) y ( $P < .05$ ), ya que la cantidad de formaldehído no fué suficiente para producir la inhibición de la fermentación bacteriana. Al mismo tiempo, el porcentaje de proteína cruda es elevado y su contenido en amoníaco es menor con respecto al control ( $P < .01$ ), lo cual indica, que con este nivel se obtiene una buena protección de las proteínas para que no sean degradadas a amoníaco. Sin embargo, para poder observar qué tanto es protegida y absorbida la proteína en el animal, se sugiere realizar estudios de digestibilidad in vivo.

BIBLIOGRAFIA:

- 1.- Alcántara, S. E.: Efecto del Tratamiento Alcalino Sobre la Composición y Digestibilidad del Bagazo y Médula de Caña de Azúcar. Tesis., Facultad de Medicina Veterinaria y Zootécnica., Universidad Nacional Autónoma de México. México, D. F. 1979.
- 2.- Amos, H. E.: Treatment of Protein to Improve Utilization by Ruminants. Proceedings 1980. Georgia Nutrition Conference for the Feed Industry. Atlanta Georgia., University of Georgia. February 13-15, 1980.
- 3.- Amos, H. E., Evans J. J., and Burdick D.: Effect of HCOH on Forage Protein Degradation. J. Anim. Sci., 42: 276 - (Abst) 1976.
- 4.- Amos, H. E., Evans J. J., and Burdick D.: Influence of Formaldehyde Treatment and Energy Additions on Microbial Metabolism of Coastal Bermuda Grass Protein in Wethers. J. Anim. Sci., 48: 3, 666-672 (1979).
- 5.- Association of Official Agricultural Chemists (AOAC). Official Method of Analysis. 11th Edition, Washington, D. C. 1970.
- 6.- Barry T. N.: Effect of Treatment with Formaldehyde, Formic Acid, and Formaldehyde-Acid Mixtures on the Chemical Composition and Nutritive Value of Silage. 1. Silage Made from Immature Pasture Compared with Hay. New Zeland J. Agric. Res., 18: 285-294 (1975).
- 7.- Barry T. N.: Effect of Treatment with Formaldehyde, Formic Acid and Formaldehyde Acid Mixtures on the Chemical Composition and Nutritive Value of Silage. 11. Mature Herbage. New Zeland J. Agric. Res., 19: 185-191 (1976).
- 8.- Barry T. N.: Evaluation of Formaldehyde-Treated Lucerne Hay for Protecting Protein from Ruminal Degradation, and for Increasing Nitrogen Retention, Wool Growth, Live-Weight Gain and Voluntary Intake when Fed to Young Sheep. J. Agric. Sci. Camb., 86: 379-392 (1976).
- 9.- Barry T. N.: The Effectiveness of Formaldehyde treatment in Protecting Dietary Protein from Rumen Microbial Degradation. Proc. Nutr. Soc., 35: 221-229 (1976).
- 10.- Barry T. N., Cook J. E., and Wilkins R. J.: The Influence of Formic Acid and Formaldehyde Additives and Type of Harvesting Machine on the Utilization of Nitrogen in Lucerne Silage. 1. The Voluntary Intake and Nitrogen Retention of Young Sheep Consuming the Silage With and Without Intraperitoneal Supplements of DL-Methionine. J. Agric. Sci. Camb., 91:701-715 (1978).

- 11.- Barry, T. N., Mundell, D. C., Wilkins, R. J. and Beever, D. E.: The Influence of Formic Acid and Formaldehyde Additives and Type of Harvesting Machine on the Utilization of Nitrogen in Lucerne Silage. 2. Changes in Amino Acid Composition During Ensiling and Their Influence on Nutritive Value. J. Agric. Sci. Camb., 91: 717-725 (1978).
- 12.- Boletín Mensual de Información Económica. Secretaría de Programación y Presupuesto. Coordinación Gra. del Sistema Nacional de Información. Vol. III No. 6 México, Junio, 1979.
- 13.- Bremner, J. M. and Keeney, D. R.: Steam Distillation on Method for Determination of Ammonium, Nitrate and Nitrite. Anal. Chem. Acta, 32: 485-495 (1965).
- 14.- Brown, D. C. and Valentine, S. C.: Formaldehyde As a Silage Additive. I. The Chemical Composition and Nutritive Value of Frozen Lucerne, Lucerne Silage, and Formaldehyde Treated Lucerne Silage. Aust. J. Agric. Res., 23: 1093 - 1100 (1972).
- 15.- Bruning James, L., Kintz, B. L.: Computational Handbook of Statistics. 2nd. Edition. Scott, Foresman and Co.
- 16.- V Censo Agrícola Ganadero y Ejidal (1970).
- 17.- Charney, A. L. Marbark, E. P.: Modified Reagents for Determination of Urea and Ammonia. Clin. Chem., 8: 2, 130-132 (1962).
- 18.- Clark, J. H., Crom, W. J. and Harshbarger, K. E.: Feeding Value of Dry, Ensiled and Acid Treated High Moisture Corn Feed Whole or Rolled to Lactating Cows. J. Dairy Sci., 58: 6, 907-916 (1975).
- 19.- Crawshaw, R.: Aerobic Deterioration of Silage In and Out of the Silo. ADAS Quarterly Review 34, 151-178 (1979).
- 20.- Daniel, W. W.: Bioestadística. Bases para el Análisis de las Ciencias de la Salud. Ed. Limusa, México, 1979.
- 21.- Demarquilly, C. and Andreu, J.: Nutritive Value and Utilization by Cattle of Green, Ensiled and Dehydrated Whole Maize Plant. Proc. 24th. Annu. Meeting E.A.A.P. Vienna Austria. Sept. (1973).
- 22.- Ekern, A. and MacLeod, G.: The Role of Conserved Forages in the Nutrition of the Dairy Cow. Livestock Production Sci., 5: 45-56 (1978).
- 23.- Erwin, E. S., Marco, G. J. and Emery, E. M.: Volatile Fatty Acid Analysis of Blood and Rumen Fluid by Gas Chromatography. J. Dairy Sci., 44: 1768-1771 (1961).
- 24.- Flores Menéndez, J. A.: Bromatología Animal. Editorial - Limusa. México, 1975.

- 25.- Gaytán, T.: Comunicación Personal. PRODEL. Depto. de Nutrición Animal,
- 26.- Goering, H, K. and Gordon, C. H.: Chemical Acids to Preservation of High Moisture Feeds. J. Dairy Sci., 56: 1347 - (1973).
- 27.- Gómez, J.: Comunicación Personal. Universidad Autónoma - Metropolitana, Unidad Iztapalapa. Depto. de Biotecnología.
- 28.- Hinks, C. E., Edwards, I. E. and Henderson, A. R.: Beef - Production from Formic Acid Treated and Wilted Silages. Anim. Prod., 22: 217-224 (1976).
- 29.- Hinks, C. E. and Henderson A. R.: Beef Production from - Additive Treated Silage. Anim. Prod., 25: 53-60 (1977).
- 30.- Johnson, R. R.: Influence of Carbohydrate Solubility on - Non-Protein Nitrogen Utilization in the Ruminant. J. Anim. Sci., 43: 1, 184 (1976).
- 31.- Kelly, N. C. and Thomas, P. C.: The Nutritive Value of Silages. Energy Metabolism in Sheep Receiving Diets of Grass Silage or Grass Silage and Barley. Br. J. Nutr., 40: 205-219 (1978).
- 32.- Knapp, W. R., Holt, D. A. and Lechtenberg, V. L.: Propionic Acid As a Hay Preservative. Agron. J., 68: 120 (1976).
- 33.- Kromann, R. P., Meyer, J. H. and Stielan, W. J.: Steam Distillation of Volatile Fatty Acids in Rumen Ingest. J. Dairy Sci., 50: 1, 73-76 (1967).
- 34.- Minor, S., MacLeod, N. A., Preston, T. R. and Leng, R. A.: Parámetros de Tracto Digestivo en Toros Alimentados con Dietas de Caña de Azúcar/Urea y Diferentes Suplementos Proteicos. Prod. Anim. Trop. 2: 166-177 (1977).
- 35.- Reynolds, P. J., Dinius, D. A., Lyon, C. K. and Kohler, G. O.: Performance of Lambs Fed Rations Containing Formaldehyde-Treated Dehydrated Alfalfa Meal. J. Anim. Sci., 46: 732-739 (1978).
- 36.- Thomas, P. C., Kelly, N. C. and Chamberlain, D. G.: Silage. Proc. Nutr. Soc., 39: 3, 257-664 (1980).
- 37.- 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 Silage. Aust. J. Agric. Res., 24: 939-946 (1973).
- 38.- Valentine, S. C. and Radcliffe, J. C.: The Nutritive Value for Dairy Cows of Silage Made From Formaldehyde Treated Herbage. Aust. J. Agric. Res., 26: 769-776 (1975).

- 39.- Van Soest, P. J. and Robertson, J. B.: System of Analysis for Evaluating Fibrous Feeds. Standarization of Analytical Methodology for Feeds. Proceedings of a Workshop Held in - Ottawa, Canada, 12-14 March, 49-60 (1979).
- 40.- Van Soest, P. J.: Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. II. A Rapid Method for the Determination of - Fiber and Lignin. J. Assoc. Off. Agric. Chem., 46: 829-835 (1963).
- 41.- Van Soest, P. J. and Wine, R. H.: Use of Detergents in the Analysis of Fibrous Feeds. IV. The Determination of Plant Cell-Wall Constituents. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 50: 50 (1967).
- 42.- Van Soest, P. J. and Wine, R. H.: Determination of Lignin and Cellulose in Acid Detergent Fiber with Permanganate. J. Assoc. Off. Anal. Chem., 51: 780 (1968).
- 43.- Waldo, D. R., Key, J. E. Jr., and Gordon, C. H.: Formaldehide and Formic Acid As a Silage Additive. J. Dairy Sci., 56: 2, 229-232 (1973).
- 44.- Waldo, D. R.: Potential of Chemical Preservation and Improvement of Forages. J. Dairy Sci.- 60: 2, 306-326 (1977).
- 45.- Wilkinson, J. M., Huber, J. T. and Henderson, H. E.: Acidity and Proteolysis As Factors Affecting the Nutritive Value of Corn Silage. J. Anim. Sci., 42: 1, 208-218 (1976).
- 46.- Wing, P. D., Goodrigh, R. D., Maiske, J. C. and Linn, J. G.: Effect of Chemical Additives on Alfalfa Haylage. J. Anim. Sci., 39: 1004 (Abst) (1974).
- 47.- Wing, P. D., Goodrigh, R. D., Linn, J. G., and Meiske, J. C.: Effects of Chemical Additives on the Preservation and Digestibility of Alfalfa Haylage. J. Anim. Sci., 42: 2, 469-475 (1976).
- 48.- Yu Yu.: Estimated Nutritive Value of Formaldehyde or Heat Treated Alfalfa Leaves for Ruminants. J. Anim. Sci., 46: 1, 313-319 (1978).