

Efecto del agregado de urea y de la molienda sobre la conservación del poroto de soja con humedad intermedia

Effect of adding urea and grinding on the conservation of intermediate-moisture soybean

Astigarraga¹, L., Bianco, A., Colzada, E. y Juanicotena, A.

Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía, Universidad de la República, Montevideo, Uruguay.

Resumen

El objetivo del trabajo fue evaluar el agregado de urea y el efecto de la molienda en la conservación anaeróbica del poroto de soja con humedad intermedia. Se utilizó una soja de ciclo largo (5,6) en siembra de primera (28 de octubre de 2004) y en siembra de segunda (8 de diciembre de 2004), cosechada el 15 de abril de 2005. Los tratamientos consistieron en un arreglo factorial de tres variables con dos niveles por variable (nivel de humedad, con o sin urea, entera o molida) y tres repeticiones por tratamiento. Los niveles de humedad fueron 12 y 19% para el poroto seco y húmedo respectivamente; la molienda fue en partículas de 1 cm de tamaño y el agregado de urea a razón de 3% (base seca). Se confeccionaron microsilos, cerrados herméticamente, de 13,5 kg en promedio. Pasados tres meses, fueron abiertos y se analizó su composición química y los parámetros de conservación. El poroto de soja con humedad intermedia (19%) presentó parámetros de conservación que hacen suponer un calentamiento de este material por la actividad microbiana. En este sentido, al destapar este material, se constató la presencia del desarrollo visible de hongos. El agregado de urea al poroto de soja con humedad intermedia no evitó el calentamiento del material si se lo evalúa a partir de la relación NIDA/N total, pero inhibió el desarrollo visible de hongos con respecto al mismo material sin urea. A su vez, el agregado de urea aumentó el contenido de N total (explicado por el NNP) y disminuyó la solubilidad de la fracción proteica disponible (B) posiblemente por el incremento del N asociado a la pared celular (NIDN). La molienda del poroto de soja con humedad intermedia y con agregado de urea, mejoró los parámetros de conservación (NIDA/N total) en comparación al mismo material con urea pero sin moler, posiblemente por una acción más rápida de la amonificación por acción de las ureasas de la soja sobre la hidrólisis de la urea incorporada. A su vez, este fenómeno habría modificado también la solubilidad de la fracción proteica, aumentando la proteína soluble en relación a la proteína total. Se concluye que el agregado de urea y la molienda del poroto de soja con humedad intermedia permiten una buena conservación del material en condiciones de anaerobiosis.

Palabras clave: soja, conservación, microsilos, nitrógeno.

Recibido: febrero 2011

Aceptado: octubre 2011

1. Departamento de Producción Animal y Pasturas, Facultad de Agronomía- UdelaR - Avenida Garzón 780, 12900 Montevideo, Uruguay. astigarr@fagro.edu.uy

Summary

The aim of this work was to evaluate the addition of urea and the effect of grinding on the anaerobic preservation of intermediate-moisture soybean. Soybean variety used was from the five maturity group (5.6), and the first planting date was on October 28 and the second planting date was on December 8. In both cases, soybean was harvested on April 15, 2005. The treatments were applied as a factorial arrangement of three variables with two levels per variable (moisture level, with or without urea, whole or ground) and three replications per treatment. Moisture levels were 12 and 19% for wet and dry soybean respectively, particle size reduction when grinding was 1 cm, and the urea was added and mixed at a rate of 3% (dry basis). Mini-silos were prepared and weighted 13.5 kg on average. After three months, the mini-silos were opened and the chemical composition and preservation characteristics were analyzed. The intermediate-moisture soybean (19%) has an increased ADIN content which suggested the presence of indigestible Maillard products formed from excessive heating compared to dry soybean. The addition of urea did not prevent heating as the relation ADIN/ Total N was still high, but it increased total N content (explained by the NPN) and decreased the solubility of the protein fraction available (B) possibly due to the increase of N associated with the cell wall (NDIN). The grinding of intermediate-moisture soybean with added urea, improved preservation parameters (ADIN/total N) compared to the same material with urea but not ground, possibly by a more rapid ammonification by the action of the soybean ureases on the hydrolysis of urea incorporated. This effect would have also changed the solubility of the protein fraction, with an increase of the soluble protein in relation to total protein. We conclude that the addition of urea and grinding allow good preservation of intermediate-moisture soybean in anaerobic conditions.

Key words: soybean, preservation, minisilos, nitrogen.

Introducción

El poroto de soja como alimento para el ganado lechero posee características interesantes debido a su elevado aporte de energía (proveniente principalmente de lípidos) y de proteína, conteniendo además aminoácidos generalmente limitantes en la dieta de las vacas lecheras como lo son la lisina y la metionina (Santos et al., 1998; Gallardo et al., 2006).

En general, el poroto de soja se comercializa para la producción de aceite y de harina vegetal, pero pueden existir determinadas circunstancias en las que pueda ser interesante utilizarlo directamente para la alimentación animal. Por ejemplo, en los casos en los que se quisiera realizar un control de gramilla durante el verano en un área del predio, podría utilizarse un material RR, cosechando tempranamente el cultivo y liberando así la chacra para las siembras de otoño. De ahí el interés de ajustar métodos de conservación en el predio, de la soja con niveles de humedad

aún elevados para su conservación como poroto seco (Casini, 2005).

Las alternativas para la conservación de grano húmedo con destino a la alimentación animal se basan en mantener el valor nutritivo, minimizando los procesos de degradación o el ataque de organismos no deseados, como los hongos (Chalkling, 2009).

El método más frecuente de conservación del grano húmedo a nivel predial consiste en el uso de bolsas plásticas herméticas (silobag). Cuando los granos presentan humedades elevadas (23 y 40%), la conservación es garantizada por la reducción del pH (valores entre 4 y 4,5). Sin embargo, en los materiales que presentan una humedad menor, este método puede no ser eficaz ya que se requiere un mínimo de humedad para el crecimiento de las bacterias lácticas (Boudra, 2002).

Otra alternativa de conservación para los granos con menor contenido de humedad es por amonificación alcanzando un pH elevado (entre 8 y 9) que inhibe el crecimiento micro-

biano (Bothast et al., 1973; McDonald et al., 1991). Este efecto es provocado por la liberación de nitrógeno amoniacal a partir del agregado de urea, impidiendo el crecimiento de hongos y manteniendo el grano en condiciones adecuadas para la suplementación (Russell et al., 1988; Pordomingo et al., 2002a,b).

Este trabajo tiene como objetivo evaluar el agregado de urea y el efecto de la molienda del poroto de soja cosechado con una humedad intermedia sobre la conservación en condiciones anaeróbicas.

Materiales y Métodos

La soja fue colectada en un establecimiento localizado en el paraje "Piedra Chata", departamento de Colonia, Uruguay. La variedad de soja utilizada fue del grupo 5,6 (ciclo largo) y fue sembrada en dos fechas diferentes: soja de primera sembrada el 28 de octubre y soja de segunda sembrada el 8 de diciembre. La cosecha se realizó el 15 de abril de 2005. Dicha fecha fue determinada en función del contenido de humedad de la soja de la chacra de siembra de primera, que se encontraba con la humedad adecuada para la cosecha como grano seco. La soja de la chacra en siembra de segunda, cosechada el mismo día que la soja de primera, presentaba aún un valor de humedad mayor al recomendado para la conservación como grano seco (Casini, 2005).

Los tratamientos consistieron en un arreglo factorial de tres variables (humedad, agregado de urea y molienda) con dos niveles por variable y tres repeticiones por tratamiento (Cuadro 1).

Para el molido del poroto de soja se utilizó un molino Willey con tamiz de 1 cm y se consideraron molidas todas aquellas partículas que pasaban por el tamiz. Por último el agregado de urea (urea comercial con un contenido de N de 46%) se realizó mezclando a mano la misma con el material de manera uniforme, a razón de 2,9 a 3,3% de MS para el tratamiento seco y húmedo respectivamente. Inmediatamente fueron construidos los microsilos experimentales, en recipientes plásticos de 20 litros conteniendo una bolsa de nylon grueso por dentro, donde se colocaba cada uno de los distintos materiales y luego se cerraba herméticamente, extrayendo previamente el aire. Las muestras pesaron en promedio 13,5 kg aproximadamente. Tres meses más tarde, los microsilos fueron abiertos y se extrajo una muestra representativa que fue guardada en freezer a -20 °C hasta su posterior análisis en el laboratorio. En el Laboratorio de Nutrición Animal de la Facultad de Agronomía, las muestras fueron molidas utilizando un tamiz de malla de 1 mm. Se determinó el contenido de materia seca (MS) por secado a 105 °C, el contenido de cenizas (C) en un horno de mufla a 550 °C durante 3 horas y nitrógeno total (N total) por Kjeldahl según

Cuadro 1: Descripción de los tratamientos.

Table 1: Treatments description.

	Sin urea		Con urea	
	Entero	Molido	Entero	Molido
Seco	SEs/U	SMs/U	SEc/U	SMc/U
Húmedo	HEs/U	HMs/U	HEc/U	HMc/U

AOAC (1990). Los contenidos de fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA) y lignina detergente ácido (LDA) fueron determinados con tecnología Ankom (Fiber Analyzer 200, Ankom Technology Corporation, Fairport, N.Y.) de forma secuencial (corregido por cenizas) y el nitrógeno insoluble en detergente ácido (NIDA) por el método de Van Soest et al. (1991), N soluble (N soluble) y N no proteico (NNP) según Licitra et al. (1996), N amoniacal por AOAC (1990) y el extracto etéreo (EE) se determinó por solubilidad en solvente orgánico (AOAC, 1990). El N amoniacal (N-NH₃) se determinó por colorimetría por el método de Chane y Marbach (1962). En base a estos datos se expresaron las diferentes fracciones nitrogenadas según el modelo Cornell Net Carbohydrate and Protein System (CNCPS) (Sniffen et al., 1992): la fracción A (NNP), la fracción B (N proteico disponible = N total - NNP - NIDA) y la fracción C (N asociado a la fracción FDA, NIDA). A su vez, en el caso de la fracción B, se estimó la fracción B1 que es el N proteico inmediatamente disponible (N proteico soluble).

El diseño experimental consistió en un factorial completo con tres variables y dos niveles por variable (seco/húmedo, entero/molido y sin urea/con urea), y tres repeticiones por tratamiento (2³tratamientos). El efecto del tratamiento se evaluó mediante ANOVA utilizando el procedimiento GLM del paquete estadístico SAS (2001). El test de comparación de medias utilizado fue el de diferencia mínima significativa ($p < 0,05$). Se realizaron contrastes ortogonales para responder las siguientes preguntas:

1 - ¿Qué efecto tiene un contenido de humedad intermedio sobre los parámetros de conservación del poroto de soja almacenado en bolsa en anaerobiosis? (comparación HEs/U vs. Ses/U)

2 - ¿El agregado de urea a la soja con humedad intermedia mejora los parámetros de conservación con respecto al mismo material

sin agregado de urea? (comparación HEc/U vs. Hes/U)

3 - ¿La molienda de la soja con humedad intermedia con urea contribuye a la conservación en comparación al mismo material sin moler con urea? (comparación HMc/U vs. HEc/U)

Resultados y Discusión

Efecto del contenido de humedad sobre la conservación del poroto de soja

Para evaluar el efecto del contenido de agua sobre la conservación del poroto de soja se compararon los tratamientos poroto húmedo entero sin urea (HEs/U) vs. poroto de soja seco entero sin urea (SEs/U) (Cuadro 2).

El contenido de humedad fue mayor en el poroto de soja húmedo (HEs/U) (18,9%) respecto al seco (SEs/U) ($p < 0,0001$), pero bajo para ser conservado adecuadamente por fermentación láctica y alto para conservarse como grano seco sin riesgo de crecimiento de hongos (Pordomingo et al., 2002a; Bianco 2007). En este sentido, un pH de casi 7 (6,96) en este tratamiento, favorece el desarrollo de enterobacterias, levaduras y hongos (Mc Donald et al., 1991; Bianco, 2007). Estos últimos presentan un requerimiento de actividad de agua (*aw*) menor que las bacterias lácticas (Boudra, 2002). De hecho, al destapar los silos experimentales del material HEs/U, se observó la presencia de un micelio blanco, evidenciando el desarrollo de hongos.

En cuanto a la composición química del poroto de soja seco (SEs/U) (12,1% de humedad), ésta coincide con lo reportado por el INRA (1989) tanto en los contenidos de cenizas, lípidos, N total, y las fracciones FDA y LDA, sin embargo el contenido de FDN es mayor pero similar a lo reportado por Gallardo et al. (2006). Variaciones en la composición química de la soja ya han sido reportadas y están asociadas a diferentes genotipos, diferentes localizaciones geográficas y diferentes condiciones ambientales (Grieshop y Fahey, 2001).

Cuadro 2: Efecto del contenido de humedad sobre la conservación del poroto de soja entero sin urea.
Table 2: Effect of moisture content on the preservation of soybean.

Composición química	Tratamientos		
	HEs/U	SEs/U	P
Humedad (% Peso Fresco)	18,93	12,13	<0,0001
pH	6,96	7,04	0,0273
Cenizas (% MS)	5,54	4,93	0,0009
EE (% MS)	20,71	19,90	0,1511
Carbohidratos estructurales (% MS)			
FDN	18,45	21,55	0,0210
FDA	7,03	9,36	0,0145
FDA/FDN (%)	38,10	43,60	0,1086
LDA	0,32	0,86	0,0045
LDA/FDN (%)	1,70	4,00	0,0016
Fracciones nitrogenadas (% MS)			
N total	6,08	6,28	0,0206
N soluble	3,77	3,34	0,0054
N soluble/N total (%)	62,03	53,17	<0,0001
NNP (A)	0,25	0,28	0,6365
NNP/N total (%)	4,10	4,50	0,6666
N-NH ₃	0,02	0,02	1
N proteico disponible (B)	5,06	5,32	0,0012
N proteico disponible soluble (B ₁)	3,52	3,06	0,0036
N proteico disponible soluble (B ₁)/N proteico disponible (B) (%)	69,51	57,14	0,0003
N no disponible (NIDA) (C)	0,76	0,62	0,0165
NIDA/N total (%)	12,57	9,95	0,0016

HEs/U: Poroto de soja húmedo entero sin urea

SEs/U: Poroto de soja seco entero sin urea

Con respecto a la composición química de la misma soja cosechada con mayor porcentaje humedad (HEs/U), ésta presenta un contenido de pared celular (FDN) menor (-3,1%) ($p=0,0210$) con respecto al material SEs/U. En este sentido, es posible que un mayor contenido de carbohidratos no estructurales (CNE) en la soja con mayor porcentaje de humedad, que disminuye en la medida que avanza la maduración (Adams et al., 1980; Liu 1997), pueda estar asociado a una disminución relativa del contenido de carbohidratos estructurales por un efecto de dilución en el total de

la materia seca. De hecho, la estimación² del contenido de CNE del poroto de soja HEs/U fue mayor que en el caso del poroto SEs/U (17,04 vs. 14,36%, respectivamente, $p=0,0491$).

Con respecto a las fracciones nitrogenadas, el contenido de N total (-0,20%, $p=0,0206$) y de N proteico disponible (B) (-0,24%, $p=0,0012$) fueron algo menores en el poroto de soja húmedo, coincidiendo con lo

² CNE: 100-cenizas -PB-FDN-EE

reportado por Beharia et al. (2009) al analizar la variación de la composición química del poroto de soja durante la maduración. Según estos autores, el contenido de proteína aumenta mientras que el contenido de lípidos tiende a disminuir levemente con el avance de la maduración, aunque en este estudio el contenido de lípidos fue similar entre HEs/U y SEs/U ($p=0,1511$). La proteína de la soja esta compuesta por una fracción soluble de menor peso molecular (Liu, 1997) que disminuye con el avance de la madurez (N soluble/N total 62,03 vs. 53,17% en HEs/U y SEs/U respectivamente, $p<0,0001$), sin embargo la cantidad de NNP, expresada como porcentaje del N total, permanece sin cambios durante la fase final de la maduración (NNP/N total 4,10 vs. 4,50% para HEs/U y SEs/U respectivamente, $p=0,6666$) (Krober y Gibbons 1962; Rubel et al., 1972).

Con respecto al N ligado a la FDA (NIDA), éste es mayor en el tratamiento HEs/U (+0,14%, $p=0,0165$) y expresado como NIDA/Ntotal, esta relación alcanza 12,57% ($p=0,0016$). Según Van Saun (2007), valores menores a 10-12% estarían asociados a una buena conservación, mientras que valores mayores indicarían que hubo un daño de la proteína bruta por calentamiento del material (reacción de Maillard) (Van Soest, 1994). Este N asociado a la fracción FDA es prácticamente no utilizable por el animal ya que el complejo que se crea (proteína-carbohidrato) no es reversible al pH intestinal (Van Soest, 1994). Este resultado, asociado a la presencia de desarrollo fúngico en este tratamiento, lleva a pensar que la conservación de este material no fue la adecuada: el contenido de humedad favoreció el calentamiento y el desarrollo de hongos (Oude et al., 2001; Boudra, 2002), lo cual podría estar asociado a la acumulación de micotoxinas del material (Pordomingo et al., 2002a).

Efecto del agregado de urea sobre la conservación del poroto de soja húmedo entero

Para evaluar el efecto del agregado de urea sobre la conservación del poroto de soja húmedo se contrastaron los tratamientos poroto de soja húmedo entero con urea (HEc/U) vs. poroto de soja húmedo entero sin urea (Hes/U), (Cuadro 3).

El poroto de soja entero con urea (HEc/U) presentó un contenido de humedad similar al mismo material sin urea (Hes/U) ($p=0,3750$). Sin embargo, el pH alcalino alcanzado en este tratamiento (9,86), característico de la conservación por amonificación (Russell et al., 1988; Pordomingo et al., 2002a,b; Chalkling, 2009), evidencia el efecto de la presencia de amonio resultante de la hidrólisis de la urea sobre la conservación.

El poroto de soja húmedo entero con urea (HEc/U) presentó mayor contenido de pared celular (FDN) (+9,65%, $p<0,0001$) que el poroto de soja húmedo entero sin urea (Hes/U). Sin embargo, los contenidos de lignocelulosa (FDA) y de lignina (LDA) fueron similares en ambos tratamientos (7,70 y 0,28% en promedio para FDA y LDA, respectivamente). El incremento del contenido de FDN al conservar grano húmedo por medio del agregado de urea ha sido reportado en la bibliografía (Juan et al., 2002). Este aumento se puede deber al incremento de NIDN (nitrógeno insoluble en detergente neutro) asociado a la fracción FDN (Krishnamoorthy et al., 1982; Van Soest, 1994; Lines y Weiss, 1996), aunque el NIDN no fue analizado en este trabajo. Parecería que este aumento de la FDN sea debido a la unión del N a la hemicelulosa. Para que esta reacción ocurra debe haber calentamiento (Van Soest, 1994), hecho que podría haberse producido si se analizan los contenidos de NIDA/N total: los valores similares de NIDA (12,57 y 11,9% para HEc/U y Hes/U, $p=0,3292$), podrían ser un indicador

Cuadro 3: Efecto del agregado de urea sobre la conservación del poroto de soja húmedo.**Table 3:** Effect of adding urea on the preservation of intermediate-moisture soybean.

Composición química	Tratamientos		
	HEc/U	HEs/U	P
Humedad	18,70	18,93	0,3750
pH	9,86	6,96	<0,0001
Cenizas (% MS)	5,33	5,54	0,1800
EE (% MS)	18,31	20,71	0,0004
Carbohidratos estructurales (% MS)			
FDN	28,01	18,45	<0,0001
FDA	8,36	7,03	0,1676
FDA/FDN (%)	29,85	38,10	0,0342
LDA	0,24	0,32	0,6581
LDA/FDN(%)	0,80	1,70	0,1840
Fracciones nitrogenadas (% MS)			
N total	7,22	6,08	<0,0001
N soluble	2,98	3,77	<0,0001
N soluble/N total (%)	41,27	62,03	<0,0001
NNP (A)	1,46	0,25	<0,0001
NNP/N total (%)	20,23	4,10	<0,0001
N-NH ₃	1,28	0,02	<0,0001
N proteico disponible (B)	4,89	5,06	0,0089
N proteico disponible soluble (B ₁)	1,51	3,52	<0,0001
N proteico disponible soluble (B ₁)/N proteico disponible (B) (%)	30,97	69,51	<0,0001
N no disponible (NIDA) (C)	0,86	0,76	0,0445
NIDA/N total (%)	12,57	11,96	0,3292

HEc/U: Poroto de soja húmedo entero con urea

HEs/U: Poroto de soja húmedo entero sin urea

de calentamiento como ya se comentó en el punto anterior al analizar la conservación del material HEs/U.

Con respecto a las fracciones nitrogenadas, el agregado de urea en el tratamiento HEc/U aumentó el contenido de N total (+1,14%, $p=0,0001$) en acuerdo con lo reportado por varios autores (Russell et al., 1988; Lines y Weiss 1996; Pordomingo et al., 2002a,b, Juan et al., 2002), asociado a un aumento del NNP (+1,21%, $p<0,0001$) explicado principalmente por el aumento del contenido de N-NH₃ (+1,26%, $p<0,0001$) en este

tratamiento. Este efecto está asociado a la hidrólisis de la urea, mientras que la disminución del contenido de N soluble (-0,79%, $p<0,0001$) estaría asociada al incremento de la fracción NIDN que se habría producido en este tratamiento (Lines et al., 1996), disminuyendo a su vez la fracción N proteico disponible soluble (B₁)/N proteico disponible (B) (-38,54%, $p<0,0001$). El incremento del NIDN pudo deberse al aumento de la temperatura que produce un incremento del nitrógeno asociado a FDN (desnaturalización de la proteína,) pero no necesariamente del N

ligado a la FDA (NIDA) (reacción de Maillard) (Van Soest, 1994). Es posible que en este tratamiento, la amonificación haya sido más lenta, con un aumento de temperatura en la etapa inicial (Pordomingo et al., 2002b) que puede haber actuado sobre la solubilidad de la proteína. El N como NIDN es degradable por los microorganismos del rumen (Krishnamoorthy et al., 1982), con una tasa de degradación menor (Van Soest, 1994; Thanh Tham

et al., 2008).

Efecto de la molienda sobre la conservación del poroto de soja húmedo con urea

El efecto de la molienda sobre la conservación del poroto de soja húmedo con urea se evaluó comparando los tratamientos poroto de soja húmedo molido con urea (HMc/U) vs. poroto de soja húmedo entero con urea (HEc/U), Cuadro 4.

Cuadro 4: Efecto del procesamiento sobre la conservación del poroto de soja húmedo con urea.

Table 4: Effect of grinding on the preservation of intermediate-moisture soybean with urea.

Composición química	Tratamientos		
	HMc/U	HEs/U	P
Humedad	20,87	18,70	< 0,0001
pH	9,86	9,86	0,9238
Cenizas (% MS)	5,24	5,33	0,5420
EE (% MS)	18,93	18,31	0,2660
Carbohidratos estructurales (% MS)			
FDN	20,21	28,01	<0,0001
FDA	6,49	8,36	0,0417
FDA/FDN (%)	32,14	29,85	0,4878
LDA	0,25	0,24	0,9112
LDA/FDN (%)	1,26	0,80	0,4406
Fracciones nitrogenadas (% MS)			
N total	7,69	7,22	<0,0001
N soluble	4,12	2,98	<0,0001
N soluble/N total (%)	53,67	41,27	<0,0001
NNP (A)	1,63	1,46	0,0234
NNP/N total (%)	21,27	20,23	0,2736
N-NH ₃	1,56	1,28	<0,0001
N proteico disponible (B)	5,51	4,89	<0,0001
N proteico disponible soluble (B ₁)	2,49	1,51	<0,0001
N proteico disponible soluble (B ₁)/N proteico disponible (B) (%)	45,22	30,97	<0,0001
N no disponible (NIDA) (C)	0,55	0,86	<0,0001
NIDA/N total (%)	7,10	11,97	<0,0001

HMc/U: Poroto de soja húmedo molido con urea

HEc/U: Poroto de soja húmedo entero con urea

El contenido de humedad del poroto molido con urea (HMc/U) es significativamente superior al del poroto de soja sin moler (HEc/U) (+2,17%, $p < 0,0001$), ya que la molienda aumenta la higroscopicidad (Cardoso et al., 2007). El pH alcanza un valor propio de la amonificación y es similar entre tratamientos.

Con respecto a las fracciones de la pared celular, los contenidos de FDN (-7,80%, $p < 0,0001$) y de FDA (-1,87%, $p = 0,0417$) fueron menores en el caso de HMc/U. Este resultado estaría evidenciando que en el caso del material HMs/U, la conservación no afectó la composición relativa de la pared celular, por lo cual se podría pensar que en este caso prácticamente no hubo calentamiento por la actividad de microorganismos. En este sentido, la relación NIDA/N total fue similar a la hallada en el material seco (SEs/U) ($p = 0,0009$). Las ureasas presentes en el poroto de soja pueden haber promovido una rápida conversión de la urea en NH_3 (Jayasuriya y Pearce 1983; Kraidees, 1997), al facilitar el contacto con el sustrato por medio de la molienda. Ello puede haber conducido a que se alcanzara rápidamente un valor alto de pH (9.86), evitando el calentamiento del material y por lo tanto su deterioro (Makkar y Singh, 1987).

Con respecto a las fracciones nitrogenadas, el contenido de N total es mayor en HMc/U (+0,47%, $p < 0,0001$) explicado en parte por el aumento del NNP (+0,17%, $p = 0,0234$) asociado al aumento del contenido de N- NH_3 (+0,28%, $p < 0,0001$), debido a la hidrólisis de la urea agregada (Russell et al., 1988; Lines y Weiss, 1996) y en parte por el contenido de N proteico disponible (B) que también aumentó en este tratamiento (+0,62%, $p < 0,0001$). En particular, el contenido de proteína verdadera (B) del tratamiento HMc/U es mayor al contenido del poroto seco entero sin urea (SEs/U) (5,51 vs. 5,32%, $p = 0,0104$). Sin embargo, el agregado de urea no incrementa el contenido de proteína verdadera como lo explica Van Soest (1994), por lo que esta variación podría ser atribuida a un menor contenido de NIDA (N proteico no disponible) en comparación al material HEc/U. El cambio, mayor en términos

relativos en la fracción proteica, es el incremento de la proporción de la fracción soluble (B1) (45,22 vs. 30,97% para HMc/U y HEc/U, respectivamente, $p < 0,0001$). En este sentido, es posible que las ureasas del poroto de soja hayan tenido también un efecto sobre la solubilidad de la proteína disponible (Nsoluble/N total 53,67 vs. 41,27% para HMc/U y HEc/U respectivamente, $p < 0,0001$) (Williams et al., 1984).

Conclusiones

El poroto de soja con humedad intermedia (19%) presentó parámetros de conservación que hacen suponer un calentamiento de este material por la actividad microbiana. El agregado de urea (3% MS) no evitó el calentamiento de este material si se lo evalúa a partir de la relación NIDA/N total, pero aumentó el contenido de N total (explicado por el NNP) y disminuyó la solubilidad de la fracción proteica disponible (B), posiblemente por el incremento del N asociado a la pared celular (NIDN). La molienda mejoró los parámetros de conservación (NIDA/N total) en comparación al mismo material con urea pero sin moler, por una acción más rápida de la amonificación por acción de las ureasas presentes en la soja y a su vez, modificó la solubilidad de la fracción proteica, aumentando la proteína soluble en relación a la proteína total.

Bibliografía

- Adams, C.A., Rinne, R.W. and Fjerstad, M.C. 1980. Starch deposition and carbohydrate activities in developing and germinating soya bean seeds. *Ann. Bot.* 45: 577-582.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th. ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA, USA.
- Beharia, B., Behtari, B. and Abadiyanc, H. 2009. Quality and quantity responses of soybean (*Glycine max* L.) seeds to water deficit. In Conference on International Research on Food Security, Natural Resource Management and Rural Development, University of Hamburg. Germany, Oct. 6-8, 2009.

- Bianco, A. 2007. El ensilado de grano húmedo: Criterios de calidad. (en línea). Montevideo, Uruguay. <http://www.gidesporc.com.ar/Curso%20pre-evento%201%20-%20Criterios%20de%20calidad%20de%20alimentos%20y%20su%20implicancia%20en%20la%20salud%20animal%20y%20humana.pdf>
- Bothast, R.T., Lancaster, E.B. and Hesseltine, C.W. 1973. Ammonia kills spoilage molds in corn. *J. Dairy Sci.* 56: 241-253
- Boudra, H. 2002. La contamination par les moisissures et les mycotoxines des fourrages conservés. Signification et prévention (en línea). In *Recueil des exposés de la réunion des Echerolles, Comité des Plastiques en Agriculture*. INRA Theix. Allier, France, Juin 4: <http://www.plastiques-agriculture.com/recueil/echerolles/7.pdf>.
- Cardoso, M., Bartosik, R. y Rodriguez, J. 2007. Estudio de la evolución de la humedad de los granos individuales en silo-bolsas de maíz y soja. (en línea). Cuencarural/Agricultura. Buenos Aires, Argentina. http://www.cuencarural.com/agricultura/estudio_de_la_evolucion_de_la_humedad_de_los_granos_individuales_en_silo_bolsas_de_maiz_y_soja/
- Casini, C. 2005. Guía para almacenar granos en bolsas plásticas (en línea). In *Actualización Técnica PRECOP No. 8, Proyecto Eficiencia de Cosecha y Postcosecha de Granos*. INTA EEA Manfredi, Argentina: http://www.inta.gov.ar/manfredi/info/precop/precop_pdf/Actuateg8.pdf
- Chalkling, D. 2009. Ensilaje de grano húmedo (en línea). Convenio: INIA-Sociedad Rural de Río Negro, Río Negro, Uruguay. http://www.produccionbovina.com/produccion_y_manejo_reservas/reservas_silos/86-grano_humedo.pdf
- Chane, A.L. and Marbach, L.P. 1962. Modified reagent for the determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8: 130-137.
- Gallardo, M., Conti, G. y Castignani, H. 2006. El poroto de soja: un recurso interesante para reemplazar a la semilla de algodón. (en línea). INTA EEA Rafaela. Rafaela, Argentina. http://www.inta.gov.ar/rafaela/info/documentos/nutricion_porotodesoja.htm.
- Grieshop, C.M. and Fahey, G.C. 2001. Comparison of quality characteristics of soybeans from Brazil, China, and the United States. *J. Agric. Food Chem.* 49: 2669-2673.
- Institut National de la Recherche Agronomique (INRA). 1988. *Alimentation des bovins, ovins et caprins*. Ed. R. Jarrige, INRA, Paris, 471 pp.
- Jayasuriya, M.C.N. and Pearce, G.R. 1983. The effect of urease enzyme on treatment time and the nutritive value of straw treated with ammonia as urea. *Anim. Feed Sci. Technol.* 8: 271-285.
- Juan, N.A., Jouli, R.R. y Pordomingo, A.J. Utilización de grano húmedo de sorgo conservado con urea para engorde de vaquillonas. In *Conservación de grano húmedo mediante adición de urea y su utilización para engorde de vacunos*. Cap 20. Investigación en producción animal 1999-2001. Región subhúmeda y semiárida pampeana. Boletín de actualización 73. INTA EEA Anguil, Argentina. <http://www.inta.gov.ar/Anguil/info/pdfs/boletines/bol73/cap20.pdf>
- Kraidees, M. 1997. Effects of temperature, addition of soybean meal and treatment period in the nutritive value of urea treated wheat straw. *Journal of King Saud University. Agricultural Sciences*. Vol. 9(1): 73-86.
- Krishnamoorthy, U., Muscato, T., Sniffen, C. and Van Soest, P. 1982. Nitrogen fractions in selected feedstuffs. *J. Dairy Sci.* 65: 217-225.
- Krober, O.A. and Gibbons, S.J. 1962. Non protein nitrogen in soybeans. *J. Agr. Food Chem.* 10: 57-59.
- Licitra, G., Hernandez, T. and Van Soest, P. 1996. Standardization of procedures for nitrogen fractionation of ruminant feeds. *Anim. Feed Sci.* 57: 347-358.
- Lines, L.W. and Weiss, W.P. 1996. Use of nitrogen from ammoniated alfalfa hay, urea, soybean meal, and animal protein meal by lactating cows. *J. Dairy Sci.* 79 (11): 1992-1999.
- Lines, L.W., Koch, M.E. and Weiss, W.P. 1996. Effect of ammoniation on the chemical composition of alfalfa hay baled with varying concentrations of moisture. *J. Dairy Sci.* 79 (11): 2000-2004.
- Liu, K. 1997. *Soybeans: chemistry, technology and utilization*. Collection Business & Economics. Ed. Springer; 532 pp.
- Makkar, H.P.S. and Singh, B. 1987. Kinetics of urea hydrolysis and biNIDNg of ammonia to wheat straw during ammoniation by urea. *J. Dairy Sci.* 70: 1313-1317.
- Mc Donald, P., Henderson, N. and Heron, S. 1991. *The biochemistry of silage*. Ed. Chalcombe Publications. Great Britain, 342p.
- Oude Elferink, S.J.W.H., Driehuis, F., Gottschal, J.C. y Spoelstra, S.F. 2001. Los procesos de fermentación del ensilaje y su manipulación. In *Conferencia Electrónica de la FAO sobre el*

- Ensilaje en los Trópicos (1999). Uso del ensilaje en el trópico privilegiando opciones para pequeños campesinos. Ed. L. t'Mannetje. Roma, FAO. (Estudio FAO Producción y Protección Vegetal N° 161). <http://www.fao.org/DOCREP/005/X8486S/x8486s04.htm#bm04>
- Pordomingo, A.J., Jonas, O., Juan, N.A., Azcárate, M.P., Orroño, R. y Llira, A.A. 2002a. Efecto de la humedad del grano y el agregado de urea sobre la conservación alcalina del grano de maíz. *In: Conservación de grano húmedo mediante adición de urea y su utilización para engorde de vacunos. Cap 20. Investigación en producción animal 1999-2001. Región subhúmeda y semiárida pampeana. Boletín de actualización 73. INTA EEA Anguil, Argentina.* <http://www.inta.gov.ar/Anguila/info/pdfs/boletines/bol73/cap20.pdf>
- Pordomingo, A.J., Juan, N.A., Azcárate, M.P., Campagno, J.H., Madariaga, M.E. y Rodríguez, G. 2002b. Efecto de la humedad del grano y el agregado de urea sobre la conservación alcalina del grano de sorgo. Cap 20. *In: Conservación de grano húmedo mediante adición de urea y su utilización para engorde de vacunos. Investigación en producción animal 1999-2001. Región subhúmeda y semiárida pampeana. Boletín de actualización 73. INTA Anguil, Argentina.* <http://www.inta.gov.ar/Anguila/info/pdfs/boletines/bol73/cap20.pdf>
- Rubel, A., Rinne, R.W. and Canvia, D.T. 1972. Protein, oil and fatty acid in developing soybean seeds. *Crop Sci.* 12: 739-741.
- Russell, R., Lin, J., Thomas, E. and Mora, E. 1988. Preservation of high-moisture milo with urea: grain properties and animal acceptability. *J. Anim. Sci.* 66: 2131-2139.
- Santos, F.A.P. Santos, J.E.P. Theurer, C.B. and Huber, J.T. 1998 Effects of rumen-undegradable protein on dairy cow performance: a 12-year literature review. *J. Dairy Sci.* 8: 3182-3213.
- SAS Institute INC 2001. SAS/STAT Guide for Personal Computers, Version 8.2, Cary, NC, USA.
- Sniffen, C., O'Connor, J., Van Soest, P., Fox, D. and Russell, J. 1992. A net carbohydrate and protein system for evaluating cattle diets. II. Carbohydrate and protein availability. *J. Anim. Sci.* 70: 3562-3577.
- Thanh Tham, H., Van Man, N. and Preston, T. 2008. Estimates of protein fractions of various heat-treated feeds in ruminant production (en línea). Department of Animal Husbandry. Livestock research for Rural Development 20. (supplement). PERLINK"<http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd20/supplement/tham2.htm>" <http://www.cipav.org.co/lrrd/lrrd20/supplement/tham2.htm>
- Van Saun, R.J. 2007. Forage testing: how to translate numbers into actions. In *Proceedings North American Veterinary Conference, Large Animal, Vol. 21, pp. 63-66. Orlando, Florida, Jan 13-17.*
- Van Soest, P. 1994. Nutritional ecology of the ruminant. 2nd ed. Cornell University Press Ithaca, NY, USA, 476 p.
- Van Soest, P., Roberston, J. and Lewis, B. 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *J. Dairy Sci.* 74 (5): 3583-3597
- Williams, P.E.V., Innes, G.M. and Brewer, A. 1984. Ammonia treatment of straw via the hydrolysis of urea. II. Additions of soya bean (urease), sodium hydroxide and molasses; effects on the digestibility of urea-treated straw. *Anim. Feed Sci. Technol.* 11: 115-124.