

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
FACULDADE DE AGRONOMIA  
CURSO DE ZOOTECNIA**

**INGRID MEDEIROS LOPES**

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISE DE PROTEÍNA EM  
INGREDIENTES PARA ALIMENTAÇÃO ANIMAL**

**Porto Alegre  
2022**

**INGRID MEDEIROS LOPES**

**COMPARAÇÃO DE MÉTODOS DE ANÁLISE DE PROTEÍNA EM  
INGREDIENTES PARA ALIMENTAÇÃO ANIMAL**

Trabalho de Conclusão do Curso de Zootecnia da Faculdade de Agronomia, da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, como requisito para a obtenção do Grau de Zootecnista.

**Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maitê de Moraes Vieira**  
**Coorientadora: M<sup>a</sup> Aline Fernanda Rodrigues Leuven**

**Porto Alegre  
2022**

INGRID MEDEIROS LOPES

**COMPARAÇÃO DE DIFERENTES MÉTODOS DE ANÁLISE DE  
PROTEÍNA DE INGREDIENTES QUE COMPÕEM A ALIMENTAÇÃO  
ANIMAL**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado como requisito para obtenção do Grau de Zootecnista, Faculdade de Agronomia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Data de aprovação: 14/04/2023

**Banca Examinadora:**

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Maitê de Moraes Vieira

M<sup>a</sup> Aline Fernanda Rodrigues Leuven

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andrea Troller Pinto

## AGRADECIMENTOS

Quero agradecer a todas as pessoas que me apoiaram e fizeram parte dessa jornada. Minha mãe, Iara, que acordou mais cedo do que precisava todos os dias para me levar até o trem, me auxiliando em tudo o que foi preciso, sem ela nada disso seria possível. Meu pai, João, e minha avó, Nilda, obrigada pelo apoio e suporte de sempre.

As amigadas que fiz na faculdade e pretendo levar para a vida, Allicy, Francine, Kathiele e Rosani, obrigada por fazerem essa trajetória ser mais leve, mesmo nos momentos difíceis. A minha irmã de coração, Nicole, minha prima e amiga, Natália, obrigada por sempre se fazerem disponíveis para qualquer ajuda que eu precisasse e pelas palavras de incentivo.

Meus agradecimentos a todos os professores, técnicos e profissionais que participaram da minha vida acadêmica, compartilhando seus conhecimentos e experiências. Em especial, a minha orientadora, professora Maitê, e minha coorientadora, Aline, pela paciência e por todo o auxílio na construção desse trabalho. Assim como as técnicas do Laboratório de Nutrição Animal, o qual pude fazer parte como bolsista, Márcia e Mônica, agradeço pela amizade e pelos ensinamentos que foram passados.

## RESUMO

A análise dos parâmetros de qualidade de ingredientes que compõem a alimentação animal é fundamental para a formulação de uma dieta que atenda as exigências nutricionais de cada espécie, e a determinação de proteína bruta é uma delas. Os ingredientes utilizados para tais dietas apresentam funcionalidades e composições nutricionais diferentes, sendo necessário utilizar métodos de análise química para classificá-los em sua categoria. Os métodos de quantificação de proteína bruta podem ser diferenciados pelo equipamento utilizado, tempo de execução, custo, entre outros fatores. O objetivo desta pesquisa foi comparar os métodos Kjeldahl, Dumas e Espectroscopia de Refletância no Infravermelho Proximal (NIRS) na determinação do teor de proteína bruta de 6 ingredientes: proteína isolada de soja, farelo de soja, farelo de glúten de milho 60%, farelo de milho, farelo de trigo e polpa de beterraba. Os resultados mostraram que houve diferença entre os métodos a nível de 5% de significância, com exceção dos resultados das análises da polpa de beterraba, que não obtiveram diferença significativa entre si. Dentre os três métodos, o Dumas se mostrou mais eficiente, o qual permite que todo o nitrogênio presente na amostra seja determinado através da queima total do material orgânico. O método Kjeldahl subestima o teor de proteína bruta da amostra, podendo estar relacionado ao fato da possibilidade de perda de nitrogênio durante o processo de análise. Já o método NIRS pode apresentar desvio nos resultados se o equipamento não estiver devidamente calibrado.

**Palavras-chave:** Kjeldahl. Dumas. NIRS.

## ABSTRACT

The analysis of the quality parameters of ingredients that make up animal feed is fundamental for the formulation of a diet that meets the nutritional requirements of each species, and the determination of crude protein is one of them. The ingredients used for such diets have different functionalities and nutritional compositions, being necessary to use chemical analysis methods to classify them in their category. Crude protein quantification methods can be differentiated by the equipment used, execution time, cost, among other factors. The objective of this research was to compare the Kjeldahl, Dumas and Near Infrared Reflectance Spectroscopy (NIRS) methods in determining the crude protein content of 6 ingredients: soy protein isolate, soy bran, corn gluten meal 60%, corn bran, wheat bran and beet pulp. The results showed that there was a difference between the methods at a 5% significance level, with the exception of the results of the beet pulp analysis, which did not obtain a significant difference between them. Among the three methods, Dumas proved to be the most efficient, which allows all the nitrogen present in the sample to be determined by completely burning the organic material. The Kjeldahl method underestimates the crude protein content of the sample, which may be related to the possibility of nitrogen loss during the analysis process. The NIRS method, on the other hand, may present deviation in the results if the equipment is not properly calibrated.

**Keywords:** Kjeldahl. Dumas. NIRS.

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1</b> - Lista parcial de padrões internacionais para o Método Dumas.....	18
<b>Tabela 2</b> - Classificação dos ingredientes.....	18
<b>Tabela 3</b> - Média da composição química da proteína isolada de soja.....	19
<b>Tabela 4</b> - Média da composição química do farelo de soja 45% PB.....	20
<b>Tabela 5</b> - Média da composição química do glúten de milho 60% PB.....	21
<b>Tabela 6</b> - Comparação nutricional entre milho moído e farelo de milho.....	22
<b>Tabela 7</b> - Média da composição química do farelo de trigo.....	23
<b>Tabela 8</b> - Composição química da polpa de beterraba.....	23
<b>Tabela 9</b> - Peso de cada ingrediente para análise pelo método NIRS.....	31
<b>Tabela 10</b> - Ingredientes e as curvas utilizadas no equipamento NIRS.....	32
<b>Tabela 11</b> - Matéria seca dos ingredientes analisados.....	33
<b>Tabela 12</b> - Resultados de proteína bruta por diferentes métodos em ingredientes para alimentação animal expresso na matéria seca.....	33

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Tubos de digestão contendo 0,20 g de amostra, sendo os dois primeiros provas em branco.....	26
<b>Figura 2</b> - Processo de digestão no bloco digestor e a mudança de coloração da solução que ocorre durante.....	26
<b>Figura 3</b> - Adição da água destilada à solução e bureta contendo 25 mL de solução indicadora com ácido bórico.....	27
<b>Figura 4</b> - (A) Equipamento destilador da marca VELP. (B) Formação do borato de amônio. (C) Titulação com bureta eletrônica.....	28
<b>Figura 5</b> - Tubo de redução do equipamento.....	29
<b>Figura 6</b> - Amostras embaladas em folhas de estanho inseridas no local designado pelo equipamento.....	30
<b>Figura 7</b> - (A) Peso da amostra do farelo de glúten de milho. (B) Profundidade do recipiente. (C): Amostra em análise no equipamento.....	31



## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>10</b>
<b>2. OBJETIVOS.....</b>	<b>11</b>
2.1. Objetivo geral.....	11
2.2. Objetivos específicos.....	11
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....</b>	<b>12</b>
3.1. Métodos Analíticos.....	12
3.1.1. Método Kjeldahl.....	12
3.1.2. Método NIRS.....	15
3.1.3. Método Dumas.....	17
3.2. Ingredientes.....	18
3.2.1. Proteína isolada de soja.....	19
3.2.2. Farelo de soja.....	20
3.2.3. Glúten de milho.....	20
3.2.4. Farelo de milho.....	21
3.2.5. Farelo de trigo.....	21
3.2.6. Polpa de beterraba.....	22
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>23</b>
4.1. Método Kjeldahl.....	24
4.2. Método Dumas.....	27
4.3. Método NIRS.....	29
4.4. Tratamento Estatístico.....	31
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
<b>6. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>34</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>34</b>
<b>APÊNDICE.....</b>	<b>40</b>

## 1. INTRODUÇÃO

Para elaboração de uma dieta balanceada, que supra as exigências nutricionais de cada espécie animal em suas diferentes fases de vida, é fundamental ter o conhecimento do valor nutricional das matérias-primas que compõem tal alimentação. Para a identificação e quantificação dos nutrientes, é essencial realizar análises químicas para determinar a composição nutricional e a qualidade do processamento destes alimentos.

As proteínas são nutrientes essenciais na vida de todo animal, onde a quantidade é tão importante quanto a qualidade, e elas estão presentes nos mais diversos ingredientes que compõem a nutrição animal. O termo proteína bruta (PB) corresponde a um grupo de substâncias com estruturas semelhantes, porém com funções fisiológicas diferentes. O nitrogênio (N) é o elemento mais abundante encontrado nas proteínas e, com base nesta concentração, foi desenvolvido o método de determinação da proteína bruta nos alimentos através da avaliação do conteúdo de nitrogênio total da amostra (FORTES, 2011).

Os ingredientes de origem vegetal possuem o teor de nitrogênio de 16% e, assim, se utiliza o fator de conversão de 6,25 ( $100/16 = 6,25$ ), transformando o resultado em proteína bruta (CARVALHO, 2021). Há diversos métodos que podem ser utilizados para a quantificação de proteína bruta, porém os mais comuns são o método Kjeldahl, considerado o método padrão, método Dumas e NIRS (Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Proximal). O que diferencia esses métodos entre si está por conta do processo pelo qual se estima o nitrogênio, dos equipamentos e reagentes utilizados, tempo de obtenção dos resultados e custo.

O método Kjeldahl consiste em três etapas: 1) digestão da amostra em ácido sulfúrico com um catalisador, onde o nitrogênio é convertido em sulfato de amônia; 2) destilação da amônia com hidróxido de sódio para liberação do íon amônio que será retido em ácido bórico; e 3) titulação por volumetria com uma solução padrão de ácido clorídrico para a quantificação do nitrogênio total presente na amostra. Assim, o teor de proteína é determinado através do cálculo, onde, multiplica-se o teor de nitrogênio pelo fator de conversão, 6,25. Tal método determina o nitrogênio presente na matéria orgânica, incluindo o nitrogênio protéico propriamente dito, assim como outros compostos nitrogenados não-protéicos, como aminas, amidas, lecitinas, nitrilas e aminoácidos (SILVA & QUEIROZ, 2009).

Embora tenha o custo mais elevado devido ao preço do equipamento, o método Dumas é uma opção mais simples de manipulação e de rápida obtenção de resultado quando comparado ao método Kjeldahl, não sendo necessário o uso de reagentes químicos, gerando menos resíduos, como também dispensando a necessidade de um técnico especialista. A análise é realizada em um só equipamento com o uso de consumíveis determinados pela fabricante, onde ocorre a combustão da amostra em altas temperaturas. O nitrogênio contido no material é transformado em nitrogênio gasoso e o gás é medido através do detector de condutividade térmica (Lopes e Santana, 2005)..

A Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Proximal, mais conhecido pelas suas iniciais da denominação em Inglês, NIRS (Near Infrared Reflectance Spectroscopy) possui o tempo de obtenção de resultado mais curto entre os três métodos citados. Assim como o Dumas, não necessita de reagentes e não produz resíduos, porém é necessário um técnico especializado para a calibração do equipamento. Além da análise de proteína bruta, outros nutrientes podem ser analisados ao mesmo tempo e a amostra pode ser reaproveitada, tendo em vista que a análise não é destrutiva. A partir da espectroscopia de luz, uma curva é gerada através de análises de amostras referenciais e, deste modo, o equipamento se torna apto para a determinação da composição química da amostra.

A correta determinação de nutrientes, como a proteína bruta, é fundamental para o segmento da nutrição animal e, com este estudo, levando em consideração os diferentes métodos, será possível determinar o método mais eficiente de acordo com cada propósito.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Comparar três principais métodos de determinação de proteína bruta em ingredientes para alimentação animal com alta, média e baixa concentração de proteína.

### **2.2. Objetivos específicos**

Comparar os métodos de Kjeldahl, Dumas e NIRS na determinação de

proteína bruta em ingrediente para alimentação animal com baixa concentração de proteína (milho e polpa de beterraba), com média concentração de proteína (farelo de trigo e farelo de soja) e com alta concentração de proteína (proteína isolada de soja e glúten de milho).

### **3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

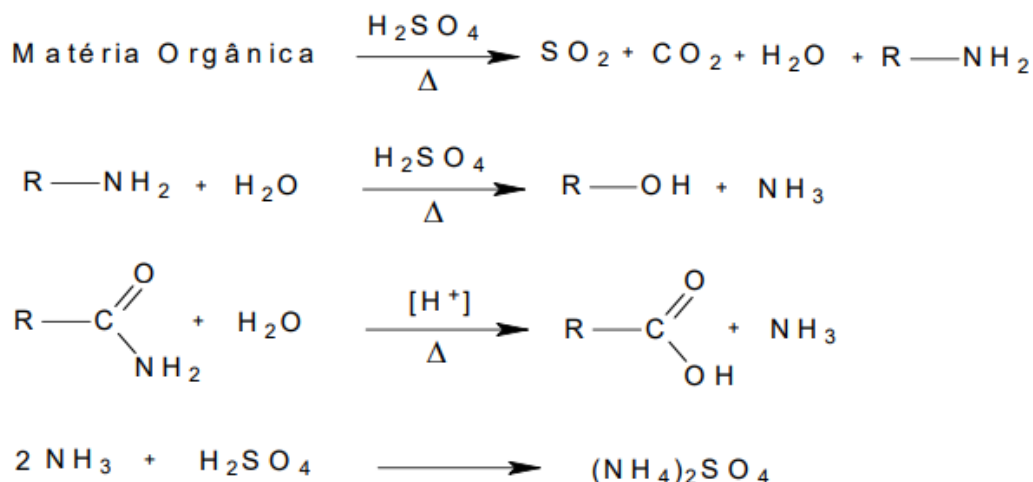
#### **3.1. Métodos Analíticos**

##### **3.1.1. Método Kjeldahl**

Um ramo da química analítica, o Teste ou Método de Kjeldahl foi apresentado em 1883 pelo químico dinamarquês Johan Gustav Christoffer Thorsager Kjeldahl, popularmente utilizado pela sua precisão e facilidade para determinar a quantidade de nitrogênio (ARAÚJO, 2019).

O método se dá através das etapas de digestão, destilação e titulação para determinar o nitrogênio presente na amostra. Na digestão, a decomposição da matéria orgânica da amostra é realizada através da adição de ácido sulfúrico concentrado juntamente com o sulfato de cobre, atuando como um catalisador, acelerando o processo de digestão que ocorre a 400° C por cerca de 3 horas. Os catalisadores utilizados também podem ser o selenito ou sulfato de sódio, onde minimiza os danos dentro dos tubos de ensaio como, também, eleva o ponto de ebulição do ácido sulfúrico consecutivamente (AOAC, 1998).

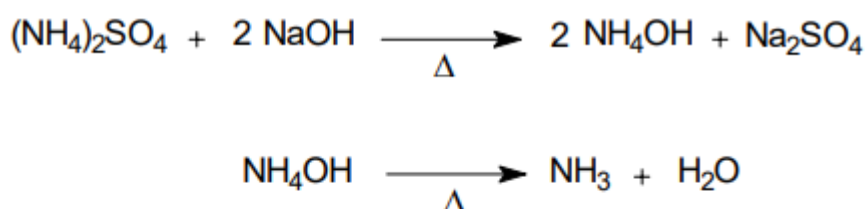
No processo de digestão, ocorrem as seguintes reações:



Fonte: GALVANI (2006)

No aquecimento do bloco digestor contendo a mistura ácida, o carbono presente na amostra é oxidado. O nitrogênio se encontra na forma de amina, amida e nitrila, o qual é transformado em amônia ( $\text{NH}_3$ ), reagindo com o ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) e, então, forma o sulfato de amônio ( $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ) devido ao desprendimento do dióxido de carbono da matéria orgânica. A amostra passa de ter uma cor escura para uma cor esverdeada e translúcida, finalizando o processo de digestão.

Após o resfriamento da solução digerida, ficando em temperatura ambiente, e a adição de 5 ml de água destilada, a etapa de destilação pode ser iniciada em um destilador de nitrogênio. A liberação de amônia é resultado da administração do sulfato de amônio com o hidróxido de sódio ( $\text{NaOH}$ ) representado pelas reações a seguir:



(GALVANI, 2006)

A solução de amônia é coletada na saída do condensador em um Erlenmeyer onde deve constar o ácido bórico ( $\text{H}_3\text{BO}_3$ ) com o indicador, geralmente, o vermelho de metila. Na destilação por arraste de vapor, o sulfato de amônio em contato com o

hidróxido de sódio é transformado em hidróxido de amônio devido ao vapor de água da caldeira do equipamento (TECNAL, 2023). Dessa forma, o hidróxido de sódio é liberado no estado gasoso e, em seguida, condensado dentro no Erlenmeyer formando o borato de amônio ( $\text{NH}_4\text{H}_2\text{BO}_3$ ) e passando da cor rosada para a cor verde ou azul conforme o processo vai acontecendo.

A titulação é a última etapa do método, onde é realizada a titulação do borato de amônio com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl) de título conhecido até a viragem do indicador (GALVANI, 2006), o que faz com que a cor da solução altere para um cinza ou incolor, devido a presença do indicador ácido-base o qual muda de coloração em função do pH da solução e, no momento dessa mudança, a titulação é finalizada.

A partir do resultado obtido da titulação, é possível fazer o seguinte cálculo para determinação do nitrogênio total (NT) da amostra:

$$\text{NT (\%)} = \frac{(\text{Va} - \text{Vb}) \times \text{F} \times 0,1 \times 0,014 \times 100}{\text{P1}}$$

Onde:

**NT:** teor de nitrogênio total na amostra em percentagem;

**Va:** volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação da amostra em mililitros;

**Vb:** volume da solução de ácido clorídrico gasto na titulação do branco em mililitros;

**F:** fator de correção para o ácido clorídrico 0,01 mol/L;

**0,014:** milequivalente grama do nitrogênio

**P1:** massa da amostra em gramas.

(PRATES, 2007)

Ao descobrir o nitrogênio total (NT) da amostra através da equação, é possível determinar a proteína bruta (PB) por meio da multiplicação do nitrogênio total pelo fator de conversão de 6,25, comumente utilizado para amostras de ingredientes que compõem a dieta animal como rações, plantas forrageiras e seus derivados. A maioria das proteínas têm, em média, 16% de nitrogênio, porém o fator pode gerar erros quando a quantidade de N de um alimento for diferente e, nesses casos, se aplica os fatores de conversão específicos para cada um.

$$16\text{g (N)} \text{ _____ } 100\text{g (proteínas)}$$

$$1\text{g (N)} \text{ _____ } X\text{g}$$

$$X\text{g} = 100/16 = \mathbf{6,25}$$

Com isso, a equação utilizada para determinar a proteína bruta é a seguinte:

$$PB = NT \times 6,25$$

O método de Kjeldahl é preciso, de fácil aplicação e favorável ao uso de amostras não homogêneas devido ao tamanho da amostra não ser limitado, tornando-se o método oficial na determinação de proteínas. Porém, o processo é demorado e mede o nitrogênio orgânico total e não apenas o nitrogênio das proteínas, além de utilizar reagentes corrosivos e gerar resíduos.

### **3.1.2. Método NIRS**

Análises rápidas, não destrutivas, dispensando o uso de reagentes químicos e sem gerar resíduos constituem o método de Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Proximal, o qual é a tradução do que significa a sigla NIRS, em Inglês, Near Infrared Reflectance Spectroscopy. O físico estadunidense William Weber Coblentz, conhecido por sua assídua contribuição aos estudos relacionados à espectrometria infravermelha, em meados de 1905, teve conhecimento de que dois compostos químicos diferentes, também apresentavam espectros diferentes, possibilitando a identificação e quantificação estrutural dos compostos com o uso da radiação infravermelha.

O conceito da espectroscopia é baseado na interação de ondas magnéticas em um determinado comprimento quando em contato com os componentes de uma amostra, o que resulta em um gráfico formado através de um espectro, podendo analisar qualquer molécula que contenha ligações CH, NH, SH ou OH. O método utiliza a energia dos fótons na faixa espectral de 750 nanômetros (nm) a 2500 nm para medir a interação da radiação eletromagnética com os movimentos de vibração de um sistema molecular, mensurando a interação com a matéria (AMARAL, 2023).

Para uma análise com resultados de precisão, é necessário que ocorra uma calibração de qualidade do equipamento, utilizando equações e métodos de análises convencionais como referência para tal.

Modelo Comum de Calibração Multivariada:

$$Y = b_0 + b_1 X_1 + b_2 X_2 + b_n X \dots B_n X_n$$

Onde:

**Y:** é o componente a ser calibrado;

**b<sub>0</sub>:** é o intercepto;

**X<sub>1</sub>, X<sub>2</sub> e X<sub>n</sub>:** são as variáveis espectrais independentes, cada uma combinando com um ou mais valores do espectro;

**b<sub>1</sub>, b<sub>2</sub> e b<sub>n</sub>:** são os coeficientes de regressão

Os resultados em relação aos teores de umidade, matéria mineral e proteína apresentam maior acurácia, já as frações fibrosas como FDN e FDA (Fibra em Detergente Neutro e Fibra em Detergente Ácido) apresentam acurácia um pouco mais baixa, embora consideráveis. Os valores de FDN são altamente variáveis mesmo dentro de cada espécie avaliada, pois são influenciados pelo estágio de desenvolvimento da planta e teores de lignina (VAN SOEST, 1994).

Existe uma diversidade de equipamentos de métodos analíticos, como o NIRS, utilizados por produtores rurais em suas propriedades, assim como em indústrias do setor de nutrição animal de médio a grande porte. Nesta última, o mais comum é a utilização do NIRS de bancada, recebendo amostras de matérias-primas e produtos acabados, onde trabalha com uma faixa espectral maior, podendo chegar a 2.500 nm, tendo maior acurácia e poder de predição, além de poder entregar o resultado em apenas 1 minuto, no máximo. Uma das desvantagens desse tipo de equipamento está no seu custo elevado de aquisição, além de ser necessário um técnico especializado para administrar e calibrar o mesmo.



### 3.1.3. Método Dumas

O método Dumas, proposto pelo químico francês Jean-Baptiste Dumas, em 1831, tem como objetivo determinar o nitrogênio total da amostra através da sua combustão entre 700 a 1200 °C e a medida volumétrica do nitrogênio gasoso. Em apenas um equipamento, com acesso a um computador, acontece a combustão, redução, separação e detecção do nitrogênio, não sendo necessário a manipulação de reagentes químicos durante a análise.

A amostra utilizada é totalmente oxidada através do oxigênio, o que causa a redução dos óxidos de nitrogênio, sendo possível determinar a quantidade de nitrogênio molecular produzido na amostra. O resultado é rápido, apresentado entre 5 a 10 minutos e é necessária pouca quantidade de amostra para ser analisada, o que pode causar divergências nos resultados, podendo ocorrer a necessidade de repetições.

O método de Dumas considera o nitrogênio orgânico e inorgânico da amostra, os quais são transformados em gases de óxido nítrico ( $\text{NO}_2$ ), seguidamente reduzidos a gás nitrogênio ( $\text{N}_2$ ) que, ao ser liberado, é determinado através da condutividade térmica (Lopes e Santana, 2005). Por esse motivo, o método pode apresentar valores superestimados de nitrogênio quando comparado aos outros métodos, principalmente quando se trata de alimentos de origem vegetal, os quais possuem concentração maior de nitrogênio na forma inorgânica.

O cálculo do teor de proteína utiliza o teor de nitrogênio encontrado em conjunto com o fator de conversão, como é utilizado no método Kjeldahl. Assim como os métodos de Kjeldahl e NIRS, a análise de Dumas é um método de referência bem estabelecido o qual possui padrões oficiais de análise, onde as principais são emitidas pela Associação de Química Analítica Oficial. (AOAC - Association of Official Analytical Chemistry) como as seguintes listadas na Tabela 1.

**Tabela 1: Lista parcial de padrões internacionais para o Método Dumas:**

<b>Padrão</b>	<b>Descrição</b>	<b>Órgão Emissor</b>
AOAC 992.23	<i>Crude protein in cereal grains and oils</i> (Proteína bruta em grãos e óleos de cereais)	AOAC
AOAC 992.15	<i>Crude protein in meat and meat products</i> (Proteína bruta em carne e produtos cárneos)	AOAC
AOAC 968.06	<i>Crude protein in Animal Feed</i> (Proteína bruta na alimentação animal)	AOAC

(AOAC, 1998)

Os equipamentos Dumas exigem a utilização de papel alumínio, estanho ou cápsulas de combustão para a inserção das amostras e os sistemas funcionam sem a dependência da matriz devido à combustão da amostra ocorrer em um ambiente de oxigênio puro.

Sobre as vantagens do método, encontra-se tempo de execução, automação dos lotes de amostras podendo carregar até 117 amostras por vez. Porém, as desvantagens se encontram no custo da análise devido ao custo do equipamento, a utilização de gases e consumíveis específicos, variando de marca para marca.

### 3.2. Ingredientes

Os ingredientes utilizados no experimento podem ser divididos entre protéicos, energéticos e fibrosos, como mostra a Tabela 2.

**Tabela 2: Classificação dos ingredientes**

<b>Protéicos</b>	<b>Energéticos</b>	<b>Fibrosos</b>
Proteína isolada de soja	Farelo de milho	Polpa de beterraba
Farelo de soja	Farelo de trigo	
Glúten de milho 60%		

Fonte: A autora.

Tais ingredientes fazem parte da formulação de dietas balanceadas para que os animais, ruminantes e monogástricos, possam se desenvolver plenamente com suas exigências nutricionais atendidas em cada fase da vida.

Os alimentos concentrados podem ser divididos em protéicos e energéticos, onde, os ingredientes que apresentam mais de 20% de proteína bruta, 50% de FDN (Fibra em Detergente Neutro) e 60% de NDT (Nutrientes Digestíveis Totais) são considerados protéicos, enquanto aqueles que possuem menos que 20% de proteína bruta, 25% de FDN e em torno de 18% de fibra bruta (FB), são considerados alimentos energéticos. Os alimentos fibrosos, ou volumosos, são aqueles que possuem baixo teor energético, ricos em fibra ou água, os quais possuem menos de 60% de NDT e/ou mais de 18% de fibra bruta (FB), podendo ser divididos em secos e úmidos (GOES, 2013).

### 3.2.1. Proteína isolada de soja

A proteína isolada de soja é produzida a partir da farinha branca de soja desengordurada, através de um processamento que possibilita a remoção de outros componentes como carboidratos, fibras, além de fatores antinutricionais, resultando em um produto mais puro e refinado oriundo da proteína da soja, sendo praticamente isenta de odor, cor e apresentando sabor neutro (SBAN, 2016). Este subproduto pode conter, no mínimo, 88% de proteína bruta em relação à matéria seca. Tal ingrediente é utilizado, de modo balanceado, em dietas especializadas como substituições de leite, dietas para leitões e frangos de corte.

**Tabela 3: Média da composição química da proteína isolada de soja**

<b>Componentes</b>	<b>Proteína isolada de soja (%)</b>
Matéria seca	95,0
Proteína bruta	80,69

(Escola Paulista de Medicina, 2023)

### 3.2.2. Farelo de soja

O farelo de soja é um subproduto da indústria do óleo, sendo o farelo mais utilizado na alimentação animal, principalmente nas dietas para bovinos. O processo de extração do óleo é realizado através de pressão e solventes, além de exigir um tratamento térmico da semente de soja, o que resulta em um farelo com alto teor de proteína, que varia de 45 a 48%, além de que, alguns fatores antinutricionais (antitripsicos, urease e lecitinas), são eliminados devido o aquecimento (SOLÀ-ORIOL, 2021). Na Tabela 4, a composição de matéria seca e teor de proteína do farelo de soja 45%. A cada 1.000 kg de grão de soja processado, é extraído cerca de 750 kg de farelo de soja.

O teor de energia do farelo de soja pode variar devido ao conteúdo de fibra presente, geralmente 6%, pois o farelo com casca apresenta menor conteúdo de energia digestível quando comparado ao farelo sem casca (BELLAVÉR, 1999).

É um ingrediente caracterizado como o principal suplemento proteico de origem vegetal disponível, possui excelente balanço de aminoácidos essenciais, como a lisina, mesmo que seja relativamente deficiente em metionina e triptofano, é de alto valor alimentar para os animais.

**Tabela 4: Média da composição química do farelo de soja 45% PB**

<b>Componentes</b>	<b>Farelo de soja (%)</b>
Matéria seca	89,6
Proteína bruta	45,4

(ROSTAGNO et al., 2017)

### 3.2.3. Farelo de glúten de milho (FGM)

O farelo de glúten de milho (FGM) é um subproduto da indústria do milho muito utilizado em rações para pets, suínos, aves, bovinos e peixes, devido seu alto teor proteico, apresentando médias podendo ser superiores a 60%, e também por ser uma opção de custo mais vantajosa em relação à mistura com farelo de soja.

Além disso, pode ser uma alternativa interessante em alimentos nos quais se deseje restrição calórica, dado seu elevado conteúdo de fibra.

O cereal mais produzido no mundo é o milho e, para cada 100 kg de milho processado, 4,5 kg de farelo de glúten de milho são gerados. No Brasil, comercializa-se FGM na forma seca, geralmente, sob a forma farelada, contendo em média 90% de matéria seca (SOUZA, 2007), como é apresentado na Tabela 5. O FGM é o resíduo seco do milho após a extração da maior parte do gérmen e amido, resultado da separação do farelo pelo processo empregado na fabricação de moagem úmida do cereal ou por tratamento enzimático do endosperma, sendo 2/3 de conteúdo fibroso e 1/3 de licor concentrado de maceração (Blasi et al., 2001).

Uma forte característica deste ingrediente está na sua alta quantidade de fibra altamente digestível, e fermentável, e a pouca quantidade de gordura e amido, se tornando uma ótima alternativa para compor rações com base em grãos e silagem de milho, geralmente aplicadas em dietas para ruminantes. Já para monogástricos, indica-se o uso em fases as quais altos níveis energéticos não são recomendados.

**Tabela 5: Média da composição química do glúten de milho 60% PB.**

<b>Componentes</b>	<b>Farelo de glúten de milho (%)</b>
Matéria seca	91,2
Proteína bruta	61,5

(ROSTAGNO et al., 2017)

#### **3.2.4. Farelo de milho**

O farelo de milho é um subproduto da farinha resultante do processamento do grão, composto de germe, pedaços de endosperma e casca, possuindo alguns componentes diferentes do milho moído integral como o teor de fibra e proteína bruta que são mais elevados no farelo de milho em comparação ao milho moído, como apresentado na Tabela 6. Em contrapartida, o farelo de milho perde em energia metabolizável, cálcio e fósforo, mesmo que em quantidade não significativa, assim como os aminoácidos.

**Tabela 6: Comparação nutricional entre milho moído e farelo de milho.**

<b>Componentes</b>	<b>Milho moído (%)</b>	<b>Farelo de milho (%)</b>
Matéria seca	87,9	88,6
Proteína bruta	8,5	10,4

(LIMA, 2011)

É através do milho que se obtém a principal fonte de energia nas formulações de dietas para animais como bovinos, equinos e, principalmente, suínos e aves, podendo fazer parte de até 80% da composição das mesmas (LIMA, 2011).

### **3.2.5. Farelo de trigo**

No processamento da farinha de trigo, com direcionamento para a alimentação humana, cerca de 28% do grão não é aproveitado, tendo como resultado o farelo de trigo e, deste modo, destinado à alimentação animal (SOARES, 2004).

O trigo é rico em niacina, tiamina, fósforo e ferro mas, assim como o grão de milho, os cultivares de trigo apresentam bastante variações na sua composição química e seu valor nutricional, onde os valores de proteína bruta podem chegar a 15,1% de média (ROSTAGNO et al., 2017), como mostra a Tabela 7.

O farelo de trigo é uma boa alternativa na substituição quando o preço do milho aumenta, o qual é muito utilizado em dietas para ruminantes, principalmente bovinos leiteiros. Para suínos em fase de crescimento, o nível de inclusão do subproduto pode ser de até 12%, já para os animais em fase de terminação e lactação, pode ser de até 15% de adição na ração, enquanto para animais em gestação, a inclusão pode chegar até 35% (ROSTAGNO et al., 2017). Porém, o alto teor de fibra bruta é um fator limitante para os animais monogástricos pois, quando ofertado demasiadamente, pode provocar um efeito laxante devido seu teor de fibras, deste modo é importante realizar o balanceamento com outros ingredientes corretamente.

**Tabela 7: Média da composição química do farelo de trigo**

<b>Componentes</b>	<b>Farelo de trigo (%)</b>
Matéria seca	88,5
Proteína bruta	15,1

(ROSTAGNO et al., 2017)

**3.2.6. Polpa de beterraba**

A polpa de beterraba é um subproduto da indústria do açúcar, muito utilizada como suplemento na alimentação animal como uma importante fonte de fibra e energia, rica em pectina, utilizada tanto para ruminantes quanto para monogástricos. No Brasil, a indústria do açúcar utiliza como matéria-prima a cana-de-açúcar, ou seja, a disponibilidade da polpa de beterraba é pequena quando comparada aos países europeus (GONÇALVES et al, 2009).

Ingrediente muito recomendado devido sua baixa solubilidade e moderada fermentação, não viscosa, além de seu efeito desejável na consistência das fezes, diminuindo o tempo de trânsito intestinal (Sunvold et al., 1995a). Se encontra disponível no estado sólido, granulado ou em forma de pallet, podendo apresentar o teor de 90% de matéria seca e, no máximo, 10% de proteína bruta, como é apresentado na Tabela 8.

**Tabela 8: Composição química da polpa de beterraba.**

<b>Componentes</b>	<b>Polpa de beterraba (%)</b>
Matéria seca	90,0
Proteína bruta	10,0

(GONÇALVES et al, 2009)

**4. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado no Laboratório de Nutrição Animal (LNA) da Faculdade de Agronomia, pertencente à Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), e no laboratório de qualidade da fábrica de rações Alisul

Alimentos S/A na cidade de São Leopoldo-RS. Foram utilizadas amostras de 6 ingredientes: proteína isolada de soja, farelo de soja, farelo de glúten de milho, farelo de milho, farelo de trigo e polpa de beterraba. As análises pelo método Kjeldahl e Dumas foram realizadas no laboratório da Universidade, enquanto a análise através do NIRS ocorreu na fábrica de rações.

O primeiro processo foi a moagem dos ingredientes em moinhos de bolas e o rotativo de faca, de modo que ficassem homogêneas, seguido pela realização da análise de matéria seca a 105 °C: cadinhos de porcelana, contendo cerca de 2 g de amostra moída de cada ingrediente, colocados em estufa a 105 °C overnight e, após seu resfriamento em dessecador, foi realizado o cálculo para a determinação do resultado. As amostras foram armazenadas em recipiente plástico totalmente fechado até o momento das análises.

Foram realizadas 5 repetições de análise de cada ingrediente através do método de Kjeldahl, Dumas e NIRS para determinação de proteína bruta. Os ingredientes presentes no experimento possuem baixa concentração de proteína (milho e polpa de beterraba), média concentração de proteína (farelo de trigo e farelo de soja) e alta concentração de proteína (proteína isolada de soja e glúten de milho).

#### **4.1. Método Kjeldahl**

A determinação do nitrogênio total pelo método Kjeldahl foi adaptada do padrão número 988.05 da AOAC (1998), onde as amostras foram digeridas em ácido sulfúrico concentrado, por 4 horas, utilizando sulfato de cobre na mistura catalítica e convertendo o nitrogênio em sulfato de amônio, o qual foi calculado pelo fator de conversão de 6,25.

Foram utilizados os seguintes materiais:

- Balança analítica;
- Funil de haste longa;
- Espátula para pesagem;
- Tubos de digestão micro-kjeldahl;
- Dispensador de solução;

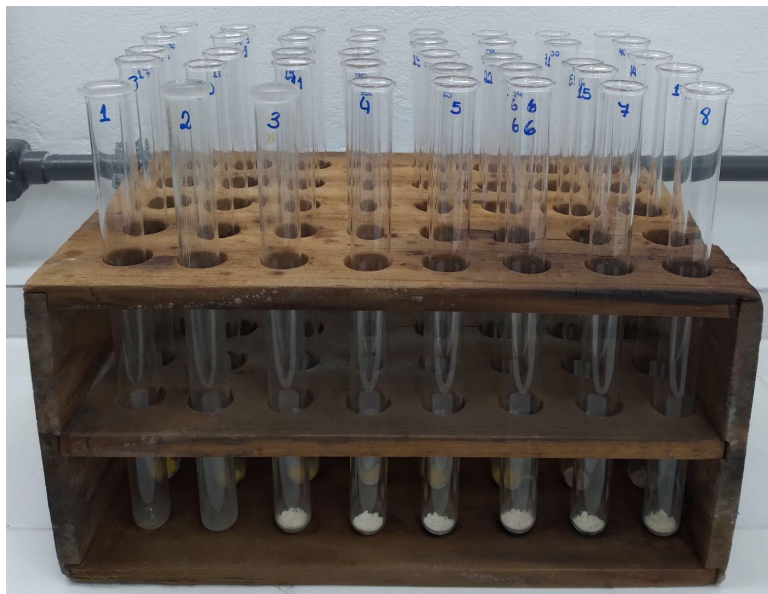


- Erlenmeyer com capacidade de 250 mL;
- Bureta de 25 mL;
- Agitador magnético;
- Capela para exaustão de gases;
- Bloco digestor de proteína da marca DeLeo;
- Destilador de proteína da marca VELP;
- Bureta eletrônica para titulação.

Reagentes utilizados:

- Mistura catalítica: 10 g de sulfato de cobre + 1 g de selênio metálico + 100 g de sulfato de sódio de anidro;
- Hidróxido de sódio (NaOH) 50%;
- Ácido bórico (HBO<sub>2</sub>) 4%;
- Indicador: solução mista de verde de bromocresol e vermelho de metila;
- Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> – d=1,84), p.a., concentrado;
- Ácido Sulfúrico 0,1 N (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>);
- Água destilada.

Foram realizadas 5 repetições de cada ingrediente contendo 0,20 g cada, transferidas para o tubo de digestão com o auxílio do funil de haste longa, sendo dois tubos vazios para dar início com duas provas em branco.



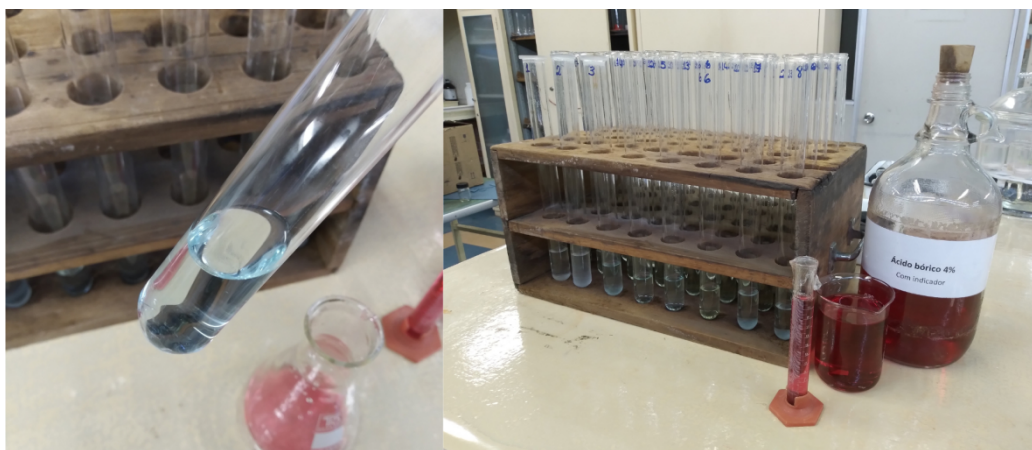
**Figura 1.** Tubos de digestão contendo 0,20 g de amostra, sendo os dois primeiros provas em branco.

Em seguida, foi adicionado 5 mL de  $H_2SO_4$  concentrado e o catalisador em todos os tubos e, assim, transferidos para o bloco de digestão onde permaneceram por 4 horas a temperatura de  $350\text{ }^{\circ}C$ .



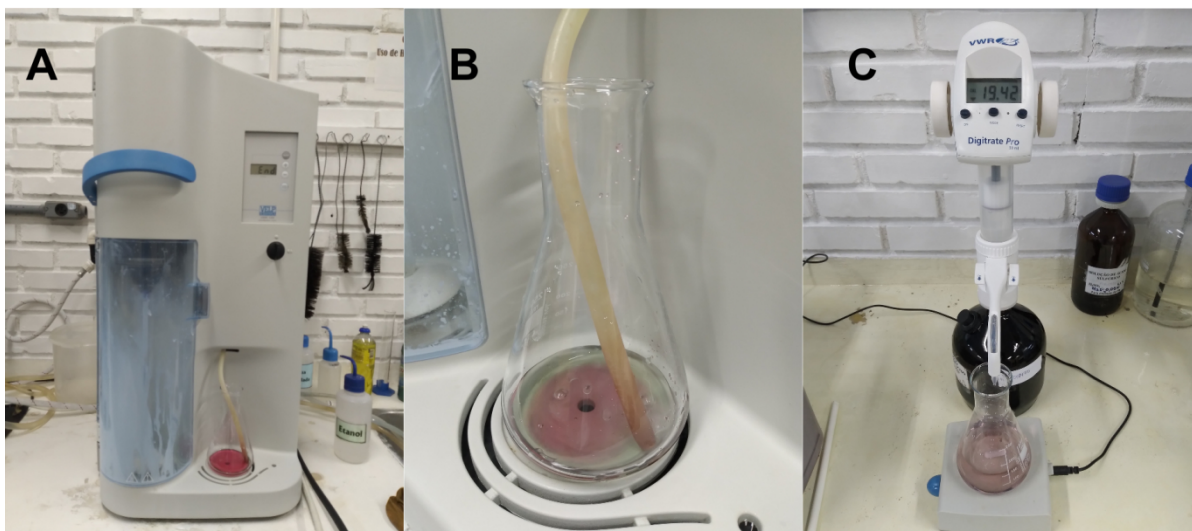
**Figura 2.** Processo de digestão no bloco digestor e a mudança de coloração da solução que ocorre o processo.

Concluído o processo de digestão, retirou-se os tubos do bloco para resfriamento até atingirem a temperatura ambiente e foi adicionado 10 mL de água destilada em cada. No equipamento destilador, após aquecido, é colocado um Erlenmeyer com capacidade de 250 mL com 25 mL de solução indicadora com ácido bórico e é encaixado o tubo de digestão.



**Figura 3.** Adição da água destilada à solução e bureta contendo 25 mL de solução indicadora com ácido bórico.

Programou-se o equipamento para adicionar 30 mL de hidróxido de sódio 40% às amostras digeridas, com duração de 5 minutos, recolhendo 150 mL do destilado. Por fim, foi titulada a solução destilada com o ácido sulfúrico 0,1 N e anotado o volume de ácido gasto na titulação. O resultado foi calculado e expresso em % PB (proteína bruta) na matéria seca.



**Figura 4.** (A) Equipamento destilador da marca VELP. (B) Formação do borato de amônio. (C) Titulação com bureta eletrônica.

#### 4.2. Método Dumas

O método Dumas, 968.06 da AOAC (1998), o qual o nitrogênio liberado pela pirólise (quebra por aquecimento) e subsequentes combustões, é transportado através do gás de arraste, dióxido de carbono, e levado ao detector de condutividade térmica. O CO<sub>2</sub> é absorvido em dióxido de potássio e o volume de nitrogênio residual é calculado pelo fator 6,25 e convertido em proteína bruta.

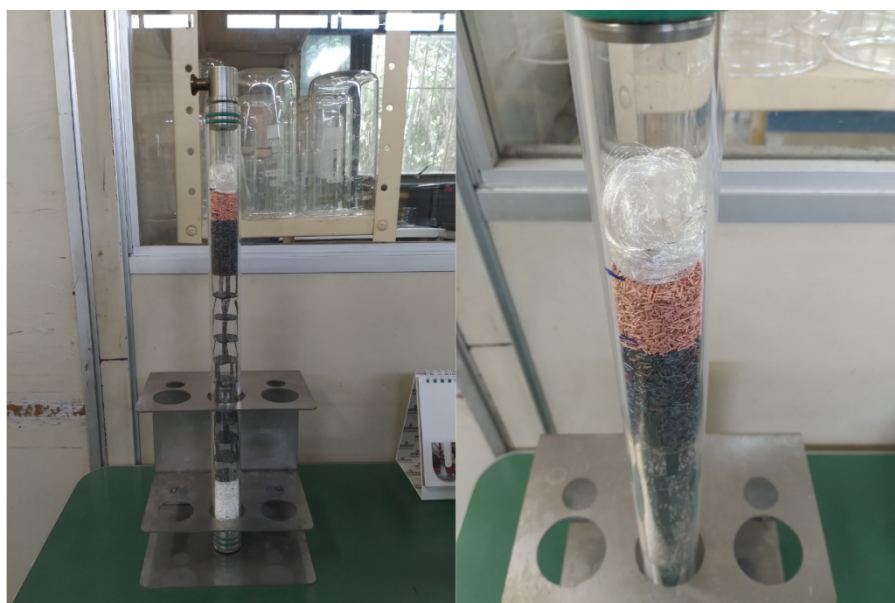
Foram utilizados os seguintes materiais:

- Equipamento DUMAS da marca Elementar - Rapid N Cube;
- Folhas de estanho;
- Balança analítica;
- Computador.

Consumíveis presentes nos tubos de secagem, pós combustão, combustão e redução do equipamento:

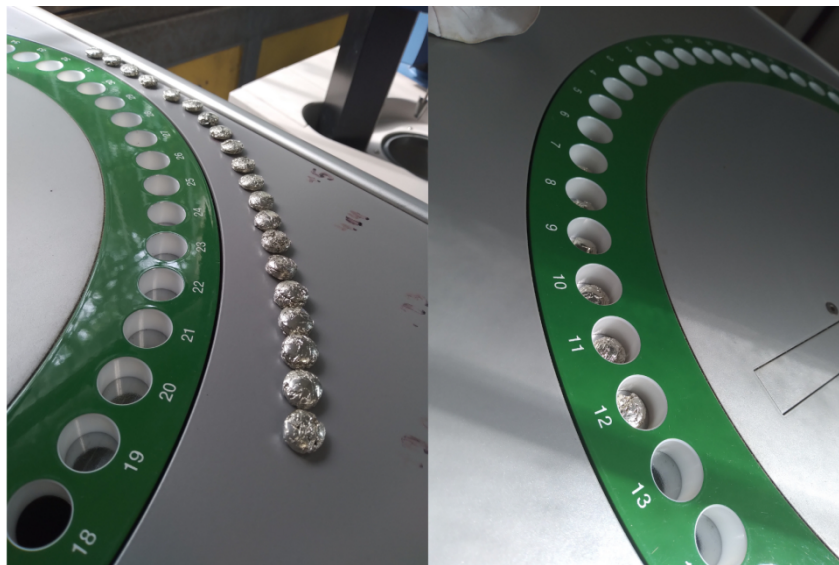
- Algodão;
- Sicapent ® (dessecante a base de pentóxido de fósforo para exsiccadores);

- Bolas de coríndon;
- Pt catalisador 5% para análise elementar, 30 g;
- Malha de arame redondo;
- Tungstênio;
- Cobre puro;
- Fios de prata;
- Óxido de cobre



**Figura 5.** Tubo de redução do equipamento.

Com 5 repetições para cada ingrediente, foram pesadas amostras de até 1,5 g cada, pesos os quais foram transferidos diretamente para o computador conectado com a balança analítica e o equipamento. As amostras foram colocadas no recipiente indicado do equipamento, tendo sua análise com duração de 3 a 4 minutos. A temperatura máxima de combustão do equipamento é de 1.200 °C. O resultado foi calculado e expresso em % PB (proteína bruta) na matéria seca.



**Figura 6.** Amostras embaladas em folhas de estanho inseridas no local designado pelo equipamento.

### 4.3. Método NIRS

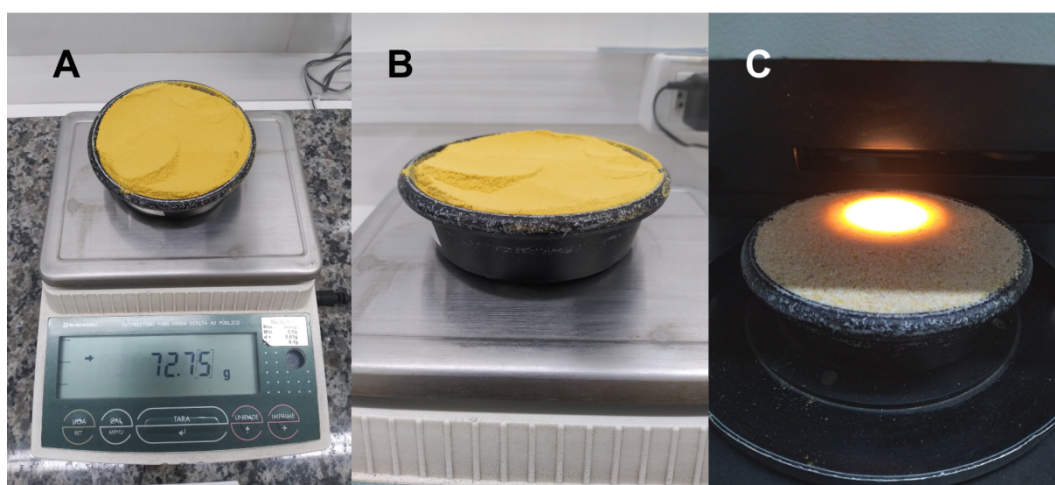
A análise de NIRS se baseou no padrão de número 989.03 da AOAC (1998), tendo porções aleatórias das amostras preparadas e carregadas no recipiente do espectrômetro NIRS. O instrumento faz parte do sistema que foi calibrado usando amostras representativas da população a ser analisada. As equações selecionadas das estatísticas de calibração, as quais foram validadas, foram utilizadas para calcular.

O equipamento utilizado foi o Perten DA 7200, onde a quantidade de amostra para as 5 repetições variaram devido a granulometria de cada ingrediente, que deve preencher todo o recipiente, como apresentado na Tabela 9. O resultado foi calculado e expresso em %PB (proteína bruta) na matéria seca.

**Tabela 9: Peso de cada ingrediente para análise pelo método NIRS.**

Ingrediente	Peso (g)
Farelo de soja	80
Glúten de milho	72
Farelo de milho	80
Farelo de trigo	42

Fonte: A autora.



**Figura 7:** (A) Peso da amostra do farelo de glúten de milho. (B) Profundidade do recipiente. (C): Amostra em análise no equipamento.

As curvas utilizadas para as determinações de proteína bruta de cada ingrediente são resultado de calibrações feitas pelo equipamento conforme a análise de amostras referenciais de lotes variados. Na Tabela 10, os ingredientes e suas respectivas curvas utilizadas.

**Tabela 10: Ingredientes e as curvas utilizadas no equipamento NIRS.**

<b>Ingrediente</b>	<b>Curva</b>
Farelo de soja	SoymealIPRXAug42008
Farelo de glúten de milho	CornGlutenMealMasterJun152007
Farelo de trigo	WheatMiddss050906
Farelo de milho	CornGrndDec062006

(Pertten DA 7200)

A porcentagem de proteína bruta na matéria seca de cada ingrediente, em cada equipamento utilizado, foi comparada com valores médios de proteína bruta desses ingredientes previstos na literatura nacional, como forma de parâmetro técnico.

#### **4.4. Análise Estatística**

Foram realizadas 5 repetições de análise de cada ingrediente utilizando 3 métodos de análise a partir dos resultados de proteína bruta obtidos. O tratamento dos dados se deu através da análise de variância (ANOVA) e teste SNK (Student-Newman-Keuls) a 5% de probabilidade. Foi utilizado o procedimento GLM (SAS, 2016) testando 3 equipamentos (Kjeldahl, Dumas e NIRS) em cada ingrediente (proteína isolada de soja, farelo de soja, farelo de glúten de milho, farelo de milho, farelo de trigo e polpa de beterraba) com 5 repetições em cada.

## **5. RESULTADO E DISCUSSÃO**

Na Tabela 11, são apresentados os resultados da matéria seca (MS) de cada ingrediente.



**Tabela 11: Matéria seca dos ingredientes analisados.**

<b>Ingredientes</b>	<b>Matéria seca* (%)</b>
Proteína isolada de soja	91,65
Farelo de soja	86,18
Farelo de glúten de milho 60%	90,49
Farelo de milho	87,17
Farelo de trigo	86,91
Polpa de beterraba	86,18

*\*Secagem em estufa a 105 °C overnight.*

As análises de dois ingredientes, proteína isolada de soja e polpa de beterraba, não puderam ser realizadas no método NIRS devido o equipamento não possuir as curvas de calibração necessárias para tal, os resultados obtidos foram apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12: Resultados de proteína bruta por diferentes métodos em ingredientes para alimentação animal expresso na matéria seca.**

<b>Ingredientes</b>	<b>Kjeldahl (%)</b>	<b>Dumas (%)</b>	<b>NIRS* (%)</b>	<b>Probabilidade **</b>	<b>Coefficiente de variação</b>
Proteína isolada de soja	89,28b	98,39a	-	0,0001	0,38
Farelo de soja	50,08c	55,61a	52,70b	0,001	2,37
Glúten de milho	65,04c	70,0b	73,0a	0,0001	0,61
Farelo de milho	9,97a	9,20b	9,40b	0,0229	4,06
Farelo de trigo	19,49b	17,06c	22,29a	0,0001	2,17
Polpa de beterraba	9,26a	9,03a	-	0,2313	2,98

*\*\*Médias com letras distintas na linha diferem entre si pelo teste SNK a 5%.*

*\*NIRS: Near Infrared Reflectance Spectroscopy (Espectroscopia de Reflectância no Infravermelho Proximal).*

Os testes mostraram que houve diferença de resultados nos métodos estudados, os quais apresentaram diferença estatisticamente de 5% em nível de significância, com exceção dos testes realizados com a polpa de beterraba, que não obtiveram diferença significativa.

Nos resultados obtidos para a determinação de proteína bruta da proteína isolada de soja, os métodos Kjeldahl e Dumas apresentaram diferenças significativas em 5% entre si. Onde, o método Kjeldahl chegou o mais próximo do teor de proteína bruta (89,28%), com referência na literatura (80,69%, segundo Escola Paulista de Medicina, 2023), enquanto o método Dumas superestimou o valor do teor de proteína do ingrediente (98,39%).

Na análise de proteína bruta para o farelo de soja, os três métodos apresentaram diferenças significativas em 5% entre si. Todos os métodos superestimaram o teor de proteína bruta quando comparado com a literatura (45 a 48%, segundo ROSTAGNO et al., 2017). Os métodos Kjeldahl e Dumas obtiveram resultados mais próximos (50,08% e 52,70%, respectivamente), enquanto o método NIRS apresentou o resultado mais alto (55,61%).

Para o farelo de glúten de milho, os métodos também apresentaram diferenças significativas em 5% entre si. Os métodos NIRS e Dumas superestimaram o teor de proteína bruta do ingrediente (73,0% e 70,36%, respectivamente) quando comparados com a literatura (60%, segundo ROSTAGNO et al., 2017). O método Kjeldahl apresentou o valor mais baixo (65,04%), ainda assim acima da média.

Os três métodos apresentaram diferenças significativas a 5% nos resultados das análises do farelo de trigo. O método Kjeldahl apresentou o resultado mais baixo entre os métodos (17,06%), porém ainda mais alto do que o valor encontrado na literatura (15,1%, segundo ROSTAGNO et al., 2017). O método NIRS obteve o resultado mais alto dentre os três (22,29%).

Para as amostras do farelo de milho, não houve diferença significativa a 5% entre os métodos Dumas e NIRS, apenas em comparação ao método Kjeldahl. Foram os resultados mais próximos entre si (9,20 a 9,97%), onde o método Kjeldahl foi o que obteve resultado mais próximo ao da literatura (10,0%, segundo GONÇALVES et al, 2009).

Os resultados da proteína bruta da polpa de beterraba não

apresentaram diferença significativa a 5% entre si. O método Kjeldahl obteve o maior valor (9,26%) enquanto o método Dumas o mais inferior (9,04%), principalmente ao comparar com o teor de proteína fornecido pela literatura (10%, segundo GONÇALVES et al, 2009).

Ao comparar os métodos de Kjeldahl e Dumas na determinação de nitrogênio total em amostras de tecido vegetal e grãos, Costa e Leal (2011) tiveram os resultados obtidos pelo método de Dumas um pouco maiores que os obtidos pelo método de Kjeldahl. Concluiu-se que é devido ao fato da maior recuperação do nitrogênio presente na amostra pelo método de Dumas, fenômeno já observado em outros trabalhos, segundo os autores. Porém, em termos estatísticos, não se pode considerar que houve diferença significativa entre os dois métodos. Na metodologia de Kjeldahl a perda de nitrogênio pode ocorrer quando os tubos estão muito abertos durante o processo de digestão, quando a quantidade de mistura catalisadora é pequena ou, até mesmo, quando é em excesso. Um descuido do analista ao não encaixar o tubo perfeitamente no destilador também contribui para perda de nitrogênio (COSTA, 2005).

Segundo Hansen (1989), ao comparar teores de nitrogênio de produtos de origem animal e vegetal entre os métodos Kjeldahl e Dumas, observou-se reprodutividade e repetibilidade satisfatórias (significativas a 5%), com exceção do milho, feno e silagem de milho, diferenças as quais podem ser justificadas devido a baixa concentração de nitrato nesses produtos.

Outro fator de comparação observado neste trabalho entre os três métodos é que, perante os resultados, nas análises com ingredientes com teor de proteína bruta acima de 20%, os métodos Dumas e NIRS superestimaram os valores de nitrogênio total das amostras. Por outro lado, em ingredientes com teor de proteína bruta abaixo dos 20%, o método Kjeldahl superestimou os resultados, contrapondo a tese de que há perda de nitrogênio total por esta técnica.

O método Dumas apresenta vantagens perante os outros métodos devido ao seu tempo de execução por análise, precisão e sem a necessidade do operador administrar reagentes tóxicos e corrosivos durante a análise. Porém, o custo elevado do equipamento e consumíveis, além de ser

necessário um técnico especialista para a manutenção do aparelho, torna o método Kjeldahl uma opção mais barata, apesar de demorada (COSTA, 2005). Já o método NIRS obtém resultados na determinação de proteína bruta com grande acurácia, contando que o equipamento tenha sido devidamente calibrado com amostras referenciais do mesmo material. Apesar de precisar do auxílio de um técnico para calibração, do equipamento, é uma análise econômica e muito rápida, entregando o resultado em menos de um minuto, sem destruir a amostra e sem gerar resíduos ao não utilizar reagentes (PAULINO, 2005).

## **6. CONSIDERAÇÕES FINAIS**

A partir das análises e resultados obtidos através dos três métodos, por apresentar um processo de combustão, onde ocorre a queima total do material orgânico e, assim, gerando menos perda de nitrogênio, concluiu-se que, de maneira geral, o método Dumas é mais prático e funcional quando comparado aos demais. Entretanto, tem como fator limitante o custo de aquisição e manutenção do equipamento, assim como o descarte de seus reagentes que devem ser destinados a coletas químicas especializadas, o que acaba gerando mais um custo.

O método Kjeldahl, apesar da possibilidade de subestimar o teor de nitrogênio total da amostra, é confiável e de baixo custo, mas os fatores mais limitantes estão na demora para a obtenção do resultado final e o uso de reagentes químicos e corrosivos. No método NIRS, por necessitar de curvas de calibração previamente estabelecidas no equipamento, é preciso de um técnico especialista para a realização das análises de amostras referenciais para a construção de uma curva que dê resultados confiáveis. Tais calibrações levam tempo e exigem amostras de diferentes lotes para as análises.

Deve-se levar em conta as limitações de cada laboratório de análise, como demanda de análise, recursos financeiros e o produto a ser analisado (baixa, média ou alta concentração de proteína bruta), escolhendo um método que melhor atenda às suas exigências.

## REFERÊNCIAS

AMANCIO, O. M. S; [et al.]. O benefício do consumo da proteína isolada de soja nas diferentes fases da vida. Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição. 2016. Disponível em: <<http://sban.cloudpainei.com.br/source/Proteina-Isolada-Soja.pdf>>.

AMARAL, R. Optimal Resources | Tecnologia NIRS: como funciona e qual seu impacto na formulação. Disponível em: <<https://optimal.com.br/pt/resources/tecnologia-nir-impacto-nutricao-animal>>

Analizador de Proteínas e Nitrogênio Rapid N Cube. [s.l: s.n.]. LABCONTROL. Disponível em: <<http://labcontrol.com.br/wp-content/uploads/2015/09/Analizador-de-Prote%C3%ADnas-e-Nitrog%C3%AADnio-Rapid-N-cube.pdf>>

ARAÚJO, M. Revisão Bibliográfica: Avaliação de Método de Kjeldahl na Determinação de Nitrogênio e sua Aplicação na Análise Foliar. Universidade Federal de Uberlândia. Instituto de Química. 2019. Disponível em: <<https://repositorio.ufu.br/bitstream/123456789/25454/1/Revis%C3%A3oBibliogr%C3%A1ficaAvalia%C3%A7%C3%A3o.pdf>>.

AOAC. Association of Official Analytical Chemistry. Official Methods of Analysis. 16th edition. Arlington, VA, USA, 1998.

BELLAVER, C; JR, P. N. S. PROCESSAMENTO DA SOJA E SUAS IMPLICAÇÕES NA ALIMENTAÇÃO DE SUÍNOS E AVES. Embrapa Suínos e Aves. 1999. Disponível em: <[http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc\\_publicacoes/publicacao\\_x5k97v3r.pdf](http://www.cnpsa.embrapa.br/sgc/sgc_publicacoes/publicacao_x5k97v3r.pdf)>

BLASI, D.A.; BROUK, M.J.; DROUILLARD, J. S.; MONTGOMERY, S. P. Corn gluten feed, composition and feeding value for beef and dairy cattle. Kansas State University Agricultural Experimental Station and Cooperative Extension, 2001.

CANDATEN, S.; LANGARO, L.; FRIEDRICH, M. Área: Ciência de Alimentos. Estudo de Diferentes Métodos Para Determinação de Proteína em Farelo de Soja. [s.l:s.n.]. Disponível em: <[https://www.upf.br/\\_uploads/Conteudo/simposio-sial-anais/2018/ciencia/c-49.pdf](https://www.upf.br/_uploads/Conteudo/simposio-sial-anais/2018/ciencia/c-49.pdf)>.

CARVALHO, C. B. M.; [et al.]. Métodos de análise da composição química e valor nutricional de alimentos para ruminantes. Research, Society and Development, v. 10, n. 10, e523101019047, 2021.

COELHO, P. Método de Kjeldahl – Teste para determinar o teor de nitrogênio e proteínas. Disponível em:

<<https://www.engquimicasantosp.com.br/2019/07/metodo-kjeldahl-teste-nitrogenio.html>>.

COSTA, D. A. S.; LEAL, W. G. O.. Análise de nitrogênio total em amostras de tecido vegetal pelos métodos de Dumas e Kjeldahl. 5º Seminário Jovens Talentos. 2011. Disponível em:

<<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/923180/analise-de-nitrogenio-total-em-amostras-de-tecido-vegetal-pelos-metodos-de-dumas-e-kjeldahl>>.

COSTA, M. G. Determinação de proteína em alimentos para animais: métodos químicos e físicos. Capítulo 1. Editora UFV. Viçosa, 2005. 98p.

Embrapa Pantanal, 2006. p9. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/37465/1/CT63.pdf>

FISCHER, M. M. Efeitos de Diferentes Fontes de Fibra na Digestibilidade de Nutrientes, Nas Respostas Metabólicas Pós-Prandiais e Na saúde Intestinal de Gatos. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. 2011. Disponível em: <<https://lume.ufrgs.br/handle/10183/31377>>.

FORTES, B. D. A. Métodos de avaliação de alimentos para aves. Programa de pós-graduação em ciência animal da Escola de Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal de Goiás. Goiânia GO, 2011.

GALVANI, F.; GAERTNER, E. Adequação da metodologia Kjeldahl para determinação de nitrogênio total e proteína bruta. Circular Técnica, Nº 63. Corumbá.

GOES, R. H. T. B.; [et al.]. Alimentos e alimentação animal. Editora UFGD. Grande Dourados, 2013. 81p.

GONÇALVES, L.C. et al. Alimentos para gado leite: Polpa de beterraba na alimentação de gado de leite. Cap. 8. Ed. FEPMVZ, Belo Horizonte. 2009.132 – 138 p.

HANSEN, B. Determination of nitrogen as elementary N, an alternative to Kjeldahl. Acta Agric. Scand., v. 39, p. 113-118. 1989.

LIMA, G. J. M. M. DA; PAES, M. C. D.; QUEIROZ, V. A. V. O Milho na Nutrição Animal e Humana. Embrapa Milho e Sorgo. 2011. Disponível em: <<https://www.alice.cnptia.embrapa.br/bitstream/doc/927312/1/Milhonutricao.pdf>>.

LOPES, D.C.; SANTANA, M.C.A. Determinação de proteína em alimentos para animais: métodos químicos e físicos. Viçosa: UFV, 2005. 98p

LOURES, M. D. DE A.; MORENZ, M. J. DE F. Projeto Física e Cidadania. Universidade Federal de Juiz de Fora. 2013. Disponível em: <[https://www.ufjf.br/fisicaecidadania/ciencia-uma-construcao-humana/a-ciencia-nas-profissoes/espectroscopia\\_infravermelho/](https://www.ufjf.br/fisicaecidadania/ciencia-uma-construcao-humana/a-ciencia-nas-profissoes/espectroscopia_infravermelho/)>.

MAVROMICHALIS, I. Feed formulation: Soy protein concentrate or isolate?. Feed Strategy. 2017. Disponível em: <<https://www.feedstrategy.com/blog/feed-formulation-soy-protein-concentrate-or-isolate/>>.

PAULINO, P. V. R. Determinação de proteína em alimentos para animais: métodos químicos e físicos. Capítulo 2. Editora UFV. Viçosa, 2005. 98p.

PINHEIRO, R. C. Alimentos Alternativos Para Nutrição Animal. Instituto Federal Goiano. 2021. Disponível em: <<https://repositorio.ifgoiano.edu.br/handle/prefix/2263>>.

PRATES, E. R. Técnicas de pesquisa em nutrição animal. Editora UFRGS. Porto Alegre, 2007. 414p.

Proteína isolada de soja | Tabela de Composição Química dos Alimentos. 2023. Disponível em: <<https://tabnut.dis.epm.br/alimento/16122/proteina-isolada-de-soja>>.

RIBEIRO, P. E. de A. Implementação de análise de nitrogênio total em solo pelo método de Dumas. - Portal Embrapa. 2010. Disponível em: <<https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/880845/implementacao-de-analise-de-nitrogenio-total-em-solo-pelo-metodo-de-dumas>>.

RABELLO, C. B. V. et al. Farelo de glúten de milho na alimentação de frangas de corte de crescimento lento. Revista Brasileira de Ciências Agrárias - Brazilian Journal of Agricultural Sciences, v. 7, n. 2, p. 367–371. 2012.

ROSTAGNO, H.S.; [et al.]. Tabelas brasileiras para aves e suínos: composição de alimentos e exigências nutricionais. 4ª Edição, Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2017. 488p.

SOARES, C. A; [et al.]. Consumo, Digestibilidade Aparente, Produção e Composição do Leite de Vacas Leiteiras Alimentadas com Farelo de Trigo. Revista Brasileira de Zootecnia. v. 33, n. 6, p. 2161–2169, 2004. Disponível em: <<https://www.scielo.br/j/rbz/a/Fm6WWMcGz565wFrnyPTvhGz/abstract/?lang=pt>>.

SOARES, H. R. NETO.; [et al.]. Comparação de metodologias para determinação de N-total em tecido vegetal. 2013. Disponível em: <<http://www.eventosufrpe.com.br/2013/cd/resumos/R0393-1.pdf>>

SILVA, D. J.; QUEIROZ, A. C. Análise de alimentos (métodos químicos e biológicos). 3.ed. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 2009. 235 p.

SOLÀ-ORIOLO, D. Ficha técnica: Farelo de soja (44-48% PB). A página do suíno. 2021. Disponível em: <[https://www.3tres3.com.br/artigos/farelo-de-soja-44-48-pb\\_1584/](https://www.3tres3.com.br/artigos/farelo-de-soja-44-48-pb_1584/)>.

SOUZA, S. M. D. Farelo de Glúten de Milho na Alimentação de Vacas em Lactação. Universidade Federal de Viçosa. 2007. Disponível em: <<https://www.locus.ufv.br/bitstream/123456789/5554/1/texto%20completo.pdf>>.

SUNVOLD, G.D.; Hussein H.S.; Fahey, Jr. G.C., et al. Dietary fiber for dogs: IV. In vitro fermentation of selected fiber sources by dog fecal inoculum and in vitro digestion and metabolism of fiber-supplemented diets. Journal of Animal Science, v.73, p. 1099-1109, 1995.



TECNAL. Etapas de digestão, destilação e titulação compõem o tradicional método de determinação de nitrogênio. Disponível em: <[https://tecnal.com.br/pt-BR/blog/123\\_etapas\\_de\\_digestao\\_destilacao\\_e\\_titulacao\\_compoem\\_tradicional\\_metodo\\_de\\_determinacao\\_de\\_nitrogenio](https://tecnal.com.br/pt-BR/blog/123_etapas_de_digestao_destilacao_e_titulacao_compoem_tradicional_metodo_de_determinacao_de_nitrogenio)>.

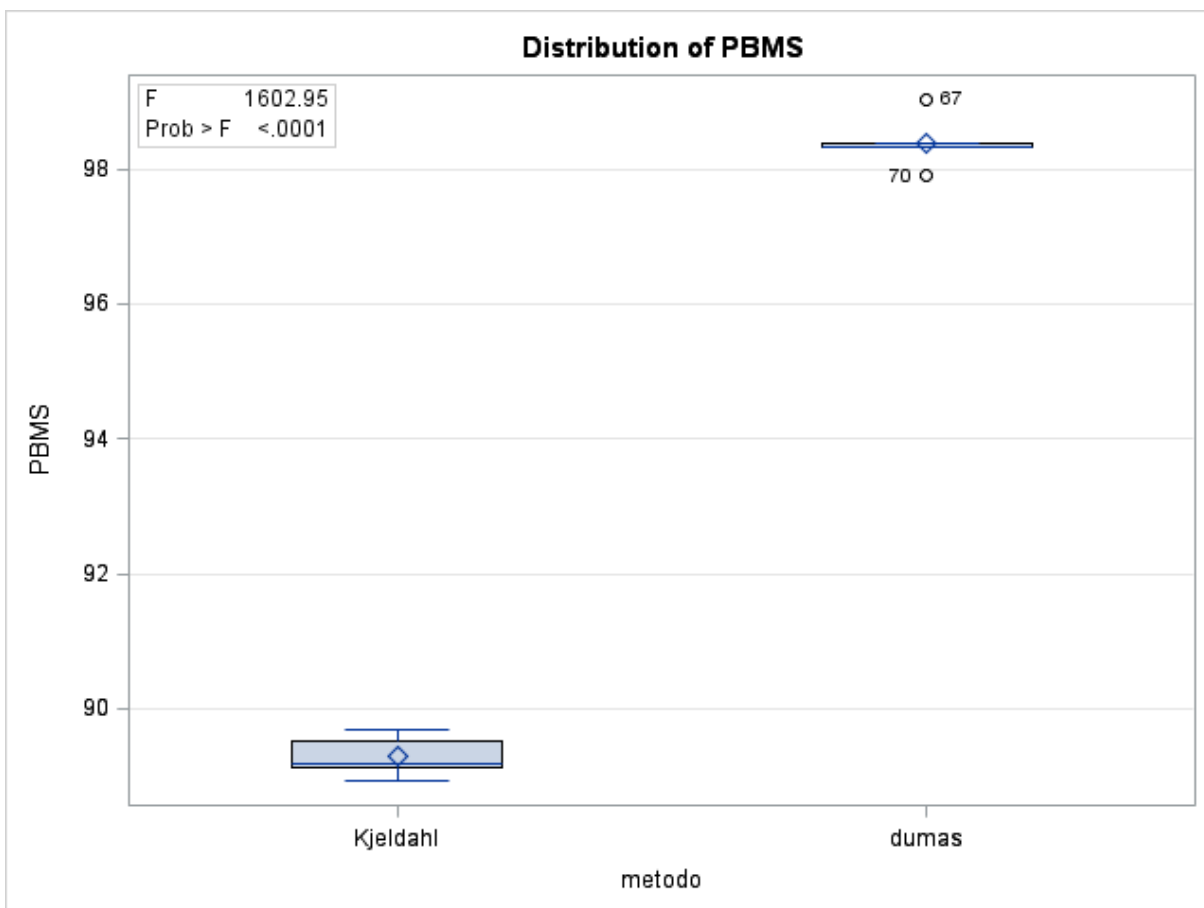
VALENTE, A. Análise de Alimentos. UNIVERSIDADE FEDERAL DE GOIÁS CAMPUS JATAÍ CURSO DE ZOOTECNIA. 2011. Disponível em: <[https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/186/o/Amanda\\_Alves\\_Valente.pdf](https://files.cercomp.ufg.br/weby/up/186/o/Amanda_Alves_Valente.pdf)>.

VAN SOEST, P.J. Nutritional ecology of ruminant . 2.ed. Ithaca, NY: Cornell University Press, 1994. 476p.

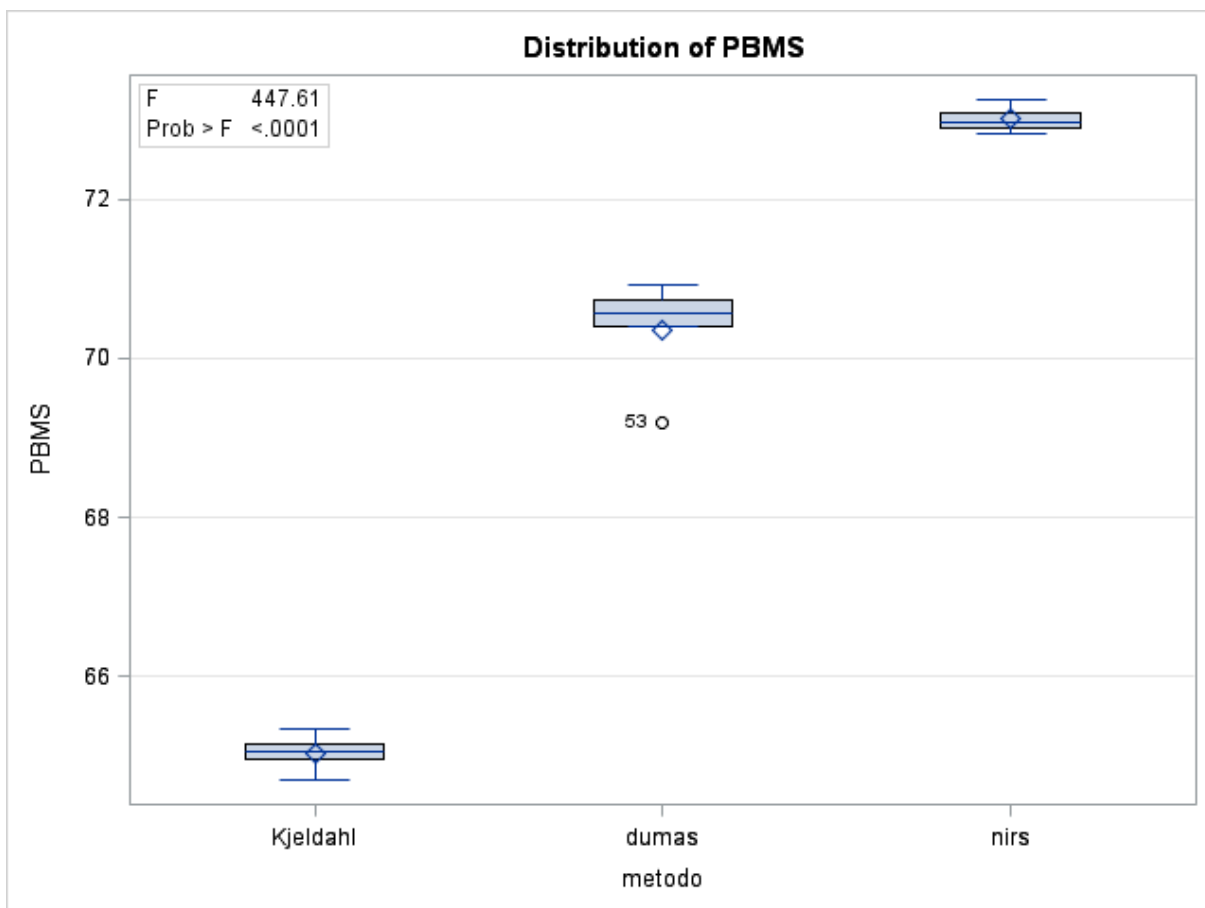
VIEIRA, A.; SAVI MUNDO DAL ZOTTO, C.; FRAPORTI, L.; GONÇALVES MALAGUEZ, E.; DALAZEN CASTAGNARA, D.; CERATTI HOCH, G. METODOLOGIAS PARA DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO. Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 8, n. 2, 28 fev. 2020.

## APÊNDICE

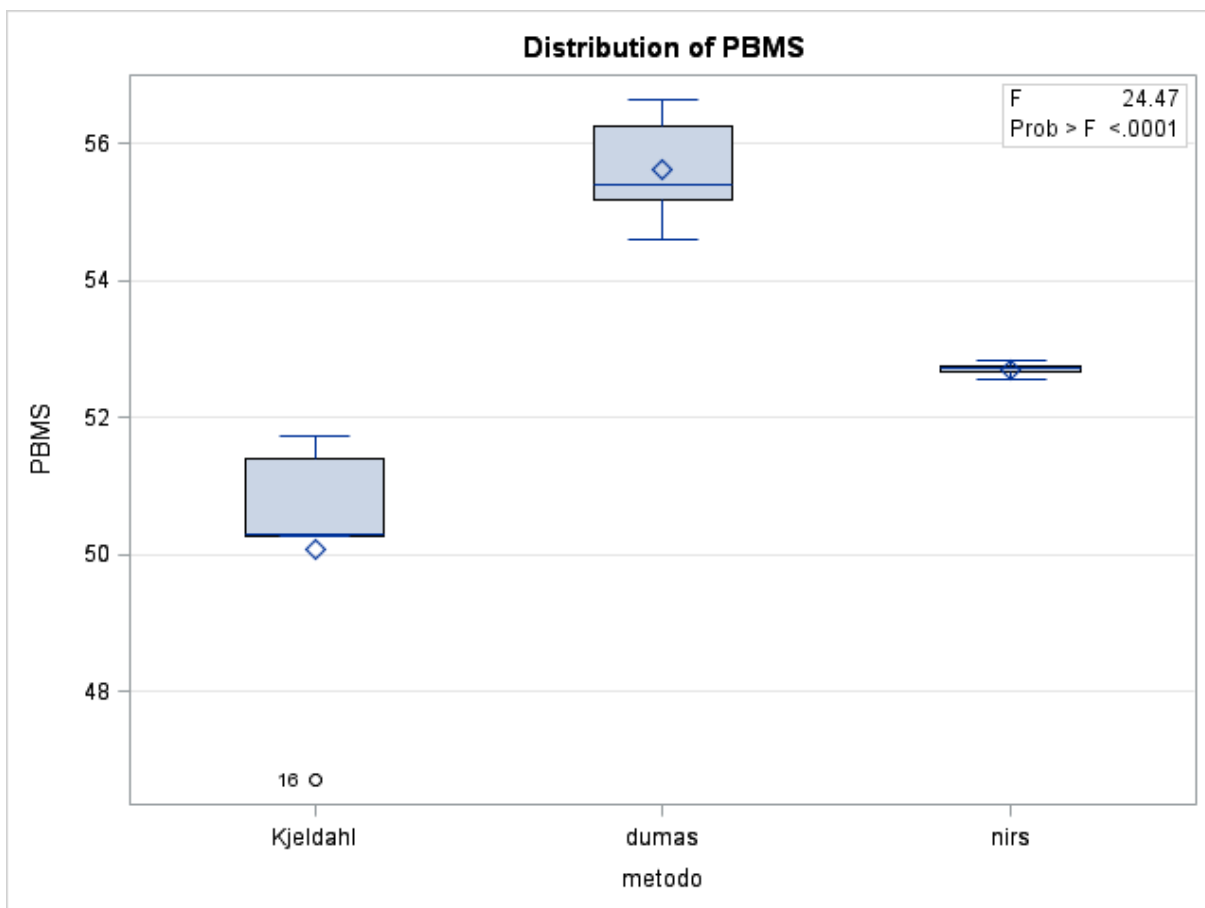
**Apêndice A** - Box Plot (diagrama de caixa) da proteína isolada de soja, gerado pelo software SAS (Statistical Analysis System), ilustrando a comparação gráfica dos métodos:



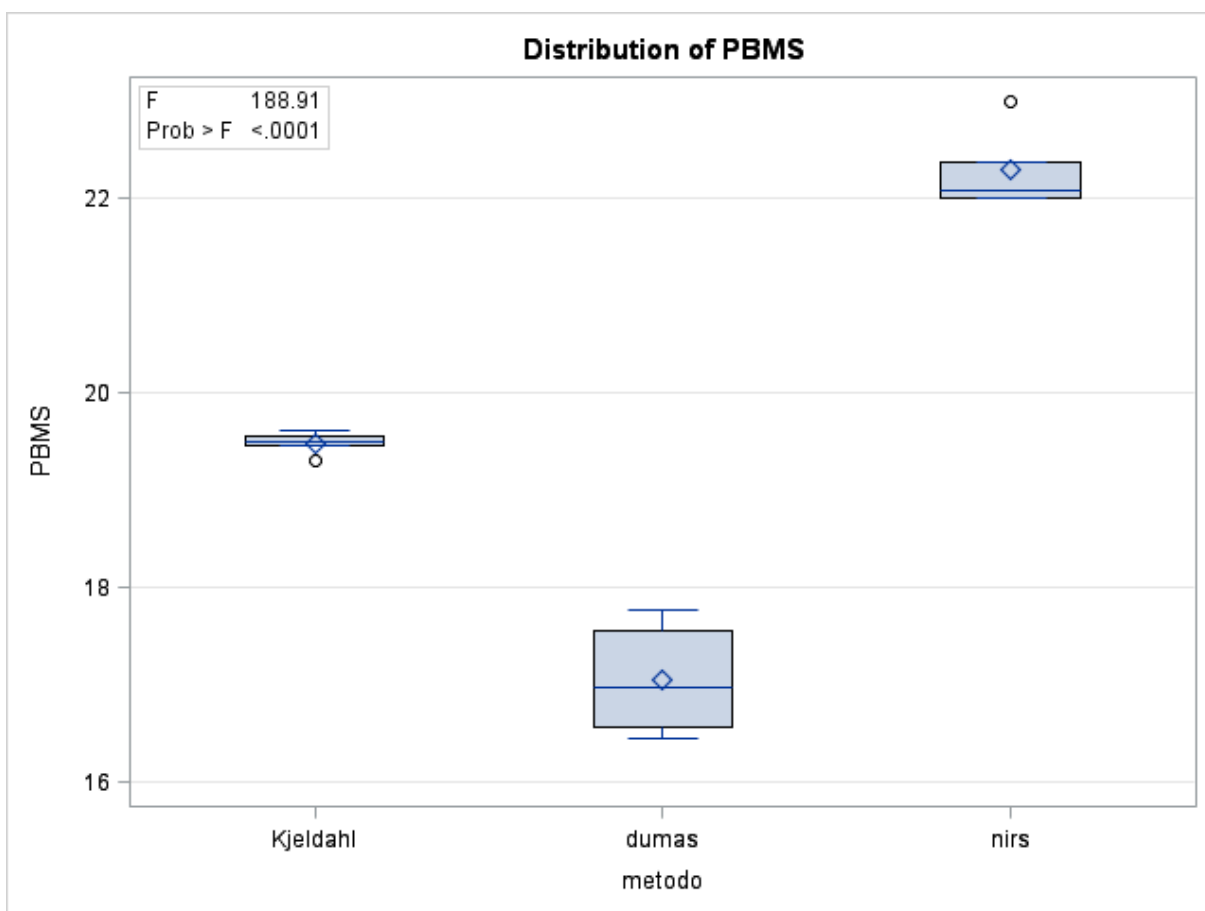
**Apêndice B** - Box Plot (diagrama de caixa) do glúten de milho, gerado pelo software SAS (Statistical Analysis System), ilustrando a comparação gráfica dos métodos:



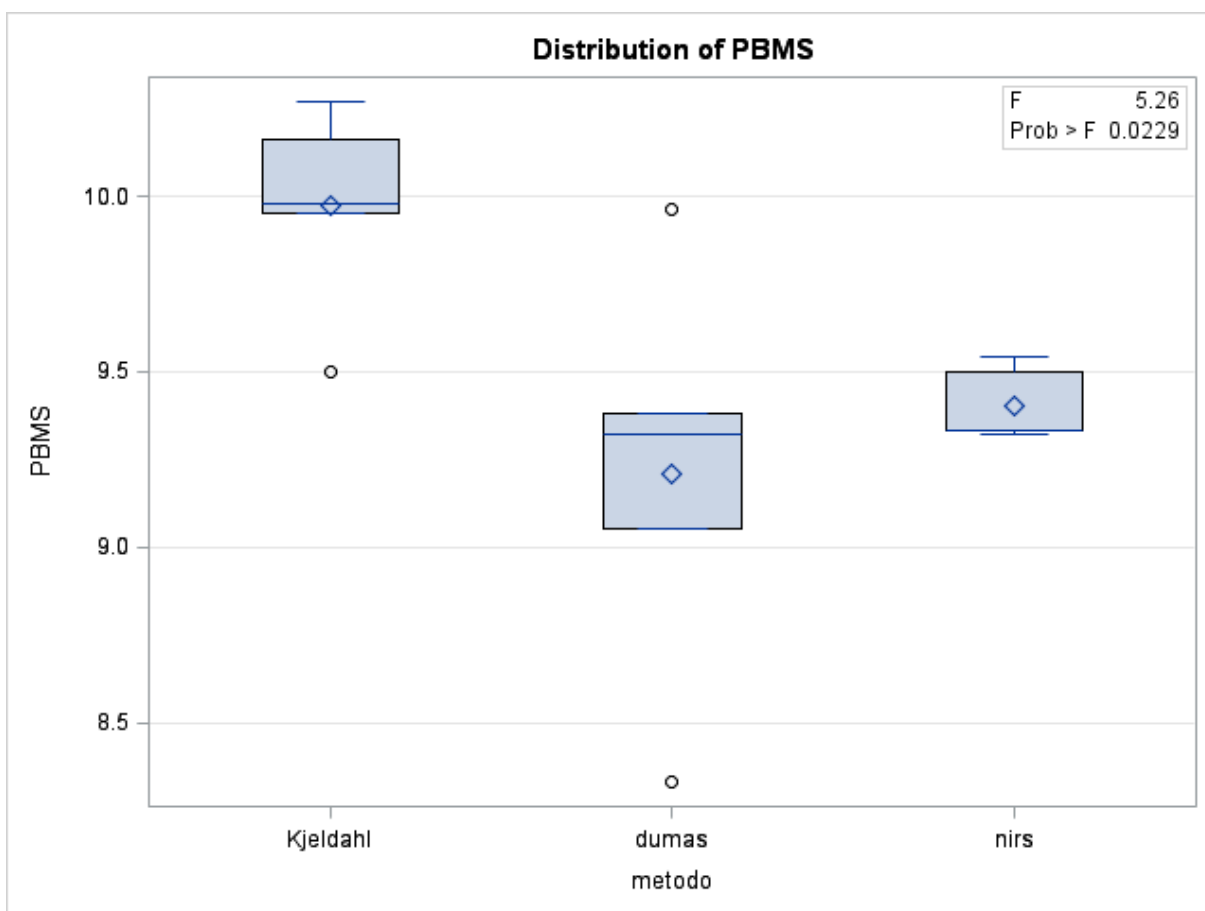
**Apêndice C** - Box Plot (diagrama de caixa) do farelo de soja, gerado pelo software SAS (Statistical Analysis System), ilustrando a comparação gráfica dos métodos:



**Apêndice D** - Box Plot (diagrama de caixa) do farelo de trigo, gerado pelo software SAS (Statistical Analysis System), ilustrando a comparação gráfica dos métodos:



**Apêndice E** - Box Plot (diagrama de caixa) do farelo de milho, gerado pelo software SAS (Statistical Analysis System), ilustrando a comparação gráfica dos métodos:



**Apêndice F** - Box Plot (diagrama de caixa) da polpa de beterraba, gerado pelo software SAS (Statistical Analysis System), ilustrando a comparação gráfica dos métodos:

