

Dinámica de la fermentación inicial de ensilaje de *Albizia lebbbeck*

Dynamic of early fermentation of *Albizia lebbbeck* silage

T. Clavero y R. Razz

Centro de Transferencia de Tecnología en Pastos y Forrajes. Facultad de Agronomía. Universidad del Zulia. Apdo 15908. Maracaibo 4005. Venezuela.

Resumen

La dinámica de la fermentación fue estudiada con ensilaje de *Albizia lebbbeck* en el oeste de Venezuela. Material fresco fue cortado y ensilado en silos de laboratorio, con una relación 1:2 (p:v), de leguminosa: melaza, almacenados a 25°C, los cuales fueron abiertos a 0,5, 1, 3, 5, 7, 14 y 30 días de ensilaje, respectivamente. Las muestras fueron tomadas de tres silos para cada muestreo analizándose la calidad de fermentación y los componentes nitrogenados. La dinámica de fermentación mostró una rápida reducción del pH ($P<0,05$) dentro de los primeros tres días de ensilaje, decreciendo a 4,11 para el día 5 y permaneciendo casi constante hasta el final del periodo de evaluación (30 días). El contenido de ácido láctico mostró un incremento significativo ($P<0,05$) después del primer día de ensilaje, alcanzando un máximo ($8,19 \text{ g.kg}^{-1}$) el día 7, seguido de una insignificante disminución ($P>0,05$). El contenido de ácido acético incrementó significativamente ($P<0,05$) hasta el día 3 de ensilaje y alcanzó su máxima concentración ($1,63 \text{ g.kg}^{-1}$) para el día 7. Ácidos propiónico y butírico fueron detectados en cantidades mínimas e insignificantes ($P>0,05$) durante el periodo de ensilaje. Esto fue atribuido a una rápida reducción del pH y la rápida producción de ácido láctico lo cual restringió el crecimiento de clostridias. El nitrógeno total y el nitrógeno proteico mostraron una disminución leve dentro

de los tres primeros días de ensilaje, seguido por una disminución no significativa ($P>0,05$). El nitrógeno soluble se incrementó gradualmente y alcanzó el máximo valor en el día tres ($P<0,05$) y luego tendió a disminuir. Solo trazas de nitrógeno amoniacal fueron detectadas durante el ensilaje. Algunos de los cambios en los componentes nitrogenados pueden ser atribuidos a la acción de las enzimas de las plantas en los periodos iniciales del ensilaje. Este estudio demostró que el ensilaje realizado con *Albizia lebbbeck* y la adición de melaza tiene buenas características fermentativas donde la fermentación láctica tiene lugar en el estado inicial con el resultado de una disminución del pH y una temprana estabilización del medio.

Palabras clave: *Albizia lebbbeck*, ensilaje, calidad de fermentación, compuestos nitrogenados.

Abstract

The dynamics of fermentation were studied with *Albizia lebbbeck* ensiled in the western part of Venezuela. Chopped fresh plant materials were ensiled into a laboratory silo, with a relationship 1:2 (w:v) of legumes: molasses, and stored at 25°C, and then were opened on 0.5, 1, 3, 5, 7, 14 and 30 days after ensiling, respectively. The samples were taken from three silos at each sampling time and the fermentation qualities and nitrogenous components were analyzed. The fermentation dynamics showed a fast pH reduction ($P<0.05$) within the initial three days of ensiling, decrease to 4.11 at day 5 and then remained almost constant until the end of ensiling (30 day). Lactic acid content showed a significant ($P<0.05$) increase after the first day of ensiling, reaching the peak (8.19 g.kg⁻¹) on day 7, followed by an insignificant decrease ($P>0.05$). Acetic acid content increased significantly ($P<0.05$) after three days of ensiling and reached a highest concentration (1.63 g.kg⁻¹) on day 7. Propionic and butyric acids were detected in no or only small amount over the ensiling period. This was attributed to a fast reduction in pH because of the rapid production of lactic acid which restricted growth of clostridia. Total nitrogen and protein nitrogen showed a slight decrease within the initial 3 days of ensiling, followed by an insignificant decrease ($P>0.05$). Soluble nitrogen increased gradually and reached the highest value on day three ($P<0.05$) and then tended to decrease. Ammonium nitrogen was not detected over the ensiling period. Some of the changes in nitrogenous components could be attributed to the action of plant enzymes within initial days of ensiling. This study showed that the silage made from *Albizia lebbbeck* with molasses addition had good fermentation characteristics where active lactic acid fermentation took place in the initial stage of ensilage, resulting in a decrease pH with early stabilization of the medium.

Key words: *Albizia lebbbeck*, silage, fermentation quality, nitrogenous components.

Introducción

El uso del forraje de árboles y arbustos representa una alternativa de gran potencial en sistemas de producción con rumiantes en el trópico. La principal ventaja reside no solo en su producción de biomasa sino la elevada calidad nutricional (nitrógeno total, digestibilidad del follaje, contenido mineral y energético) del forraje cosechado. Sin embargo, durante los periodos de lluvias se presentan excedentes en la producción de biomasa de los árboles los cuales no son consumidos por los herbívoros domésticos debido a la alta calidad de las gramíneas introducidas en los potreros (Betancourt *et al.*, 2003).

Estos remanentes del periodo lluvioso, de no ser utilizados o cosechados producen desbalances en la calidad nutricional de los rebrotes comestibles y el desaprovechamiento del potencial productivo (Ojeda y Montejo 2001). Una alternativa pudiera ser la conservación del material no utilizado como ensilaje, de manera de garantizar la alimentación animal en la época menos lluviosa con forraje de alta calidad.

El valor nutritivo de un ensilaje estará siempre en función del valor nutritivo del forraje que le dio origen y preservar al máximo esa calidad inicial es el objetivo principal de los procesos tecnológicos aplicados en su elaboración (Ojeda 1988). Así mismo, es conocido que la conservación de forraje mediante ensilaje está basado en la fermentación natural en la cual las bacterias lácticas convierten azúcar bajo condiciones anaeróbicas en áci-

Introduction

The usage of trees and shrubs forages represents one high potential alternative in production systems with ruminant in tropic. The main advantage is not only the biomass production but also the high nutritional quality (total nitrogenous, forage digestibility, mineral and energetic content) of harvested forage. However, during rainy periods excess are present in the biomass production of trees which are not consumed by the domestic herbivorous because the high quality of gramineae introduced in pastures (Betancourt *et al.*, 2003).

If remaining of rainy season, if are not used or harvested, it will produces desbalances on the nutritional quality of edible regrowth and the wasting of productive potential (Ojeda and Montejo 2001). One alternative could be the conservation as silage, for guarantee the animal nutrition in the dry season with high quality forage.

The quality of silage will always be as a function of nutritive value of plant materials and preserving this initial quality is the main objective of technological processes applied in its making (Ojeda 1988). Likewise, it is known that forage conservation through silage is based on natural fermentation in which lactic bacteria convert sugar under anaerobic conditions in lactic acid. As a consequence, pH decrease and forage is preserved. Nevertheless, in the first ensilabilidad stages, even when there is aerobic microbial activity,

do láctico. Como consecuencia el pH disminuye y el forraje es preservado. Sin embargo, en los primeros estados de la ensilabilidad, cuando todavía existe actividad microbiana aeróbica, pueden ocurrir cambios importantes que pueden afectar la calidad final del ensilaje.

Como la fermentación inicial juega un papel importante en la calidad del ensilaje, el objetivo de este trabajo fue evaluar la calidad de la fermentación en los estados iniciales del ensilaje de material fresco de *Albizia lebbbeck* Benth.

Materiales y métodos

Descripción y ubicación del área experimental. El trabajo se realizó en el occidente de Venezuela (estado Zulia), en una zona clasificada como Bosque Seco Tropical, caracterizada por una precipitación promedio de 500 mm/año, con una temperatura promedio anual de 29°C y humedad relativa de 75% (COPLANARH, 1974). A una altura sobre el nivel del mar de 30 m y pH del suelo de 5,6.

Procedimiento de elaboración de los microsilos. El forraje de *Albizia lebbbeck* Benth para este experimento fue cosechado de una plantación que tenía más de 3 años de establecida, con una densidad superior a las 15000 plantas.ha⁻¹ la cual recibió un corte de homogenización al inicio del periodo lluvioso.

A las siete semanas de crecimiento, cuando el material se encontraba en estado óptimo de crecimiento, se realizó la cosecha manual del forraje. El material fresco fue cortado en pedazos de aproximadamente 1

important changes could occur that could affect the final quality of silage.

Like initial fermentation play an important role in the silage quality, the objective of this work was to evaluate the fermentation quality in the initial stages of silage of fresh material of *Albizia lebbbeck* Benth.

Materials and methods

Description and location of experimental area. This research was accomplished in the west of Venezuela (Zulia state), in a region classified like Tropical dry forest, characterized by a mean rainfall of 500 mm/year, with an annual mean temperature of 29°C and relative moisture of 75% (COPLANARH, 1974). At 30 m above sea level and soil pH of 5.6.

Micro silo elaboration procedure. *Albizia lebbbeck* Benth forage for this essay was harvested from a plantation having more than 3 years of established, with a density superior to 15000 plants.ha⁻¹ which received a homogenization cut at the beginning of rainy season.

At seven weeks of growth, when material was in its growth optimum state, manual harvest of forage was made. Fresh material was cut in pieces of approximately 1 cm. long and siled with molasses in one relationship 1:2 weight:volume (*Albizia*:molasses), in laboratory silos with a capacity of 3.5 kg, even molasses with forage mixture like the pressed for the air extraction was made in a manual way. Silos were accomplished by triplicate and stored at an environmental temperature of

cm. de largo y ensilado con melaza en una relación 1:2 peso:volumen (Albizia:melaza), en silos de laboratorio con capacidad de 3,5 kg, tanto la mezcla de la melaza con el forraje como el prensado para la extracción del aire se realizó manualmente. Los silos se realizaron por triplicado y almacenados a temperatura ambiente de 25°C. Los silos fueron abiertos a los 0,5, 1, 3, 5, 7, 14 y 30 días de almacenamiento.

Variables de estudio. Las variables evaluadas fueron: pH (medición realizada con un electrodo de vidrio), nitrógeno amoniacal (NA), por el método de destilación de micro-kjeldahl (AOAC 1995), contenido de nitrógeno total (NT), nitrógeno proteico (NP), nitrógeno soluble (NS) por el método de Richard y Van Soest (1974) y ácidos grasos volátiles (láctico, acético, propiónico y butírico) por el método de Ming-Hua y Choung (2001).

Análisis estadístico. El diseño experimental utilizado fue completamente al azar con tres repeticiones. Los datos se analizaron a través del paquete estadístico SAS (1989), usando GLM. Las comparaciones entre periodos de almacenamiento fueron determinadas por la prueba de Tukey.

Resultados y discusión

Las características de fermentación del ensilaje de *A. lebeck* se presentan en el cuadro 1. Los mayores productos de la fermentación fueron ácido láctico y acético. Se observó una rápida y significativa ($P<0,05$) reducción del pH inmediatamente después de iniciado el periodo de ensilaje (día 1), con un mayor decreci-

25°C. Silos were opened at 0.5, 1, 3, 5, 7, 14 and 30 days of storage.

Study variables. Variables evaluated were: pH (measurement made with a glass electrode), ammonium nitrogenous (AN), by the method of distillation micro-kjeldahl (AOAC 1995), total nitrogenous content (NT), proteic nitrogenous (PN), soluble nitrogen (SN) according to the Richard and Van Soest method (1974) and volatile fatty acids (lactic, acetic, propionic and butyric) by the Ming-Hua and Choung method (2001).

Statistical analysis. Experimental design used at random with three replications. Data were analyzed through the statistical program SAS (1989), by using GLM. Comparisons between storage periods were determined by the Tukey test.

Results and discussion

Fermentation characteristics of *A. lebeck* silage are shown in Table 1. Higher products of fermentation were lactic and acetic acids. A rapid and significant pH reduction ($P<0,05$) was observed immediately after began the silage period (day 1), with a higher decreasing until day 5, with a value of 4.03 ($P<0.05$) and continuous with a significant decreasing, by keeping almost constant values until the end of the evaluation period, in where the minimum value of 3.86 was reached, at the end, the pH was below 4.2, recommended like an acceptable value in one silage process (Cardenas *et al.*, 2003).

In relation to volatile fatty acids,

Cuadro 1. Cambios en fermentación y componentes nitrogenados en ensilaje de *Albizia lebbek*.

Table 1. Changes on fermentation and nitrogenous components in *Albizia lebbek* silage.

Variables	Días						
	0,5	1	3	5	7	14	30
pH	5,78 ^a	5,72 ^a	4,42 ^b	4,03 ^b	4,02 ^b	3,97 ^c	3,86 ^c
Ácido láctico (kg ⁻¹ MS)	2,99 ^d	3,48 ^d	5,18 ^c	7,46 ^b	8,19 ^a	8,02 ^a	8,11 ^a
Ácido acético (kg ⁻¹ MS)	0,58 ^c	0,53 ^c	1,01 ^b	1,56 ^a	1,63 ^a	1,56 ^a	1,53 ^a
Ácido propiónico (kg ⁻¹ MS)	0,10 ^a	0,12 ^a	0,09 ^b	0,07 ^b	0,08 ^b	0,06 ^c	0,06 ^c
Ácido butírico (kg ⁻¹ MS)	0,016	0,016	0,013	0,016	0,010	0,015	0,013
Nitrógeno amoniacal (%)	0,06	0,08	0,08	0,07	0,06	0,06	0,06
Nitrógeno total (%)	2,4 ^a	2,23 ^a	2,10 ^b	1,97 ^b	1,96 ^b	1,96 ^b	1,93 ^b
Nitrógeno proteico (%)	1,61 ^a	1,37 ^a	1,19 ^b	1,08 ^b	0,94 ^c	0,99 ^c	0,97 ^c
Nitrógeno soluble (%)	0,71 ^c	0,75 ^b	0,84 ^a	0,80 ^a	0,77 ^b	0,75 ^b	0,701 ^c

Medias con letras distintas en la misma fila difieren significativamente ($P < 0.05$).

miento hasta el día 5, con un valor de 4,03 ($P < 0,05$) y continuo con un decrecimiento insignificante, manteniendo valores casi constantes hasta el final del periodo de evaluación, donde se alcanzó el mínimo valor de 3,86, al final el pH se encontró por debajo de 4,2, recomendado como valor aceptable en un proceso de ensilaje (Cárdenas *et al.*, 2003).

Con relación a los ácidos grasos volátiles, el contenido de ácido láctico se incrementó significativamente ($P < 0,05$) desde el primer día de ensilaje, alcanzando su máximo valor (8.19 g.kg⁻¹ MS) el día 7, y luego decreció, sin impacto significativo hasta el final del periodo de evaluación. El contenido de ácido acético mostró un incremento significativo ($P < 0,05$) desde el inicio del ensilaje, con un pico máximo de 1,63 g.kg⁻¹ de MS a los 7 días de almacenamiento. Los ácidos

the content of lactic acid was significantly increased ($P < 0.05$) from the first silage day, by reaching its maximum value (8.19 g.kg⁻¹ DM) on day 7, and after decreased, without significant impact until the end of the evaluation period. The content of acetic acid showed a significant increase ($P < 0.05$) from the silage beginning, with a maximum peak of 1.63 g.kg⁻¹ of DM at 7 storage days. Propionic and butyric acids were undetected or showed in not significant quantities during the evaluation period. The content of fatty acids, basically lactic and acetic, showed a significant increase from the beginning of silage, with a maximum at 7 days, by indicating that the higher fermentative activity was developed inside of this period.

It is recognized that the cell

propiónico y butírico no fueron detectados o se presentaron en cantidades insignificantes durante el periodo de evaluación. El contenido de ácidos grasos, básicamente láctico y acético, mostraron un incremento significativo desde el inicio del ensilaje, con un máximo a los 7 días, indicando que la mayor actividad fermentativa se desarrolló dentro de ese periodo.

Es reconocido que la ruptura celular y la liberación de los contenidos celulares son un prerequisite para la producción de las bacterias lácticas. Así mismo, la adición de carbohidratos solubles, como la melaza, promueve fermentaciones lácticas muy vigorosas (Vallejo 1995) especialmente de algunas bacterias lácticas homo fermentativas, las cuales disminuyen el pH de la masa ensilada. Se produce una concentración hidrogeniónica lo suficientemente alta, que limita o impide el crecimiento de otras bacterias como *Clostridium* que pudieran producir como resultado de su actividad ácidos como propiónico y butírico, lográndose una adecuada y rápida estabilización microbiana del ensilaje. Este mismo efecto fue encontrado por McDonald *et al.* (1991) y Betancourt *et al.* (2002).

Los compuestos nitrogenados del ensilaje de *Albizia* experimentaron cambios durante el proceso de conservación (cuadro 1). Durante la dinámica fermentativa, el contenido de nitrógeno amoniacal (NA) fue insignificante durante todo el proceso de ensilaje. Los valores de NA fueron inferiores al 1%, lo cual de acuerdo con Ojeda *et al.*, (1990) se encuentra muy por debajo del valor de 7% considerado como nivel óptimo.

breakdown and the cell contents releasing are a previous requirement for the production of lactic bacteria. Likewise, the addition of soluble carbohydrates like molasses promotes lactic fermentations very vigorous (Vallejo 1995) especially of some homo fermentative lactic bacteria, which diminish pH of the silage mass. A high hydro geniónic concentration is produced which limits or avoid the growth of other bacteria like *Clostridium* that could produce as a result of its activity, acids like propionic and butyric, by achieving an adequate and rapid microbial stabilization of silage. This same effect was found by McDonald *et al.*, (1991) and Betancourt *et al.*, (2002).

The nitrogenous compounds of *Albizia* silage experimented changes during the conservation process (table 1). During the fermentative dynamics, the content of ammonium nitrogen (AN) was not significant during all the silage process. Values of AN were inferior to 1%, which according to Ojeda *et al.*, (1990) is lower than value of 7% considered like optimum level.

Total nitrogen contents (TN) and proteic nitrogen (PN) declined in the first silage days, being stabilized between days 5 and 7, respectively, with crude protein values (TN x 6.25) that exceed at the level of 8% established like deficient for ruminants (Betancourt *et al.*, 2002).

Soluble nitrogen (SN) significantly increased with the first days of fermentation ($P < 0.05$), by reaching a maximum after 3 days, with a light reduction at the end of evaluation. This SN was not ammonium, possibly produced as a consequence of breakdown of nitrites

Los contenidos de nitrógeno total (NT) y nitrógeno proteico (NP) declinaron en los primeros días del ensilaje, lográndose estabilizarse entre los días 5 y 7, respectivamente, con valores de proteína cruda (NT x 6,25) que excedieron al nivel de 8% establecido como deficiente para rumiantes (Betancourt *et al.*, 2002).

El nitrógeno soluble (NS) se incrementó significativamente con los primeros días de fermentación ($P < 0,05$), alcanzando un máximo luego de 3 días, con una ligera reducción al final de la evaluación. Ese NS no fue amoniacal, posiblemente se produjo como consecuencia de la ruptura de nitritos y nitratos debido a la acción de enzimas de las plantas y enterobacterias generando péptidos y aminoácidos. La solubilización de las proteínas originales del forraje es un proceso inherente a la preservación como ensilaje, sin embargo, los niveles de NS no sobrepasaron el 50% del NT lo cual de acuerdo a Ojeda y Díaz (1992) corresponden a ensilajes de excelente calidad, lo que significa que la conservación se realizó adecuadamente, con una inactivación rápida de las proteasas y la consecuente restricción en la solubilización de las proteínas durante la conservación.

Conclusiones

De los resultados de esta investigación se puede concluir que la aplicación del aditivo (melaza) en pequeñas partículas de forraje se logró que la acidificación del medio se realizara en un tiempo lo suficientemente rápido (7 días) como para detener el crecimiento y la actividad de *Clostridium* y proteasas.

and nitrates because the action of plants enzymes and **entero bacteria** by generating peptides and amino acids. Solubilization proteins original from forage is a process inherent to the preservation as silage, however, SN levels do not exceed 50% of TN which according to Ojeda and Diaz (1992) correspond to silages of excellent quality, that indicates the conservation was made in an adequate way, with a rapid inactivation of proteases and the consequent restriction in the solubilization of proteins during conservation.

Conclusions

From results of this research it can be concluded that the additive application (molasses) in little forage particles the medium acidification was achieved on a enough fast time (7 days) to stop growing and *Clostridium* and proteases activity.

Lactic fermentation was dominant from the first salability states because the homofermentatives lactic bacteria, by creating a medium in where AN levels were not significant, TN and PN was better preserved by avoiding high solubilizations of proteins, conserving them on its original state which is attribute of a good fermentative quality of silage.

End of english version

La fermentación láctica fue dominante desde los primeros estados de ensilabilidad debido a la acción de bacterias lácticas homofermentativas, creando un medio donde los niveles

de NA fueron insignificantes, se preservó mejor el NT y NP evitando elevadas solubilizaciones de las proteínas, conservándolas en su estado original, lo cual es atributo de una buena calidad fermentativa del ensilaje.

Literatura citada

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. 1995. 16th ed. Arlington, UA. 684 pp.

Betancourt, M., T. Clavero y R. Razz. 2002. Compuestos nitrogenados en ensilajes de *Leucaena leucocephala*. Revista Científica Vol XII-Suplemento 2:566-568.

Cárdenas, J., C. Sandoval, y F. Solorio 2003. Composición química de ensilajes de gramíneas y especies arbóreas. Tec. Pec. Mex. 41(3): 283-294.

COMISION DE PLAN NACIONAL DE APROVECHAMIENTO DE LOS RECURSOS HIDRAULICOS (COPLANARH). 1974. Atlas: Inventario Nacional de Tierras. Región lago de Maracaibo. Venezuela. 91 pp.

McDonald, P., R. Henderson and S. Heron. 1991. The biochemistry of silage (2nd ed.). Cambrian Printers Ltd. Aberystwyth., pp. 184-223.

Ming-Hua, Y. and Y. Choong. 2001. A rapid gas chromatographic method

for direct determination of short Caín volatile organic acids. Food Chemistry. 75:101-108.

Ojeda, F. 1988. Valor nutritivo de forrajes tropicales conservados como ensilajes. Pastos y Forrajes. 11:199-205.

Ojeda, F., M. Esperance y D. Díaz. 1990. Mezclas de gramíneas y leguminosas para mejorar el valor nutritivo de los ensilajes tropicales. Pastos Forrajes. 13:189-196.

Ojeda, F., y D. Díaz. 1992. Estudio de diferentes proporciones de sorgo y dolichos ensilados con y sin preservantes. Pastos y Forrajes. 15: 77-87.

Ojeda, F. y I. Montejó. 2001. Conservación de la morera (*Morus alba*) como ensilaje. Efecto sobre los compuestos nitrogenados. Pastos y Forrajes. 24:147-155.

Richard, D. y P. Van Soest. 1977. Protein solubility of ruminants feeds. Proc. Cornell Nutr. Conf. P 91. Ithaca, NY.

SAS. Statistical Analysis System Institute. 1989. User's guide. 4th ed. Vol 2. 846 pp.

Vallejo, M. 1995. Efecto del premarchitamiento y la adición de melaza sobre la calidad del ensilaje de diferentes follajes de árboles y arbustos tropicales. Tesis Mag. Sc. CATIE. Turrialba, Costa Rica, p. 115.