

EFEITO DO TEMPO E DO TRATAMENTO TÉRMICO DOS GRÃOS DE SOJA MOÍDOS SOBRE A LIBERAÇÃO DE AMÔNIA *IN VITRO*¹

PAULO DE FIGUEIREDO VIEIRA², JANE MARIA BERTOCCHI EZEQUIEL³, MARIA CRISTINA CABRAL VILELA⁴, MAURO DAL SECCO DE OLIVEIRA, ALEXANDRE A. MORAES SAMPAIO⁵ e SÉRGIO NASCIMENTO KRONKA⁶

RESUMO - O trabalho foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP), Campus de Jaboticabal, com o objetivo de determinar os efeitos da temperatura (0,60°C, 90°C e 120°C) e do tempo de aquecimento (15,40 e 80 minutos) de grãos de soja moídos, sobre a taxa de liberação de amônia em ensaio de fermentação *in vitro*, o grau de solubilidade da proteína e a concentração de nitrogênio não-protéico. Foram utilizados seis tratamentos com três repetições em delineamento inteiramente casualizado. Os teores médios de amônia variaram de 28,82 mg a 100,68 mg de nitrogênio amoniacal/100 ml de fluido ruminal, a solubilidade da proteína de 28,60% a 31,22%, e a concentração de nitrogênio não-protéico de 0,49% a 0,62%.

Termos para indexação: amônia, *Glycine max*, degradação, fluido ruminal, temperatura.

EFFECTS OF TEMPERATURE AND HEAT TREATMENT TIME OF GROUND SOYBEANS ON THE RATE OF AMMONIA RELEASE *IN VITRO*

ABSTRACT - This research was conducted in the Laboratory of the Department of Animal Nutrition at the Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias (UNESP), "Campus", in Jaboticabal, SP, Brazil. This work aimed at determining the effects of temperature (0,60°C, 90°C and 120°C) and heat treatment time (15,40 and 80 minutes) of ground soybeans on the rate of ammonia release in an *in vitro* fermentation experiment, the rate of protein solubility and the non-protein nitrogen concentration. Six treatments with three replicates in a totally random statistical design were utilized. Ammonia contents ranged from 28.82 to 100.68 mg NH₃ - N/100 ml of ruminal liquid, the protein solubility ranged from 28.6% to 31.22%, and the concentration of non-protein nitrogen ranged from 0.49% to 0.62%.

Index terms: ammonia, *Glycine max*, degradation, ruminal fluid, temperature.

INTRODUÇÃO

Os alimentos protéicos oferecidos aos ruminantes sofrem processos de fermentação no rúmen, e a proteína pode ser intensamente degradada pelos microrganismos, dependendo, dentre outros fatores, do seu grau de solubilidade. Neste sentido, diminuir a solubilidade da proteína por aquecimento já resultou em maior retenção de N e menor digestão no rúmen da proteína oriunda da dieta (Chalmers et al. 1954, Sherrod & Tillman 1962 e Littel et al. 1963).

A proteção da fonte protéica de alta qualidade contra a degradação ruminal permitirá que maior

quantidade de proteína atinja o intestino, tornando-se disponível para a absorção, melhorando, assim, o processo de utilização.

Através do aquecimento de grãos, processo mais utilizado pelas indústrias, é possível causar coagulação das proteínas, principalmente das mais solúveis (albuminas e globulinas), diminuindo, assim, a sua solubilidade e, desta maneira, reduzir as possíveis perdas no rúmen.

Por outro lado, o aquecimento do alimento protéico, no caso o farelo de soja, pode causar uma queda significativa na digestibilidade da proteína (Tillman & Kruse 1962, Morrill et al. 1971 e Peter et al. 1971).

O presente trabalho foi conduzido com o objetivo de quantificar a taxa de liberação de amônia em ensaio de fermentação *in vitro*, o grau de solubilidade da proteína e a concentração de nitrogênio não-protéico de grãos de soja moídos sob diferentes temperaturas e tempos de aquecimento.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados grãos de soja (*Glycine max* L.) moídos em peneiras com malhas de 0,4 mm, e submetidos aos se-

¹ Aceito para publicação em 2 de maio de 1988.

² Eng. - Agr., Dr., Prof.-Adjunto, Dep. de Zoot. de Rum. e An. de Ceco Func., Fac. de Ciências Agrárias e Vet., Campus de Jaboticabal (FCAVJ) UNESP, Rodovia Carlos Tonanni, km-5, CEP 14870 Jaboticabal, SP.

³ Zoot., Dra., Dep. de Nutrição Animal e Pastagens, FCAVJ/UNESP.

⁴ Zoot., FCAVJ/UNESP.

⁵ Zoot., Prof., Dr., Dep. Zoot. de Rumin. da FCAVJ/UNESP.

⁶ Eng. - Agr., Prof., Dr., Dep. de Ciências Exatas da FCAVJ/UNESP.

guintes tratamentos: T₁ = sem aquecimento; T₂ e T₃ referentes a grãos moídos e aquecidos a 60°C durante 40 e 80 minutos, respectivamente; T₄ e T₅ correspondendo aos grãos moídos e aquecidos a 90°C, durante 40 e 80 minutos, respectivamente, e T₆ = grãos moídos e aquecidos durante 120°C durante 15 minutos.

Para os tratamentos T₂, T₃, T₄ e T₅, utilizou-se estufa com temperatura regulável até 143°C e para o tratamento T₆, o aquecimento foi feito em autoclave vertical, modelo 103-FABBE. Neste tratamento, foi necessário nova moagem dos grãos de soja, devido à formação de grânulos grosseiros após o aquecimento.

Determinação do nitrogênio não-protéico

A amostra pesando 5 g, foi colocada em erlenmeyer de 250 ml, adicionando-se 10 ml de água destilada sob agitação constante, durante dez minutos. Em seguida, permaneceu em repouso durante 30 minutos e foi misturada com 50 ml de solução TCA a 20%, sendo estocada em refrigerador, durante três horas. Foi feita filtração em papel de filtro, e do filtrado foi retirada uma alíquota de 1,0 ml para determinação do nitrogênio não-protéico, pelo método Kjeldall (Association of Official Analytical Chemists 1970), fazendo-se três repetições para cada tratamento.

Determinação da solubilidade da proteína

Pesou-se 1 g da amostra e transferiu-se para um becker de 250 ml, juntando-se 100 ml da solução de KOH 0,2%, sob agitação constante, durante 20 minutos. Em seguida, centrifugou-se a 2.700 rpm, durante 10 minutos. Do sobrenadante foram retiradas alíquotas de 1,0 ml para determinação da solubilidade da proteína, conforme Butulo (1977).

Determinação do nitrogênio amoniacal

Utilizou-se líquido ruminal de um bovino fistulado da raça Gir, que havia sido adaptado durante duas semanas com 2,0 kg de farelo de soja, diariamente. Adotaram-se intervalos de fermentação de quatro, oito e doze horas para a determinação do teor de N amoniacal, segundo método adaptado de Fenner (1965).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são mostrados os teores médios da solubilidade da proteína da soja para os diferentes tratamentos.

Observou-se que nos tratamentos onde os grãos de soja foram aquecidos (tratamentos T₂, T₃, T₄, T₅ e T₆), houve tendência de a solubilidade da proteína ser inversamente proporcional ao aumento da temperatura. No entanto, houve diferença estatística significativa ($P < 0,05$) apenas entre os tratamentos T₂ e T₃ em relação ao T₆. Era de se esperar, mesmo não havendo diferença estatística, que os grãos de soja não aquecidos tivessem solubilidade superior à dos demais tratamentos (grãos de soja aquecidos).

Resultados semelhantes foram observados por Hayward et al. (1935), ou seja, a soja aquecida a baixas temperaturas, ocorreu pouca oscilação quanto

TABELA 1. Valores médios (em percentagem) da solubilidade da proteína da soja para os diferentes tratamentos.

Tratamentos	Solubilidade da proteína
T ₁	28,60 ab*
T ₂	31,22 a
T ₃	30,06 a
T ₄	28,89 ab
T ₅	27,72 ab
T ₆	24,51 b

CV (%) = 6,43

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%.

à solubilidade da proteína, inclusive não diferindo do valor na soja crua. Por outro lado, temperaturas elevadas diminuiram a solubilidade da proteína.

Smith (s.d.) e Prasad & Morril (1976), ao submeterem a soja em autoclave, observaram diminuição significativa na solubilidade da proteína. Glimp et al. (1967) verificaram que a solubilidade da proteína de soja diminuiu de 72% para 32% quando aquecida a 149°C durante quatro horas. No presente trabalho, quando a soja foi autoclavada (tratamento T₆), a solubilidade foi de 24,51%, que comparado à média obtida no tratamento T₁ (soja crua), obteve-se o valor de 28,60%; portanto uma diminuição de 4,09 unidades percentuais ($P < 0,05$).

Na Tabela 2 são apresentados os teores de nitrogênio amoniacal (NH₃-N) das amostras submetidas a 4, 8 e 12 horas de digestão no rúmen, através de fermentação *in vitro*.

TABELA 2. Teores médios de N amoniacal da soja (NH₃-N/100 ml de líquido ruminal) após a fermentação *in vitro*.

Tratamentos	Tempo de digestão <i>in vitro</i> (horas)		
	4	8	12
T ₁	32,55	68,37 a*	100,68 a
T ₂	28,93	58,10 b	82,13 bd
T ₃	28,82	57,87 b	80,97 cd
T ₄	29,87	66,50 ab	92,17 ab
T ₅	35,12	57,40 b	75,25 d
T ₆	31,27	60,57 ab	86,80 bc

CV (%) = 7,00

* Médias seguidas de mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey a 5%.

Os teores de $\text{NH}_3\text{-N}$ no líquido ruminal após quatro horas de fermentação não variaram estatisticamente, sendo a menor e maior média de 28,82 e 35,12 mg $\text{NH}_3\text{-N}/100$ de líquido ruminal. Todavia, com oito horas de fermentação *in vitro* houve diferença estatística significativa ($P < 0,05$) entre o tratamento T_1 e os tratamentos T_2 , T_3 e T_5 . Neste sentido, o aquecimento proporcionou queda no teor médio de nitrogênio amoniacal. Após doze horas de fermentação, o aquecimento dos grãos de soja, independentemente da temperatura, proporcionou queda no teor de N amoniacal em relação ao tratamento T_1 ($P < 0,05$). O menor teor de nitrogênio amoniacal foi obtido no tratamento T_5 (90°C durante 80 minutos), cuja média foi de 75,25 mg%.

Morril et al. (1971) observaram que no farelo de soja autoclavado houve diminuição da solubilidade da proteína, dos níveis de N amoniacal no rúmen e dos níveis de N não-proteico do plasma de vacas leiteiras; entretanto, observaram aumento na retenção de nitrogênio.

No presente estudo, o aumento de temperatura de aquecimento dos grãos de soja proporcionou uma tendência em diminuir a produção de nitrogênio amoniacal, porém o simples aquecimento ou a autoclavagem ofereceu certo grau de proteção à proteína de soja, uma vez que causou queda na solubilidade da proteína. O efeito da temperatura sobre a digestibilidade e liberação da proteína no rúmen foi estudado por Broderick & Craig (1980). Estes autores verificaram que o tratamento pelo calor diminui a degradação ruminal na proteína, em parte por bloquear a extensão das reações proteolíticas microbianas, e em parte por reduzir a solubilidade proteica.

As variações nos teores de nitrogênio amoniacal foram consideradas amplas (28,82 a 100,68 mg%), porém normais, tendo em vista o intervalo de 1 a 130 mg% estabelecido por Johns (1955) e Annison (1956).

As concentrações médias de nitrogênio não-proteico (NNP) obtidas no tratamento T_6 foram significativamente superiores ($P < 0,05$) às dos demais tratamentos (Tabela 3). A maior concentração de NNP foi obtida no tratamento T_4 , mas não diferiu estatisticamente das médias obtidas nos tratamentos T_2 e T_5 . O aquecimento do grão de soja à temperatura de 90°C durante 40 minutos proporcionou menor média de NNP em relação à temperatura de 60°C durante 80 minutos ($P < 0,05$).

CONCLUSÕES

1. O aquecimento da soja a 60°C e 90°C durante 40 e 80 minutos, e a 120°C durante 15 minutos não

TABELA 3. Concentração de N não-proteico dos grãos de soja, expressos em percentagem.

Tratamentos	Valores médios	
	Nitrogênio não-proteico	
T_1	0,53 b*	
T_2	0,52 bc	
T_3	0,53 b	
T_4	0,49 c	
T_5	0,50 bc	
T_6	0,63 a	

CV (%) = 2,16

* Médias seguidas da mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Tukey a 5%.

foram eficientes para diminuir a liberação de amônia no rúmen.

2. Houve tendência de aumento da solubilidade da proteína de soja através do aquecimento, embora na mesma temperatura tenha havido tendência de diminuição com o maior tempo de aquecimento.

3. A autoclavagem dos grãos de soja proporcionou tendência em diminuir a solubilidade da proteína, além de proporcionar maior concentração de nitrogênio não-proteico.

REFERÊNCIAS

- ANNISON, E.F. Nitrogen metabolism in the sheep. Protein digestions in the rumen. *Biochim J.*, **64**:705, 1956.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, Washington, EUA. **Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemists**, 11 ed., Washington, D.C., 1970. 1015p.
- BRODERICK, G.A. & CRAIG, W.M. Effect of heat treatment on ruminal degradation and escape, and intestinal digestibility of cotton seed meal protein. *J. Nutrition*, **110**:2381, 1980.
- BUTULO, J.E. **Análise de alimentos**. Jaticabal. FCAVJ-UNESP, 1977. 56p. (mimeografado)
- CHALMERS, M.I.; CUTHBERTSON, D.P.; SYNGE, R.L.M. Ruminal ammonia formation in relation to the protein requirements of sheep. I. duodenal administration and heat processing as factors influencing fate of casein supplements. *J. Agric. Sci.*, **44**:254, 1954.
- FENNER, H. Methods for determining total volatile bases in rumen fluid by steam distillation. *J. Dairy Sci.*, **48**:249, 1965.
- GLIMP, H.A.; KARR, M.R.; LITTLE, C.O.; WOOLFOLK, P.G.; MITCHELL JUNIOR, G.E.; HUDSON, L.W. Effect of reducing soybean protein

- solubility by dry heat on the protein utilization of young lambs. **J. Animal Sci.**, **26**:858, 1967.
- HAYWARD, J.W.; STEENBOCK, H.; BOHSTEDT, G. The effect of heat as used in the extraction of soybean oil upon the nutritive value of the protein of soybean oil meal. **J. Nutrition**, **11**:219, 1935.
- JOHNS, A.T. Pasture quality and ruminal digestion. II. Levels of volatile acids and ammonia in the rumen of sheep on a high production pasture. **N.Z. J.L. Sci. Technol**, **37 A**:327, 1955.
- LITTEL, C.O.; BURROUGHS, W.; WOODS, W. Nutritional significance of soluble nitrogen in dietary proteins for ruminants. **J. Animal Sci.**, **22**:358, 1963.
- MORRIL, J.L.; MILTON, S.L.; DAYTON, A.D.; GUY, E.J.; PALLANSCH, M.J. Evaluation of milk replacers containing a soy protein concentrate and hight whey. **J. Dairy Sci.**, **54**:1060, 1971.
- PETER, A.P.; HATFIELD, E.E.; OWENS, F.N.; GARRIGUS, U.S. Effects of aldehyde treatments of soybean meal on *in vitro* ammonia release, solubility and lamb performance. **J. Nutrition**, **101**:605, 1971.
- PRASAD, D.A. & MORRIL, J.L. Effects of processing soybeans on their use by calves. **J. Dairy Sci.**, **59**:329, 1976.
- SHEROOD, L.B. & TILLMAN, A.D. Effects of varying processing temperatures upon the nutritive values for sheep of solvent-extracted soybean and cottonseed meals. **J. Animal Sci.**, **21**:901, 1962.
- SMITH, K.J. Factores que afectan la utilización de la torta de soya en raciones para rumiantes. **Soya. A.N.** **10**:210, s.d.
- TILLMAN, A.D. & KRUSE, R. Effect of gossipol and heat on the digestibility and utilization of soybean by sheep. **J. Animal Sci.**, **21**:290, 1962.