

## Comparação entre dois métodos para determinação de nitrogênio em forragem tropical<sup>1</sup>

### Comparison between two nitrogen determination methods in tropical forage<sup>1</sup>

Larissa Fernanda Garcia<sup>2</sup>, Roberta Aparecida Carnevalli<sup>3</sup>, Lidiany Sampaio Aragão<sup>4</sup>, João Carlos Magalhães<sup>5</sup>, Bruno Carneiro Pedreira<sup>5</sup>, Carol Della Giustina<sup>6</sup>

<sup>1</sup>Projeto financiado pelo CNPq-Repensa e Embrapa

<sup>2</sup>Bolsista CNPq/Embrapa, Graduação, UFMT, Sinop/MT

<sup>3</sup>Pesquisadora-Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop/MT e-mail: roberta.carnevalli@embrapa.br

<sup>4</sup>Graduação, UFMT, Sinop/MT

<sup>5</sup>Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop/MT

<sup>6</sup>Bolsista Capes, Mestrado, UFMT, Sinop/MT

**Resumo:** Quantificar os compostos nitrogenados fornecidos na dieta animal é fundamental para garantir o equilíbrio metabólico dos animais. O objetivo foi comparar os métodos de análise de N, CHNS e Kjeldahl em amostras de plantas forrageiras tropicais. Foram utilizadas amostras de plantas de milho trituradas no ponto de ensilagem com diferentes proporções de *Urochloa ruziziensis* com 4 repetições por tratamento. Além das análises químicas, foram realizadas análises da logística/rotina do laboratório e do custo operacional de cada método. A análise de regressão dos dados foi realizada utilizando-se o pacote estatístico SAS 9.2. Houve correlação linear e positiva entre os valores obtidos pelos dois métodos ( $P < 0,0001$ ). O coeficiente de correlação foi considerado alto (0,8422). O método Kjeldahl apresentou maior demanda de mão de obra efetiva, com tempo gasto de 20 horas por bateria de 40 amostras e custo operacional de R\$ 13,63/amostra. O método CHNS utilizou menos tempo gasto com mão de obra (1h/bateria de 60 amostras) e custo operacional de R\$ 11,28/amostra. Para determinação de N em forragem tropical, pode-se utilizar tanto o método Kjeldahl quanto o CHNS. O Kjeldahl possui menor custo com gasto de reagentes por amostra, porém a maior demanda de tempo com mão de obra onerou expressivamente o valor da análise. O CHNS apresentou maior rapidez e precisão na análise. A opção será dependente da disponibilidade do aparelho e da mão de obra no laboratório.

**Palavras chaves:** CHNS, Kjeldahl, silagem, plantas forrageiras, custo operacional

**Abstract:** The animal metabolic balance depends on nitrogen content in food of animal diet. The aim was compare two N analyser methods in tropical forage plants samples. It was analysed crushed corn plants in silage point in different proportions of *Urochloa ruziziensis*, with 4 replication per treatment, had gotten in another experiment. Besides the chemical analyses, it was performed laboratorial routine analysis and operating cost of each method. The data regression analysis had run in SAS 9.2 statistical programme. There was linear and positive correlation between the values of two methods ( $P < 0.0001$ ). Adjusted correlation coefficient was high (0.8422). The Kjeldahl method had higher effective manpower demand, had spent 20 hours per 40 samples and R\$ 13.63 of operational cost per sample. CHNS had spent lesser manpower time (1h/60 samples) and R\$ 11.28 of operational cost per sample. So, N determination in tropical forage may be performed as Kjeldahl method as CNHS method. Kjeldahl had lesser reagent cost per sample, but had higher manpower demand that had increased strongly the operational costs. CHNS was faster and greater precision in the analyses. The option depends on equipment and manpower availabilities in the laboratory/institution.

**Keywords:** CHNS, Kjeldahl, silage, forage plants, operational costs

### Introdução

Dos componentes da dieta animal, os compostos nitrogenados (N) representam papel importante para atender a demanda nutricional de aminoácidos para a manutenção com a renovação celular, crescimento corporal com a deposição de tecido muscular e desenvolvimento da glândula mamária para a síntese da proteína do leite. A deficiência de N na dieta compromete a síntese de proteína microbiana ruminal, a degradação de carboidratos da dieta no rúmen, o consumo de alimentos e o desempenho animal. Além disso, o uso excessivo de N além de aumentar os custos com alimentação, pode também comprometer a eficiência

reprodutiva, aumentar as perdas de N para o ambiente e, conseqüentemente, reduzir a eficiência de utilização de N. Portanto, ter conhecimento da concentração de N dos ingredientes que serão fornecidos na dieta é de suma importância para garantir a otimização do desempenho de ruminantes. Existem vários métodos para determinação de N, sendo o mais indicado para amostras de origem biológica, o de Kjeldahl. Este método consiste em três passos básicos: digestão da amostra em ácido sulfúrico com catalisador, que resulta em conversão do N em amônia; destilação da amônia em uma solução receptora e quantificação por titulação com uma solução-padrão. É universalmente aceito e utilizado em laboratórios de todo o mundo, em uma grande variedade de materiais (Sáez-Plaza et al., 2013). Pode ser utilizado com recursos limitados por não requerer dispositivos caros e nem técnicas especializadas (Sáez-Plaza et al., 2013), no entanto, é demorado pelo fato de todas as etapas serem altamente dependentes de mão de obra. Outra técnica é o método de Dumas, que realiza a combustão da amostra a alta temperatura (800°C a 1.000°C) convertendo todos os componentes nitrogenados em óxidos de N e reduzidos em seguida para N<sub>2</sub> (Jung et al., 2003). Um dos equipamentos utilizados é o analisador elementar que determina conjuntamente a quantidade de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre (CHNS) de forma rápida e confiável. Esses elementos podem ser determinados utilizando detectores de condutividade térmica e de infravermelho. Com o intuito de viabilizar o uso do CHNS para amostras vegetais, o objetivo desse estudo foi comparar o método de análise elementar CHNS com o método convencional Kjeldahl para determinação de N em amostras de plantas forrageiras tropicais.

#### Material e Métodos

O experimento foi conduzido nos laboratórios da Embrapa Agrossilvipastoril em Sinop/MT. Foram utilizadas amostras de forragem tropical para silagem. Estas amostras eram compostas por milho integral triturado em ponto de ensilagem (híbrido Herculex I). O cultivar foi submetido a quatro taxas de semeadura de *Urochloa ruziziensis* (0, 2, 4 e 6 kg de SPV/ha) com quatro repetições por tratamento. As plantas foram coletadas com 33 a 35% de matéria seca, pesadas, secas em estufa a 65°C por 72 horas, pesadas novamente e, em seguida, moídas em moinho tipo Willey em peneira de 1mm. As análises de N referentes ao método de micro Kjeldahl foram realizadas de acordo com o método nº 920,87 (AOAC, 1990). Para a realização desta análise, pesou-se em balança analítica 250 mg de amostra e foram adicionados mistura digestora composta por sulfato de cobre e sulfato de sódio e, em seguida, ácido sulfúrico. As amostras passaram por uma digestão de 4 horas a 400°C, destilação por arraste com hidróxido de sódio a uma solução receptora de ácido bórico, utilizando destilador Tecnal TE-364, e titulação com uma solução padronizada de ácido clorídrico. O método de análises elementares CHNS foi realizado de acordo com o método nº 990,03 (AOAC, 1990), em que pesou-se em balança analítica 50 mg de cada amostra, em seguida, foram encapsuladas em folha de estanho com auxílio de uma prensa manual, inseridas no analisador elementar automático, modelo vario MACRO cube (Elementar, Alemanha). No equipamento, a amostra foi decomposta (1.500°C) em uma célula rica em oxigênio ultra-puro gerando os gases que são arrastados pelo gás hélio até o TCD (detector de condutividade térmica) e a quantidade de N identificada. Foi realizada uma análise de custo de reagentes e tempo gasto para cada uma das metodologias. Os valores foram calculados com base em aquisições realizadas pela Embrapa Agrossilvipastoril, Sinop/MT. O kit para o CHNS é importado, podendo sofrer variação de preço. Os valores referentes à mão de obra foram utilizados com base no piso salarial de um analista químico: seis vezes o valor do salário mínimo vigente. Os dados foram analisados com pacote estatístico SAS 9.2, utilizando o comando PROC REG para regressão linear.

#### Resultados e Discussão

A análise foi significativa para regressão linear (Tabela 1). Houve alta correlação entre os métodos de determinação de N analisados ( $R^2$  ajustado = 0,8422). A regressão obtida foi  $N_{CHNS} = 0,7955 * N_{KJELDAHL} + 0,1522$  (Figura 1). O método CHNS apresentou valores similares aos obtidos pelo método Kjeldahl, o qual é considerado o método padrão para plantas forrageiras. A similaridade entre os métodos demonstra que para amostras de forragem é possível a substituição do método, desde que os demais fatores de viabilidade econômica sejam atendidos. De acordo com a análise de logística interna no laboratório e dos custos para realização das amostras, verifica-se que o método CHNS apresentou menor dispêndio de tempo com mão de obra (1 hora), pois esta é necessária somente na fase de preparo das amostras. Neste tempo é possível obter uma bateria de 60 amostras, que demoram 16 horas até a finalização da análise automática. Para rodar as

mesmas 60 amostras pelo Kjeldahl, seriam necessárias, em média, 30 horas. O tempo utilizado para realização da análise é de suma importância, visto que o operador precisa paralisar todas as suas atividades laboratoriais para a realização das etapas da análise, no caso do Kjeldahl. O método Kjeldahl apresentou baixo custo de reagente por amostra, R\$ 0,47, porém quando é incluído o custo de mão de obra para a realização completa da análise, o custo por amostra se eleva para R\$ 13,63/amostra. O método CHNS apresentou custo de consumível/amostra de R\$10,84, sendo contabilizados os custos com os gases utilizados na análise, bem como o kit para realização da mesma. Incluindo o custo da mão de obra, cada amostra apresenta um custo de R\$11,28. Como o custo operacional das determinações obtidas pelo CHNS é menor que o Kjeldahl e os dados obtidos podem ser utilizados sem alterações de acordo com a análise técnica (Tabela 1 e Figura 1), então, a substituição dos métodos será dependente da disponibilidade dos equipamentos no laboratório. Um equipamento completo Kjeldahl pode ser obtido por R\$ 7.160,00, sendo um bloco digestor R\$ 3.400,00 e um destilador de nitrogênio R\$ 3.760,00, enquanto que para o CHNS, o custo do analisador elementar automático é de R\$ 197.800,00 (2011).

Tabela 1. Quadro de análise da variância da regressão linear entre os teores de N obtidos pelos métodos Kjeldahl e CHNS.

C.V.	GL	SQ	QM	F	Pr > F
Regressão	1	0,25140	0,25140	150,41**	<0,0001
Desvio	27	0,04513	0,00167		
Total	28	0,29653			

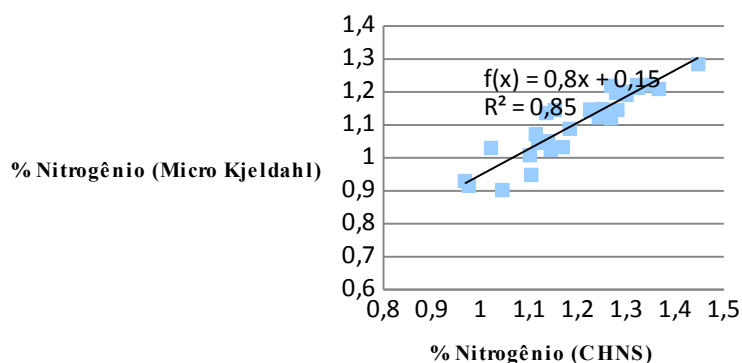


Figura 1. Análise de regressão e correlação entre os valores de N de milho integral para silagem, obtidos pelos métodos Kjeldahl e CHNS.

O método Kjeldahl pode ser vantajoso quando a quantidade de amostras a ser analisada for pequena, pois todas as etapas são totalmente dependentes de mão de obra e são extremamente demoradas. Além disso, o fato da análise do CHNS ser totalmente automática, a ocorrência de erro é praticamente nula, aumentando, assim, sua precisão, e também não são gerados resíduos químicos para o meio ambiente, tornando-se um método mais sustentável.

### Conclusões

A decisão entre os métodos CHNS e Kjeldahl será dependente da disponibilidade do aparelho e de mão de obra do laboratório e/ou instituição, pois os dados são semelhantes.

### Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-CNPq, CAPES e Embrapa pela concessão de recursos financeiros e bolsas.

### Literatura citada

XXV CONGRESSO BRASILEIRO DE ZOOTECNIA  
ZOOTEC 2015



*Dimensões Tecnológicas e Sociais da Zootecnia*

Fortaleza – CE, 27 a 29 de maio de 2015



*JUNG, S; RICKERT, D.A.; DEAK, N.A.; ALDIN, E.D.; RECKNOR, J.; JOHNSON, L.A.; MURPHY, P.A.*  
**Comparison of Kjeldahl and Dumas Methods for Determining Protein Contents of Soybean Products.**  
*Journal AOCS*, Volume 80, n. 12, 2003.

*SÁEZ-PLAZA, P.; MICHALOWSKI, T.; NAVAS, M.J.; ASUERO, A.G.; WYBRANIEC, S.* **An Overview of the Kjeldahl Method of Nitrogen Determination. Part I. Early History, Chemistry of the Procedure, and Titrimetric Finish.** *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, Volume 43, Issue 4, Pages 224-272, 2013.