

---

## ENSAYOS PRELIMINARES SOBRE MICROENSILAJE DEL MAGUEY

---

ALFREDO SÁNCHEZ-MARROQUÍN  
Presidente de la Sociedad en 1962.

El ensilaje es un proceso microbiológico al cual se someten los vegetales con el objeto de favorecer condiciones anaerobias para el desarrollo de microorganismos de la fermentación láctica y asegurar así la disponibilidad de forraje de épocas en las cuales ésta falta o no puede obtenerse, o en aquellas regiones cuyos climas no permiten el cultivo de plantas forrajeras en cualquier época del año, como por ejemplo, en ciertas regiones montañosas o de inviernos largos.<sup>13</sup>

El método del ensilaje tiene algunas ventajas sobre otros métodos, pues conserva el forraje verde y fresco, y su sabor y digestibilidad son mejores.

Es de primordial importancia la composición química del material que se va a ensilar, pues si es rico en prótidos y agua dará un producto maloliente y de sabor indeseable, mientras que si contiene poca agua y suficientes azúcares dará un jugo en cantidad suficiente para llenar los espacios entre el forraje, y el producto será de mejor calidad.

La fermentación se produce a expensas de los carbohidratos de los vegetales y por la actividad de las bacterias que contiene, las cuales producen suficiente ácido láctico que impide el desarrollo de gérmenes nocivos.<sup>1, 10, 11</sup> Además, hay producción de manitol a expensas de la levulosa y una cierta cantidad de alcohol. Los lactatos se transforman al poco tiempo en acetatos, de aquí que el ensilado viejo adquiera un sabor más agrio y picante. Los ácidos se combinan con los alcoholes, formando diversos ésteres y todos estos productos tienen importancia como determinantes del buen sabor.

Los organismos que realizan estas transformaciones son tanto del grupo de las bacterias (*Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Streptobacterium* y *Aerobacter*),<sup>2-7, 10, 11, 13, 15, 16</sup> como del de las levaduras, especialmente del género *Candida* y aún algunos hongos, pero sólo cuando las condiciones de anaerobiosis han sido interrumpidas.<sup>17</sup>

Los ensilados ácidos son los mejores, no sólo por su sabor y olor particulares, sino también porque se conservan en mejores condiciones durante un espacio de tiempo más considerable.

Para designar la calidad de un ensilado se toman en cuenta varios productos de la fermentación. La buena calidad se asocia con valores altos de ácido láctico y pH bajo, mientras que la mala calidad con valores altos de ácido butírico, pH y nitrógeno amoniacal.<sup>2, 3</sup>

Los efectos de algunos factores sobre la fermentación (especie vegetal, contenido de humedad y contenido de azúcar del forraje inicial) parecen ser variables o al menos no claramente inteligibles. Tratando forrajes de gran contenido de humedad particularmente leguminosas, a menudo han resultado ensilados de mala calidad. Sin embargo, no es este siempre el caso; el contenido relativamente bajo de azúcar de los pastos, en general, y de leguminosas en particular, ha sido considerado como una explicación a estas dificultades. Esto, sin embargo, no es siempre adecuado.

Barnett,<sup>2</sup> ha ofrecido como explicación del diferente desarrollo de los ácidos en productos ensilados, el desigual contenido inicial de azúcar y expresa que las diferencias en el contenido de levulosa pueden ofrecer una explicación más adecuada.

Uno de los problemas de más difícil resolución en la mayor parte del territorio mexicano es la producción de forrajes en cantidad suficiente para conseguir su abaratamiento. Este problema se presenta especialmente en la zona tropical mexicana, donde la producción forrajera presenta apreciables diferencias durante el año; en la época de lluvias los pastos crecen abundantemente, mientras que en la estación seca su producción es muy escasa lo cual afecta seriamente al ganado.

En las zonas magueyeras el problema forrajero podría solucionarse parcialmente si se sometieran los magueyes agotados a procesos de ensilaje que permitieran obtener un producto de buena calidad, libre de las saponinas dañinas y fácilmente asimilable.

El presente trabajo se refiere a una serie de ensayos preliminares sobre el estudio de la fermentación del maguey por proceso de ensilaje, dejando para una comunicación posterior los resultados definitivos obtenidos en procesos realizados en mayor escala y mediante el empleo de microorganismos seleccionados.

Como único antecedente en relación a este problema está el trabajo realizado en el Instituto Mexicano de Investigaciones Tecnológicas del Banco de México, en cuyo informe final<sup>8</sup> se recomienda continuar los experimentos por ellos realizados.

Nuestro objetivo es llevar el proceso de ensilaje a mayor escala y obtener finalmente un buen forraje con la nueva modalidad de utilizar microorganismos seleccionados para efectuar la fermentación y eliminar totalmente las saponinas, así como la de elevar el valor nutritivo del producto mediante la adición de levadura

residual de la industria del pulque.

## MATERIALES Y MÉTODOS

*Materia prima.*—Se emplearon en estos primeros ensayos hojas de maguey agotado, mezontete, pajas de cereales, melazas y un producto comercial modificador del ensilaje, denominado "Spurosil".

El material por ensilar se cortó en trozos pequeños y se procedió al ensilaje por las técnicas usuales, en microsilos de igual tamaño. Las hojas se sujetaron a diversos tratamientos previos (secado, adición de paja de cereales, melazas, etc.) o se emplearon directamente, sin tratamiento alguno. Las pajas se añadieron en proporción variable y el Spurosil en proporción de 1 g/kg de material.

*Condiciones.*—A todos los microsilos se les añadió NaCl al 0.15%; se empacaron y cerraron cuidadosamente permitiendo la exudación de la savia y el acceso de los microorganismos que la propia planta contiene y que son indispensables para la fermentación. El NaCl se añadió con el objeto de mejorar el sabor e inhibir hasta cierto punto los procesos proteolíticos. Los microsilos se dejaron a la temperatura del laboratorio y se practicaron análisis al iniciar los experimentos y a los 10, 20, 30 y 40 días de fermentación.

*Análisis.*—Se estimó el número de anaerobios totales, lactobacilos, anaerobios esporulados, nitrógeno amoniacal, nitrógeno total, pH, ácido láctico, ácido butírico y otros datos químicos.

Para el recuento de bacterias anaerobias totales se siguió el método de Hungate<sup>6</sup> modificado por Bryant y Burkey<sup>5</sup>; para el de bacterias lácticas se empleó el método descrito por Rogosa<sup>12</sup>; los anaerobios esporulados se determinaron en un medio de tripticasa con la adición de almidón soluble.<sup>6</sup>

La identificación de los ácidos láctico y butírico se hizo por cromatografía en papel, según los métodos de Stark *et al.*<sup>14</sup> y Kennedy y Barker,<sup>9</sup> respectivamente. El valor de Rf para el ácido láctico fue de 0.56 y el del ácido butírico de 0.52.

Las demás determinaciones químicas se efectuaron según métodos de la A. O. A. C.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Después de estudiar un buen número de microsilos respecto a predominancia de microorganismos más estrechamente relacionados con el proceso del ensilaje (anaerobios totales, lactobacilos y anaerobios esporulados) se pudo establecer en estas bases una clasificación tentativa en tres tipos principales respecto a la calidad según el comportamiento microbiológico: a) ensilajes de excelente calidad entre los cuales se tomaron como representativos los ensilados 3 y 5; b) ensilajes de mediana calidad o intermedia, tomando como representativos los ensilados 1 y 2 y c) ensilajes de mala calidad como los marcados con los números 4 y 6.

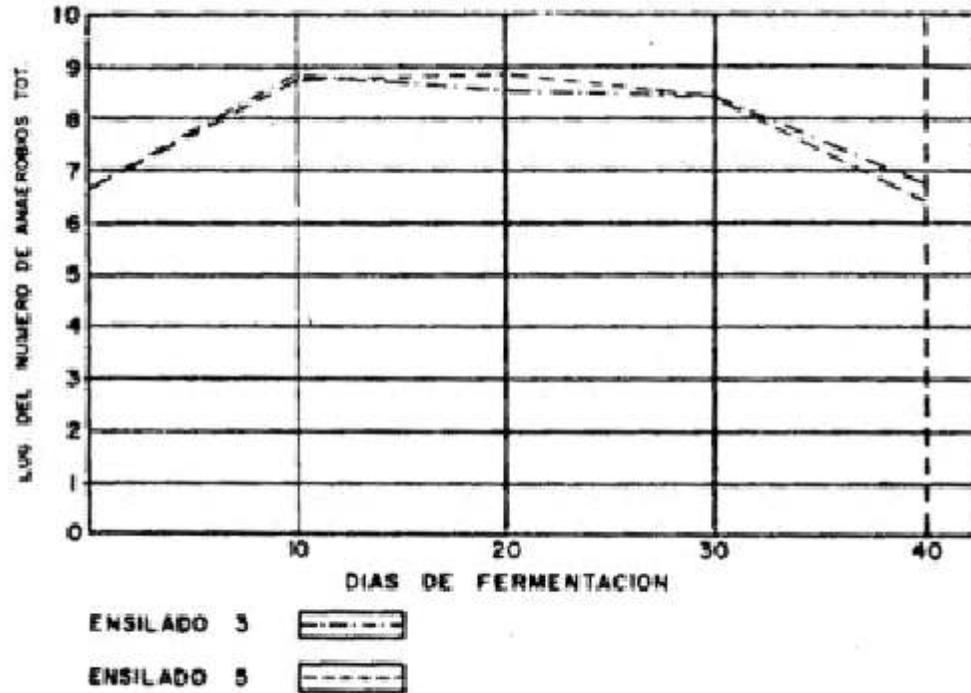


Fig. 1: Cuenta de anaerobios totales.

En los de buena calidad, tipos 3 y 5, el número de anaerobios esporulados fue bajo y aparecieron sólo en la última etapa de la fermentación; en tanto que los lactobacilos aumentaron ostensiblemente a los 10 días y se mantuvieron luego constantes hasta el trigésimo día de la fermentación. Los anaerobios totales aparecieron en mayor número al décimo día, fueron luego disminuyendo hasta el trigésimo día y más ostensiblemente al cuadragésimo día.

En los ensilados de calidad intermedia (tipos 1 y 2) los anaerobios esporulados también fueron escasos aunque en cifras un poco más altas que en los ensilados de buena calidad. El curso de la aparición y reproducción de los lactobacilos fue semejante al de los ensilados de buena calidad e igual cosa puede decirse respecto a los anaerobios totales.

En los ensilajes de mala calidad, tipos 4 y 6, la característica principal fue el aumento de los anaerobios esporulados a medida que transcurría la fermentación. Los lactobacilos se presentaron en cifras mayores que en el resto de ensilados, en tanto que no hubo diferencias respecto a anaerobios totales en los tres tipos de ensilados.

Los resultados obtenidos se sumarizan en la Tabla 1, y se refieren a los tres tipos de ensilados en relación a la calidad microbiológica. En las Figs. 1, 2 y 3, por otra parte, se expresan los recuentos de los tres tipos de microorganismos estudiados a lo largo del curso de la fermentación y se refieren exclusivamente a los ensilados de excelente calidad (tipos 3 y 5).

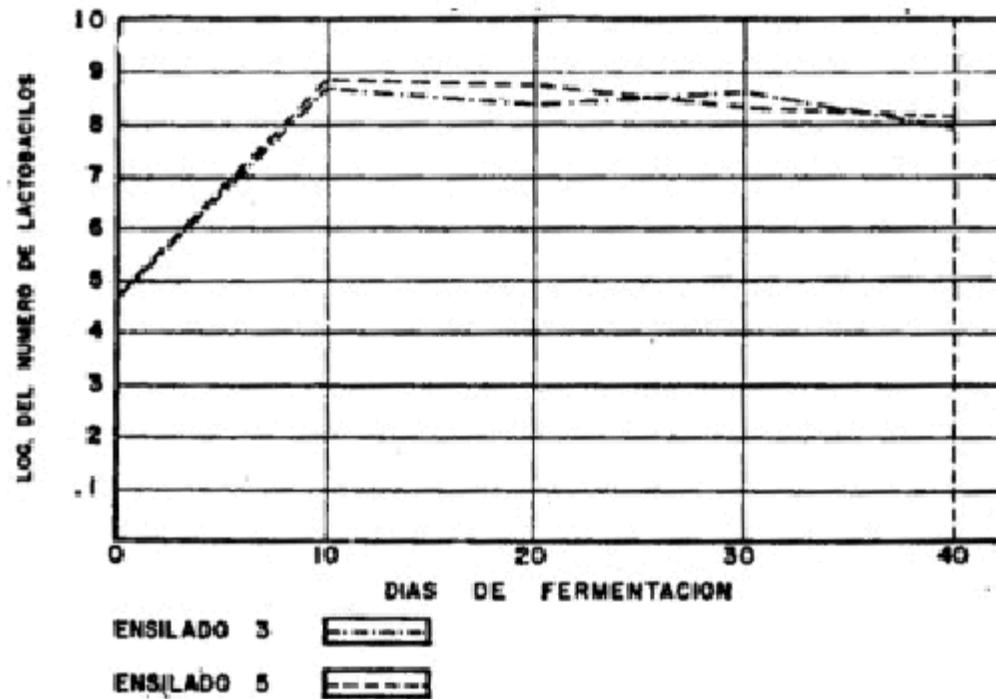


Fig. 2: Cuenta de lactobacilos.

Una vez clasificados microbiológicamente los ensilajes estudiados, se procedió al estudio químico fundamental o sea el establecimiento de la relación nitrógeno amoniacal/nitrógeno total, pH y presencia de ácidos láctico y butírico y los resultados se suman en las Tablas 2 y 3. Como puede verse, los ensilados 3 y 5, considerados como excelentes desde el punto de vista microbiológico, y los ensilajes 1 y 2 clasificados como intermedios, presentaron una relación nitrógeno amoniacal/nitrógeno total muy baja (5.1-6.9%) en tanto que en los de mala calidad microbiológica (ensilajes 4 y 6) esta relación fue alta (17.9-20.2%). Los pH fueron más bajos en los de buena calidad microbiológica. En todos los ensilajes se demostró la presencia de ácido láctico y la ausencia de butírico, excepto en uno de los de mala calidad en el que apareció butírico y no láctico.

Correlacionando los datos microbiológicos y químicos antes mencionados (Tabla 4) es posible establecer que la buena calidad de los ensilados de maguey en las condiciones estudiadas se puede asociar con los valores siguientes: pH ácido en torno a 4.0, baja relación nitrógeno amoniacal/nitrógeno total en torno a 5-6%, presencia de ácido láctico, escasez de anaerobios esporulados y ausencia de ácido butírico. Lo contrario ocurrió con los ensilados de mala calidad: pH alcalino, alta relación nitrógeno amoniacal/nitrógeno total, altas cifras de anaerobios esporulados y presencia de ácido butírico.

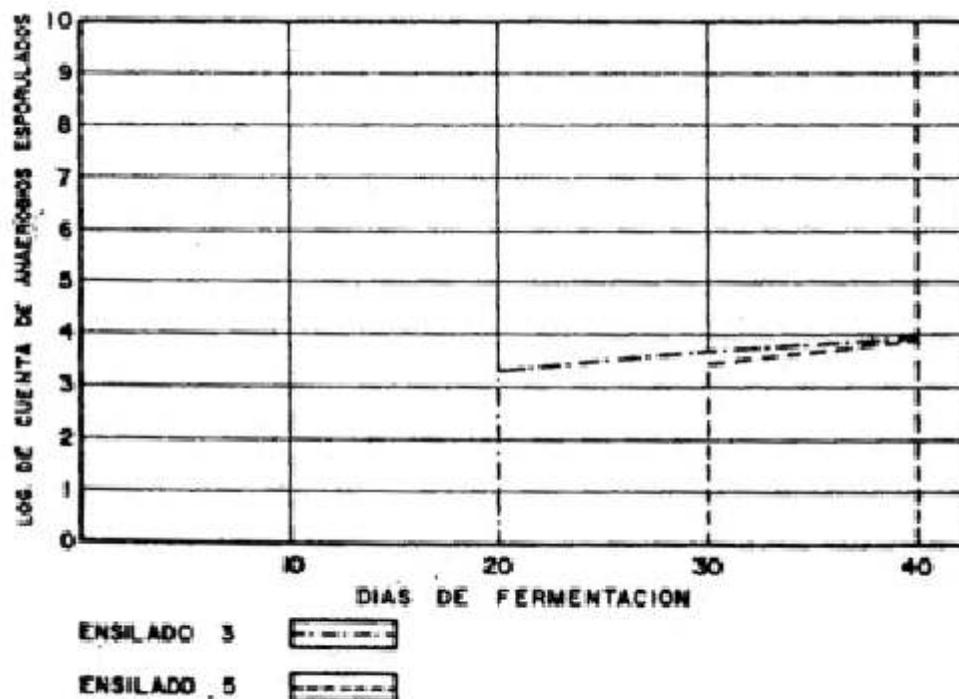


Fig. 3: Cuenta de anaerobios esporulados.

Por último, en la Tabla 5 se indican otros datos químicos de esos mismos seis tipos de ensilados, con el propósito de llegar a fijar sus cualidades bromatológicas. Como éstas dependen de otros factores que los puramente químicos, no pretendemos derivar ninguna conclusión definitiva en tanto no se realicen experimentos de tipo biológico. Puede apreciarse, en términos generales, que aún los ensilados que hemos considerado de excelente calidad técnica, adolecen del inconveniente bromatológico de que la proteína es baja. Esto se pretende corregir mediante la adición de levadura residual de la industria del pulque y por otros recursos que están ahora en experimentación y cuyos resultados se consignarán en otro trabajo (Sánchez Marroquín, A., C. Larios y P. Fernández. *Rev. Soc. Quím. México*, 1965), así como un procedimiento microbiológico para garantizar la supresión de saponinas dañinas.

En suma, los resultados presentados en este trabajo preliminar sugieren que es posible ensilar, con buenos resultados, la hoja y el mezontete del maguey, especialmente si se añade paja de cereales a los silos con el propósito de reducir la humedad y disminuir la relación de nitrógeno total a nitrógeno amoniacal o se corrige el ensilado mediante la adición de sales o azúcares o aún de microorganismos seleccionados como se indicará en otro trabajo.

En cambio, la adición de ciertos correctores como el Spurosil no parece presentar ninguna ventaja apreciable, sino por el contrario, puede hasta causar cambios desfavorables en la fermentación.

Los dos mejores ensilados (tipos 3 y 5) correspondieron a la hoja de maguey adicionada de paja de cebada y NaCl, fermentada durante 30-40 días a temperatura del laboratorio.

#### SUMMARY

A study of Agave leaves silage is presented in this paper.

Best results were obtained when 30% barley straw and 0.15% NaCl were added and then fermented under anaerobic conditions during 30-40 days in small laboratory silos.

Under the conditions of the experiments best quality appeared related to low pH values ( $\pm$  4.0), low ammonia nitrogen/total nitrogen ratio (5.1 – 6.9%) and absence of butiric acid and sporulated anaerobes.

Other chemical aspects were studied and data shown in Table 5.

T A B L A 1  
RECuentos Microbiológicos en los ensilados seleccionados

Ensilados representativos	Días de fermentación	Anaerobios totales	Lactobacilos	Anaerobios esporulados
1	0	5 000	50	0
	10	500 000	650 000	0
	20	450 000	600 000	0
	30	150 000	150 000	40
	40	30 000	70 000	40
2	0	5 000	50	0
	10	700 000	65 000	0
	20	450 000	700 000	0
	30	250 000	350 000	25
	40	20 000	100 000	50
3	0	5 000	50	0
	10	700 000	500 000	0
	20	350 000	350 000	2
	30	300 000	400 000	5
	40	6 000	80 000	9
4	0	6 000	5	0
	10	800 000	2 000 000	40
	20	500 000	1 500 000	60
	30	150 000	500 000	80
	40	20 000	50 000	60
5	0	5 000	50	0
	10	800 000	650 000	0
	20	750 000	600 000	0

	30	750 000	500 000	3
	40	3 000	150 000	8
	0	6 000	6	0
	10	950 000	1 500 000	2
6	20	700 000	1 200 000	50
	30	100 000	300 000	500
	40	25 000	30 000	1 600

T A B L A 2  
RELACIÓN NITRÓGENO AMONIACAL/ NITRÓGENO TOTAL Y pH EN LOS 6 ENSILADOS REPRESENTATIVOS

	1%	2%	3%	4%	5%	6%
Nitrógeno amoniacal	0.0095	0.0075	0.0051	0.019	0.0043	0.017
Nitrógeno total	0.146	0.122	0.099	0.106	0.062	0.084
% de nitrógeno amoniacal respecto a nitrógeno total	06.5	6.14	5.15	17.9	6.93	20.23
pH	4.6	4.7	3.9	5.9	4.0	7.4

T A B L A 3  
PRESENCIA DE ÁCIDOS LÁCTICO Y BUTÍRICO EN LOS ENSILADOS

Ensilaje	Acido Láctico	Acido Butírico	Rf	
			Ác. Láctico	Ác. Butírico
1	+	-	0.56	-
2	+	-	0.56	-
3	+	-	0.56	-
4	+	-	0.56	-
5	+	-	0.56	-
6	-	+	-	0.52

T A B L A 4  
CLASIFICACIÓN DE LOS ENSILAJES AL FINAL DE LA FERMENTACIÓN SEGÚN LOS DATOS MICROBIOLÓGICOS Y QUÍMICOS

Ensilados representativos	Anaerobios totales	Lactobacilos	Anaerobios esporulados	Relación amoniacal/nitrógeno total	pH	Calidad del producto
1	30 000	70 000	60	6.5 %	4.6	Intermedia
2	20 000	100 000	50	6.14 %	4.7	Intermedia
3	6 000	80 000	9	5.15 %	3.9	Buena
4	20 000	50 000	60	17.9 %	5.9	Mala
5	3 000	150 000	8	6.93 %	4.0	Buena
6	25 000	30 000	1 600	20.23 %	7.4	Mala

T A B L A 5  
OTROS DATOS QUÍMICOS DE LOS 6 ENSILADOS REPRESENTATIVOS

DETERMINACIONES	1	2	3	4	5	6
HUMEDAD %	89.45	91.25	89.31	86.15	91.95	87.67
CENIZAS %	1.55	1.11	1.27	1.39	0.90	1.48
EXTRACTO ETereo %	0.119	0.1208	0.098	0.199	0.134	0.203
EXTRACTO NO NITROGENADO %	5.38	4.32	5.90	8.38	4.74	6.44
FIBRA CRUDA %	2.75	2.48	2.93	3.33	1.91	3.78
pH	4.6	4.7	3.9	5.9	4.0	7.4
ACIDEZ TOTAL EN Ác. Láctico %	0.31	0.35	0.38	0.27	0.35	0.018
ACIDEZ FIJA EN Ác. Láctico %	0.25	0.31	0.46	0.295	0.212	0.018
ACIDEZ VOLATIL EN Ác. Acético %	0.032	0.05	0.041	0.086	0.099	No tiene
PROTEINA %	1.35	1.39	1.63	0.97	1.93	0.87

#### REFERENCIAS

- <sup>1</sup> ALLEN, L. A., HARRISON, J., WATSON, S. J. y FERGUSON, W. S. 1937. A study of the chemical changes and bacteriological changes occurring in grass silage. *Jour. Agr. Sci. (England)*, 27: 271-293.
- <sup>2</sup> BARNETT, A. J. G. 1954. Silage Fermentation. Academic Press, Inc., New York.
- <sup>3</sup> BEYNUM, J. VAN y PETTE, J. W. 1936. Buttersauregärung und Michsauregärung im silofutter. *Zentbl. f. Bakt. Abt.*, 11, 94: 413-433.
- <sup>4</sup> BURKEY, L. A., KROULIK, J. T., BRYANT, M. P. y WISEMAN, H. G. 1953. Bacterial activity in forage crop silage as indicated by the predominant groups on species of bacteria at different periods of storage. *U. S. Dept. Agr. Bur. Dairy Indust.*, BDI-Inf - 154, 8 págs .
- <sup>5</sup> BRYANT, M. P. y BURKEY, L. A. 1953. Cultural methods and some characteristics of some of the more numerous groups of bacteria in the bovine rumen. *Jour Dairy Sci.*, 36: 205-217, ilus.
- <sup>6</sup> HUNGATE, R. E. 1950. The anaerobic mesophilic cellulolytic bacteria. *Bact. Rev.*, 14: 1-49.
- <sup>7</sup> HUNTER, O. W. 1918. Bacteriological studies on alfalfa silage. *Jour. Agr. Res.*, 15: 571-592.

- <sup>8</sup> Inst. Mex. de Invest. Tecnológicas. 1958. Informe acerca del ensilado de hojas de maguey. Banco de México. México, D. F.
- <sup>9</sup> KENNEDY, E. P. y BARKER, H. A. 1951. *Analytical Chemistry*, 23: 1033.
- <sup>10</sup> KROULIK, J. T., BURKEY, L. A. y WISEMAN, H. C. 1955. The microbial populations of the green plant and of the cut forage prior to ensiling. *Jour. Dairy Sci.*, 38: 256-262.
- <sup>11</sup> ORLA-JENSEN, S., ORLA JENSEN, A. D. y KJAER, AGNETE. 1947. On the ensiling of lucerne by means of lactic acid fermentation. *Antonie van Leeuwenhoek*. 12: 97-114.
- <sup>12</sup> ROCOSA, M., MITCHELL, J. A. y WISEMAN, R. F. 1951. A selective medium for the isolation and enumeration of oral and fecal Lactobacilli. *Jour. Bact.*, 62: 132-133.
- <sup>13</sup> SÁNCHEZ-MARROQUÍN, A. 1961. Principios de Microbiología Industrial. Editorial Química, S. A. México, D. F.
- <sup>14</sup> STARK, J. B. 1951. Paper Chromatography of organic acids. *Analytical Chemistry*, 23: 413-415.
- <sup>15</sup> STIRLING, A. C. 1951. Bacterial changes in experimental laboratory silage. *Soc. Appl. Bact. Proc.*, 14. 151-156.
- <sup>16</sup> STONE, R. W. BEDCHDEL, S. I. y McAULIFFE, H. D. 1943. The fermentation of alfalfa silage. *Pa. Agr. Expt. Sta. Bull.*, 444, 17 págs.
- <sup>17</sup> VIRTANEN, A. I. 1933. The A. I. V. method of preserving fresh fodder. *Empire Jour. Expt. Agr.*, 1: 143-155.