

FORMALDEHIDO Y CALOR COMO INHIBIDORES DE LA PROTEOLISIS EN ENSILADOS

C. CARPINTERO y M. R. PASCUAL

Estación Agrícola Experimental
Apartado 788 - 24080 LEON

RESUMEN

Alfalfa y raygrass fueron ensilados separadamente sin conservador, con aplicación de calor antes de ensilar (1 hora a 60° C) o utilizando como aditivo formalina (5l/t en la leguminosa y 3l/t para la gramínea). Ambos tratamientos fueron efectivos con las dos plantas consideradas. El calor protegió más eficazmente la proteína de la alfalfa que lo hizo el formaldehído a la dosis utilizada (36.3 g de formaldehído puro/kg de proteína bruta del forraje). Los dos tratamientos fueron igualmente eficaces cuando la gramínea fue ensilada y la dosis de formaldehído aplicado por kg de proteína bruta resultó ser el doble de la utilizada con la alfalfa. El calor, en ambas especies, produjo ensilados con pH inferior y menor contenido en N en forma soluble que en aquellos en los que el formaldehído fue utilizado como aditivo.

Palabras clave: Ensilado, calor, formaldehído, proteólisis.

Introducción

La efectividad del formaldehído aplicado como aditivo al ensilar ha sido considerada bajo dos aspectos, como bacteriostático y posteriormente como protector de la proteína de las plantas de su degradación en el proceso fermentativo (Siddon et al. 1984) El formaldehído debe su efecto sobre las proteínas a que reacciona químicamente con éstas formando compuestos de condensación con enlaces estables muy resistentes. El calor reduce la proteólisis insolubilizando al nitrógeno posiblemente desnaturalizando y fijando la proteína. Este tratamiento con calor ha sido aplicado directamente sobre el forraje cortado al ensilar (De la Concha y Carpintero 1983, Charmley, 1990) o en forma de

vapor sobre la planta antes de cortarla (Calder, 1982). El objetivo de este estudio ha sido el comparar el efecto de estos dos tratamientos, de distinta forma de acción, sobre la conservación de la proteína en ensilados de leguminosa y gramínea.

Material y Métodos

Parte experimental

En un ensayo previo al experimento propiamente dicho se estudió la evolución de algunos parámetros en ensilados preparados con y sin calor aplicado al forraje antes de ensilar. Microsilos de 80 g de capacidad fueron preparados con alfalfa cortada antes y después de aplicar calor a 60°C durante una hora al forraje. Un total de 8 microsilos (4 para cada tratamiento) fueron preparados y abiertos después de 4, 18, 25 y 144 horas de ensilar. En ellos se controló la evolución del pH y de la capacidad tampón.

Alfalfa (*Medicago sativa*, var. Aragón) con un contenido en materia seca (MS) de 240 g/kg, 102 g/kg de MS de carbohidratos solubles y 216.5 g/kg de MS de proteína bruta fue ensilada por triplicado en silos de laboratorio de 1.5 kg de capacidad. La alfalfa fue ensilada sin tratamiento previo, con adición de formalina (5 l/t) o después de calentada a 60°C durante 1 hora. El forraje fue calentado en bolsas de plástico para evitar la pérdida de humedad con respecto al resto de los tratamientos. Los ensilados fueron abiertos después de 120 días.

Raygrass (*Lolium perenne* var. Taptoe) procedente de un tercer corte en Septiembre con 225 g/kg de MS y 93.5 g/kg de MS de carbohidratos solubles fue ensilado utilizando el formaldehído y calor en forma análoga a la alfalfa excepto la dosis de formalina que en el caso de la gramínea fue de 3 l/t. Los silos fueron abiertos y analizados después de 95 días.

Métodos analíticos

El contenido en MS de los forrajes fue obtenido en estufa a 105°C y la de los ensilados por destilación con tolueno (Deward y McDonald, 1961). La capacidad tampón fue medida por el método de Playne (1966) y el contenido en carbohidratos solubles determinado por colorimetría (Barnett, 1950) sobre extracto acuoso de ensilados frescos. Todas las fracciones nitrogenadas fueron determinadas de acuerdo a los métodos descritos por McDonald y col. (1960) sobre ensilados sin secar.

El análisis estadístico Anova (Steel y Torry, 1980) fue realizado para cada especie de planta y para el total de ensilados un análisis multivariante.

Resultados y discusión

El efecto del calor en la evolución del pH y de la capacidad tampón puede verse en el Gráfico 1.

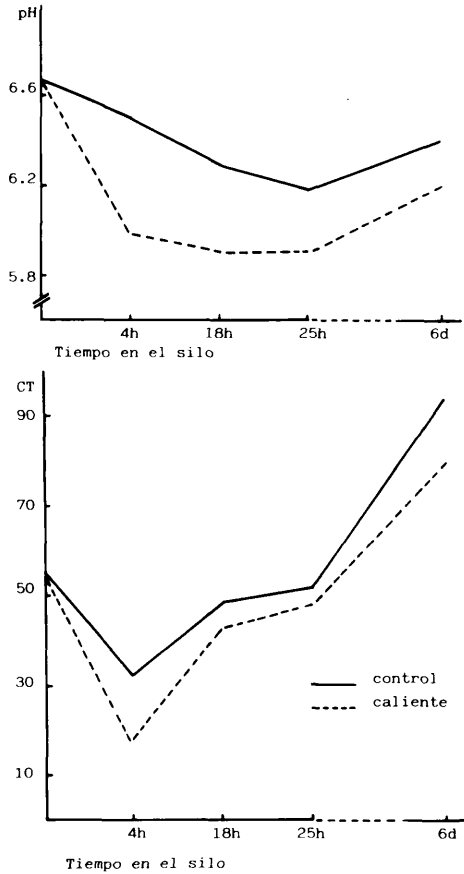


Fig. 1. Evolución de pH y de la capacidad tampón (CT) en ensilados de alfalfa.

Fig. 1. Change in pH and buffering capacity of two lucerne silages.

El calor aplicado antes de ensilar favorece el descenso del pH en los primeros días de fermentación, decisivos para una óptima conservación. La posible más rápida liberación de los jugos celulares estimularía el crecimiento más rápido de las bacterias lácticas.

Los resultados de los análisis de la leguminosa y gramínea ensilados pueden verse en la Tabla I y el análisis multivariante global de los datos en la Tabla II.

TABLA I
Efecto de los tratamientos con formaldehído y calor al ensilar en la composición química de los ensilados (g/kg MS)

Effect of formalin and heat before ensiling on the chemical composition of the silages

| | MS | pH | Carboh. solubles | NS | NV | NP |
|----------------------|--------------------|------------------|-------------------|-------------------|------------------|------------------|
| | (g/kg del N total) | | | | | |
| Alfalfa | | | | | | |
| Control | 218 | 6.1 ^b | 9.6 | 22.5 ^d | 204 ^b | 407 ^c |
| Formalina (0,5% v/p) | 223 | 6.4 ^b | 11.4 | 13.6 ^c | 110 ^a | 579 ^b |
| Calor (1 h. a 60°C) | 219 | 5.7 ^a | 11.5 | 9.9 ^c | 100 ^a | 747 ^a |
| ¹ e.s.m | | 0.10 | 1.2 | 2.2 | 3.7 | 30.6 |
| Raygrass | | | | | | |
| Control | 215 | 4.0 ^a | 38.2 ^d | 8.4 ^a | 68 ^b | 493 ^b |
| Formalina (0,3% v/p) | 225 | 5.5 ^b | 72.2 ^c | 3.1 ^b | 19 ^a | 758 ^a |
| Calor (1 h. a 60°C) | 223 | 3.8 ^a | 75.2 ^c | 4.0 ^b | 29 ^a | 722 ^a |
| e.s.m | | 0.06 | 7.4 | 0.8 | 6.0 | 43.3 |

^{a, b, c} Medias en cada especie de planta y columna con distinto índice son significativamente diferentes (P<0.01)

^{d, e} Medias significativamente diferentes (P<0.05)

¹e.s.m error standard de la media.

NS nitrógeno soluble., NV nitrógeno volátil., NP nitrógeno proteico

El tratamiento con calor redujo (P<0.01) el pH de los ensilados de alfalfa protegiendo eficazmente (P<0.01) la proteína. Ambos tratamientos, formaldehído y calor, dieron lugar a ensilados con menos N soluble (P<0.05) y pérdidas menores en forma de N volátil (P<0.01) que los ensilados sin tratamiento. No fueron eficaces (P>0.05) en la preservación de los carbohidratos solubles.

El raygrass ensilado fue de baja calidad con un nivel de carbohidratos solubles próximo al de la leguminosa. Su proteína fue eficazmente conservada en el silo (P<0.01) tanto por el formaldehído aplicado como por efecto del calor. Los ensilados con ambos tratamientos son más altos en carbohidratos solubles residuales (P<0.05) que los ensilados testigos. Ambos tratamientos redujeron la concentración de nitrógeno soluble y volátil (P<0.01).

Reducción de la proteólisis en ensilados de alfalfa por efecto del calor ha sido

puesto de manifiesto por otros autores. Charmley (1991) encuentra que en los ensilados donde el calor fue utilizado, el forraje había perdido el 80% de la actividad de su proteasa y que la reducción de la proteólisis fue muy manifiesta en los primeros cuatro días después de ensilado. Carpintero y Suárez (1992) estudian el efecto de distintas temperaturas y tiempos de calentamiento no encontrando diferencias en aplicar el calor por periodos superiores a una hora. Mandel et al. (1989) indican que el tratamiento con calor antes de ensilar puede ser una alternativa efectiva para mejorar la utilización del N de los silos por los rumiantes.

TABLA II
Análisis de la varianza sobre el total de los ensilados
Overall statistical analysis

| | pH | Carb | NS | NV | NP |
|---------------------|-----|------|-----|-----|-----|
| Efectos principales | | | | | |
| Especies | *** | *** | *** | *** | ns |
| Tratamientos | *** | ns | *** | *** | *** |
| Interacción | *** | * | *** | *** | ns |

***Significativo (<0.001); **($P<0.01$); * ($P<0.05$)

ns no significativo

La distinta concentración de formaldehído aplicado que resultó ser de 36.3 g de formaldehído puro por kg de PB del forraje en el caso de la leguminosa y aproximadamente el doble 73.1 g por kg en el caso de la gramínea explica el que, en el caso de la alfalfa, este tratamiento fuese menos efectivo que el calor mientras que en el caso de la gramínea, ambos tratamientos fueron equivalentes en la conservación de la proteína. No obstante, del análisis global de los datos a nivel $P<0.05$ se observan que los ensilados de gramíneas tienen un pH contenido en NS más bajo que los de la leguminosa así como un grado de preservación de carbohidratos solubles más elevado. El grado de conservación de la proteína verdadera fue análoga para ambas especies. En cuanto a tratamientos, el calor produce ensilados más ácidos y con contenido inferior en nitrógeno soluble que los conservados con formaldehído, no siendo significativas las diferencias para el resto de los parámetros estudiados. La efectividad de cualquiera de los dos tratamientos frente a los ensilados control fue muy manifiesta.

Como conclusión reseñar que, en forrajes con un nivel similar de carbohidratos, el calor aplicado al ensilar produce silos más ácidos que la adición de formaldehído y que,

niveles iguales o superiores a 75 g de este aditivo por kg de proteína bruta del forrage, fueron necesarios para una protección de la proteína análoga a la obtenida por el calor aplicado. La aplicación del calor supone un gasto de energía no siempre asequible y rentable pero el estudio de sus efectos, como mejora de la utilización del N por los rumiantes, justifica este trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

- BARNETT, A.J.G.; MILLAR, T.B., 1950. The determination of soluble carbohydrate in dried samples of grass silage by anthrone method. *J. Sci. Food Agric.*, 1, 336-339
- CALDER, F.W., 1992. Effect of steam-treated grass silage on animal gain. *Can. J. Plant Sci.*, 62, 89-
- CHARMLEY, E.; VEIRA, D.M., 1990. Inhibition of proteolysis at harvest using heat in alfalfa silages: effect on silage composition and digestion by sheep. *J. Anim. Sci.*, 68, 758-766.
- CHARMLEY, E.; VEIRA, D.M., 1991. The effect of heat-treatment and gamma radiation on the composition of unwilted lucerne silages. *Grass and Forage Science*, 46, 331-390.
- CARPINTERO, C.; SUÁREZ, A., 1992. Effects of the extent of heating before ensiling on proteolysis in alfalfa silages. *J. Dairy Sci.*, 75, 2199-2204.
- DE LA CONCHA, M.E.; CARPINTERO, C., 1986. Proteolisis en los ensilados y su valoración. I. Efecto de diferentes conservadores sobre la proteolisis en ensilados de gramíneas y leguminosas. *An. Fac. Vet. León*, 32, 109-117.
- DEWARD, W.A.; McDONALD, P., 1961. Determination of dry matter in silage by distillation with toluene. *J. Sci. Food Agric.*, 12, 790-795.
- MANDELL, I.B.; MOWAT, D.N.; BILANSKI, W.K.; RAI, S.N., 1989. Effect of heat treatment of alfalfa prior to ensiling on nitrogen solubility and in vitro ammonia production. *J. Dairy Sci.*, 72, 2046-2054.
- McDONALD, P. et al., 1960. Studies on ensilage. *Tech. Bull. Edinburgh School Agric.*, 24. Edinburgh. Scotland.
- PLAYNE, M.J.; McDONALD, P., 1966. The buffering constituents of herbage and of silage. *J. Sci. Food Agric.* 17, 264-268.
- SIDDON, R.C.; ABICASTRES, C.; GALE, D.I.; BEEVER, D.E., 1984. The effect of formaldehyde or glutaraldehyde application to lucerne before ensiling on silage fermentation and silage N digestion in sheep. *Br. J. Nutr.*, 52, 391-401.

STEEL, R.G.D., TORRIE, J.H., 1980. *Principles and procedures of statistics*. 2nd edn. New York., McGraw-Hill Book Co.

FORMALDEHYDE AND HEAT TREATMENT AS INHIBITORS OF PROTEOLYSIS IN SILAGES.

SUMMARY

One experiment was carried out to evaluate the effect of dry heating before ensiling (1 hour at 60°C) or formaline as additive on the protein conservation of lucerne or ryegrass silages. The level of formaline added was of 5 l/t and of 3 l/t to the lucerne and ryegrass respectively. Both treatments were effective on the quality of the silages. Heating reduced proteolysis in the lucerne silages more efficiently than the formaldehyde added (36 g pure formaldehyde /kg of CP in the fresh forage).In the ryegrass silages, with double level of formaldehyde per kg of CP, both treatments had similar effect. Heat applied to both species of plants rendered silages with lower pH and less soluble N than the formaldehyde treatment.

KEY WORDS: Silage, heat treatment, formaldehyde, proteolysis.