

# CONCENTRAÇÕES DE HIDRÓXIDO DE SÓDIO NAS SOLUÇÕES DE DESTILAÇÃO DO MÉTODO DE KJELDAHL SOBRE A QUANTIFICAÇÃO DO NITROGÊNIO TOTAL<sup>1</sup>

A. N. RODRIGUES<sup>2</sup>, T. E. SILVA<sup>2</sup>, E. DETMANN<sup>2\*</sup>

<sup>1</sup>Recebido em 08/02/2018. Aprovado em 05/04/2018.

<sup>2</sup>Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, Brasil.

\*Autor correspondente: e.detmann@hotmail.com

**RESUMO:** Objetivou-se avaliar os efeitos das concentrações de hidróxido de sódio na etapa de destilação sobre os teores de nitrogênio (N) total obtidos pelo método de Kjeldahl em diferentes materiais. Foram utilizadas oito amostras de diferentes materiais, sendo quatro amostras com baixo teor de N (cana-de-açúcar *in natura*, fezes bovinas, milho grão e silagem de milho) e quatro amostras com alto teor de N (carcaça ovina, caseína, farelo de girassol e farelo de soja). Adicionalmente, foram avaliadas dois padrões com conteúdo conhecido de N (HCl-Lisina e sulfato de amônio). O período experimental foi de nove dias, em que cada grupo de amostras (padrões e amostras de baixo e alto teor de N) foi analisado durante três dias consecutivos (baterias de análise). Avaliaram-se quatro concentrações de hidróxido de sódio na etapa de destilação: 300, 400, 500 e 600 g/L. Os padrões foram avaliados separadamente em termos de recuperação de N em modelo incluindo o efeito fixo de concentração de hidróxido de sódio e o efeito aleatório de bateria de análise. As amostras de alto e baixo teor de N foram avaliadas separadamente em modelo incluindo o efeito fixo de concentração de hidróxido de sódio e os efeitos aleatórios de bateria de análise, amostras e interação amostra × concentração de hidróxido de sódio. Verificou-se recuperação completa de N para os padrões ( $P > 0,01$ ). Não houve efeito de amostra, bem como interação amostra e concentração de hidróxido de sódio sobre a concentração de N nos diferentes materiais ( $P > 0,01$ ). Não foram verificados efeitos das concentrações de hidróxido de sódio sobre os teores de N dos materiais de alto e baixo nitrogênio ( $P > 0,01$ ). A variação na concentração de hidróxido de sódio não afetou a repetibilidade dos resultados. Conclui-se que concentrações de hidróxido de sódio de 300 a 600 g/L na solução empregada na etapa de destilação do método de Kjeldahl propiciam recuperação completa do N com padrão de precisão similar. Assim, considerando-se aspectos não técnicos, recomenda-se a utilização de solução com concentração de 300 g/L devido ao menor custo com reagentes.

Palavras-chave: análise de alimentos, alimentação animal, proteína bruta.

## SODIUM HYDROXIDE CONCENTRATIONS IN THE DISTILLATION SOLUTION OF THE KJELDAHL METHOD ON THE QUANTIFICATION OF TOTAL NITROGEN

**ABSTRACT:** The objective of this study was to evaluate the effects of sodium hydroxide concentrations in the distillation stage on the total nitrogen (N) contents of the Kjeldahl method in different materials. Eight samples of different materials were used: four samples with low-N content (sugar cane *in natura*, cattle feces, corn grain, and corn silage) and four samples with high-N content (sheep carcass, casein, sunflower meal, and soybean meal). Moreover, analytical two standard samples with known N content (HCl-Lysine and ammonium sulfate) were evaluated. The experimental period lasted nine days, where each group of samples (standards, high and low-N content samples) were analyzed for three consecutive days (round of analysis). Four concentrations of sodium

hydroxide were used in the distillation step: 300, 400, 500, and 600 g/L. The analytical standards were evaluated separately according to recovery of N by using a model including the fixed effect of sodium hydroxide concentration and the random effect of round of analysis. The low- and high-N samples were also evaluated separately using a model that included the fixed effect of sodium hydroxide concentration and the random effects of round of analysis, samples and sodium hydroxide  $\times$  samples interaction. A complete recovery of N from standards was observed ( $P>0.01$ ). There was no effect of samples as well as interaction between sodium hydroxide concentrations and samples on the N contents in the different materials ( $P>0.01$ ). No effects of the concentrations of sodium hydroxide were observed on the N contents ( $P>0.01$ ). The variation in sodium hydroxide concentrations did not affect the repeatability of the results. It is concluded that sodium hydroxide concentrations from 300 to 600 g/L in the solution used in the distillation step of the Kjeldahl method provide complete recovery of N with a similar pattern of precision. Thus, considering non-technical aspects, it is recommended the utilization of a solution with a concentration of 300 g/L due to the lower cost of reagents.

Key words: animal feeding, crude protein, feed analysis.

## INTRODUÇÃO

O método analítico de Kjeldahl tem sido comumente utilizado com o objetivo de acessar as concentrações de nitrogênio (N) de alimentos, dietas, fezes ou outros materiais no campo da nutrição animal. Esse método foi proposto por Johann Kjeldahl em 1883, quando este pesquisador estudava as mudanças proteicas ocorridas durante o processo de germinação e fermentação de grãos em cervejarias. Após seu estabelecimento, o método foi amplamente difundido, tornando-se importante ferramenta na química analítica (BRADSTREET, 1940).

Embora este método tenha sofrido diversas alterações ao longo do tempo, tanto em quesitos instrumentais quanto nos compostos químicos utilizados (SAÉZ-PLAZA et al., 2013), este se baseia fundamentalmente em três etapas distintas: digestão, destilação e titulação (SILVA E QUEIROZ, 2002, DETMANN et al., 2012).

No processo de destilação, segundo descrito em Silva e Queiroz (2002) e pelo Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia de Ciência Animal (DETMANN et al., 2012), a concentração de hidróxido de sódio a ser adicionada à solução após digestão é de 500 g/L, em volume equivalente a 25 mL para cada alíquota a ser analisada. Contudo, GONÇALVES (2006) relatou que concentração equivalente a 400 g/L também poderia ser utilizada. Em levantamento realizado em sete laboratórios de análises de alimentos para animais no Brasil, SOUZA et al. (2016) verificaram grande variabilidade nas concentrações das soluções

de hidróxido de sódio utilizadas, variando de 400 a 500 g/L ou, algumas vezes, expressas como razões simples de mistura de massa de hidróxido e volume de água (de 0,6 kg + 1 L a 1 kg + 2 L). Isto indica necessidade premente de informações que permitam a padronização dos procedimentos adotados no Brasil.

Por outro lado, atualmente há forte preocupação com relação a quantidade de resíduos gerados nas análises. Esta preocupação está calcada no aumento dos riscos ambientais e dos custos destas, devido principalmente à necessidade de tratamento dos resíduos (SILVA et al., 2016). Desta forma, a redução na quantidade de hidróxido de sódio utilizada na etapa de destilação do método de Kjeldahl poderia incorrer em redução de custos e de resíduos gerados em laboratórios de análise de alimentos.

Assim, objetivou-se avaliar os efeitos de diferentes concentrações de hidróxido de sódio na etapa de destilação do método de Kjeldahl sobre os teores de nitrogênio total em diferentes materiais.

## MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG. Foram utilizadas oito amostras de diferentes materiais, sendo quatro amostras com baixo teor de N (cana-de-açúcar *in natura*, fezes de novilhas alimentadas com forragem de baixa qualidade, milho moído e silagem de milho) e quatro amostras com alto teor de

N (carcaça ovina, caseína, farelo de girassol e farelo de soja). Adicionalmente, foram avaliadas duas amostras de materiais considerados como padrões analíticos, por possuírem conteúdo conhecido de N (HCl-Lisina 78% e sulfato de amônio). Todas as amostras foram obtidas em Viçosa, MG, exceto as amostras de caseína (caseína obtida de leite bovino, Sigma C7078), HCl-Lisina (Ajinomoto Animal Nutrition) e sulfato de amônio (Merck P.A. 1.01217), que foram adquiridas diretamente dos fabricantes.

As amostras, com exceção dos padrões, com alto teor de umidade foram secas em estufa com ventilação forçada (55°C) e, em conjunto com as demais amostras, foram processadas em moinho de facas com peneira de porosidade 1 mm e armazenadas em potes de polietileno. Posteriormente, o teor de matéria de seca (MS) das amostras, com exceção dos padrões, foi avaliado por secagem em estufa não ventilada a 105°C por 16 horas (método INCT-CA G-003/1) (DETMANN et al., 2012). O teor de matéria seca dos padrões foi avaliado em triplicata por intermédio do método da titulação de Karl Fisher (BRUTTEL E SCHLINK, 2006) utilizando equipamento 870 KF Titrino Plus, Metrohm.

As análises de nitrogênio foram realizadas por intermédio do método de Kjeldahl, conforme descrito no manual Métodos para Análises de Alimentos do Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia - Ciência Animal (método INCT-CA N 001/1) (DETMANN et al., 2012). Entretanto, houve modificação na relação entre o sal sulfato de sódio ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$  P.A. Vetec V000121) e o catalisador metálico sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  P.A., Isofar 321), na qual utilizou-se relação de 20:1, de acordo com alteração sugerida por SILVA et al. (2016).

As alíquotas de todos os materiais, com exceção do sulfato de amônio, foram pesados ( $\pm 200$  mg) e acondicionadas em tubos de ensaio. Em seguida, adicionou-se aos tubos 5 mL de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  grau técnico, Vetec V0T0145) e 2 g da mistura digestora previamente descrita. O padrão sulfato de amônio não foi submetido à etapa de digestão, pois este corresponde à forma química final do nitrogênio após digestão. Alíquotas de aproximadamente 50 mg deste composto foram adicionadas aos tubos de ensaio em conjunto com o ácido sulfúrico (5 mL), sendo estas conduzidas diretamente ao

processo de destilação.

O período experimental foi de nove dias, onde cada grupo de materiais (padrões e materiais de baixo e alto teor de N) foi analisado durante três dias consecutivos. Para as análises estatísticas, cada dia de análise foi considerado como bateria.

Avaliaram-se quatro concentrações da solução de hidróxido de sódio (NaOH P.A. em micropérolas, Vetec 1615.09) durante a etapa de destilação do método de Kjeldahl. As concentrações testadas foram 300, 400, 500 e 600 g/L, adicionadas em volume equivalente a 25 mL (fração padrão do copo dosador do destilador).

Em cada bateria de análise, avaliaram-se cinco alíquotas dos padrões HCl-Lisina e sulfato de amônio para cada concentração da solução de hidróxido de sódio; totalizando 15 repetições por padrão em cada concentração. As alíquotas dos materiais de alto e baixo teor de N foram avaliadas em duplicatas para cada concentração de hidróxido de sódio em cada bateria, totalizando seis repetições por amostra em cada solução. Todas as análises foram realizadas utilizando-se um único bloco digestor (Tecnal TE-040). Assim, para cada padrão, analisou-se por bateria 20 alíquotas e 8 tubos em “branco”, sendo dois tubos “brancos” para cada concentração de hidróxido de sódio. Para o caso dos materiais de alto e baixo teor de N, analisou-se por bateria 32 alíquotas e 8 tubos em “branco”, como descrito anteriormente.

Os tubos contendo as alíquotas, assim como os tubos em branco, foram acondicionados no bloco digestor, sendo iniciado o aquecimento gradativo até atingir-se a temperatura de 400°C. O ponto final de digestão foi definido no momento em que a mistura tornou-se líquida com a coloração verde translúcida, sem qualquer liberação de gases enegrecidos. Os tubos foram então retirados dos blocos digestores, resfriados em temperatura ambiente, sendo posteriormente adicionada água destilada em quantidade suficiente para dobrar o volume final da solução, procedendo-se à homogeneização manual do conteúdo dos tubos.

Em seguida, o conteúdo dos tubos foi destilado em destilador de Kjeldahl (Tecnal TE-036/1) utilizando-se hidróxido de sódio com a concentração correspondente aos níveis testados. O vapor resultante da destilação

foi recolhido em 20 mL de solução de ácido bórico (40 g/L, H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> P.A., Proquímios) tendo como indicadores vermelho de metila e verde de bromocresol. O volume final do líquido destilado foi fixado em 100 mL.

O líquido destilado foi então titulado em solução de ácido clorídrico (0,02 N para os materiais de baixo teor de N e 0,05 N para os padrões e os materiais de alto teor de N; HCl P.A. Vetec V000154). As soluções de ácido clorídrico foram previamente aferidas utilizando-se soluções de carbonato de sódio (Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> anidro P.A., Isofar 349) conforme descrito no método INCT-CA N-001/1 (DETMANN et al., 2012).

Os teores de nitrogênio nos diferentes materiais foram estimados utilizando-se a seguinte equação:

$$N = \frac{(V - B) \times Ne \times f \times 14 \times 1000}{A}$$

em que: N, teor de nitrogênio (g/kg de MS); V, volume de solução de ácido clorídrico obtido na titulação (mL); B, volume de solução de ácido clorídrico obtido na titulação do "branco" (mL); Ne, normalidade esperada da solução de ácido clorídrico; f, fator de correção da normalidade do ácido clorídrico obtido com a aferição com carbonato de sódio; e A, massa da alíquota (mg de MS).

As avaliações dos padrões analíticos (HCl-Lisina e sulfato de amônio) foram realizadas em função da recuperação do N das amostras (g/g). A recuperação de N foi calculada como a razão entre a massa de N mensurada e a massa de N esperada com base na composição química dos padrões. O teor real de N dos padrões foi estabelecido por intermédio da composição das moléculas e da pureza dos materiais. Os valores calculados de N dos padrões HCl-Lisina e sulfato de amônio foram de 137,3 e 211,9 g/kg de MS, respectivamente.

As análises estatísticas para a recuperação de N dos padrões foram conduzidas conforme o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + C_i + B_j + \varepsilon_{ijk}$$

em que:  $Y_{ijk}$  = recuperação de N medido na alíquota k, na bateria de análise j, utilizando a concentração de hidróxido de sódio i;  $\mu$  =

constante geral;  $C_i$  = efeito da concentração de hidróxido de sódio i (fixo);  $B_j$  = efeito da bateria de análise j (aleatório); e  $\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório, não observável, pressuposto NID (0;  $\sigma^2$ ).

A partir dos resultados da análise de variância, procedeu-se a avaliação da recuperação do N oriundo dos padrões por intermédio do teste t de Student, o qual foi conduzido sob as hipóteses:

$$H_0 : \mu = 1$$

$$H_a : \mu \neq 1$$

Para o caso de não rejeição da hipótese de nulidade, concluiu-se que houve recuperação completa do N presente no padrão.

As análises estatísticas quanto aos teores de N para os materiais de alto e baixo teor de N foram conduzidas separadamente. O modelo utilizado foi:

$$Y_{ijkl} = \mu + C_i + A_j + CA_{ij} + B_k + \varepsilon_{ijkl}$$

em que:  $Y_{ijkl}$  = teor de N na alíquota l, na bateria de análise k, no material j, utilizando a concentração de hidróxido de sódio i;  $\mu$  = constante geral;  $C_i$  = efeito da concentração de hidróxido de sódio i (fixo);  $A_j$  = efeito da amostra j (aleatório);  $B_k$  = efeito da bateria de análise k (aleatório);  $CA_{ij}$  = interação entre a concentração de hidróxido de sódio i e a amostra j (aleatório); e  $\varepsilon_{ijkl}$  = erro aleatório, não observável, pressuposto NID (0;  $\sigma^2$ ).

Depois de realizadas as análises de variância, procedeu-se decomposição ortogonal da soma de quadrados relativa à concentração de hidróxido de sódio em efeitos de ordem linear, quadrático e cúbico (KAPS E LAMBERSON, 2004).

Posteriormente, uma nova bateria de análises de variância foi conduzida para os teores de N de cada tipo de material (alto ou baixo teor de N) para cada concentração de hidróxido de sódio separadamente, segundo o modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + B_i + A_j + \varepsilon_{ijk}$$

em que:  $Y_{ijk}$  = teor de N na alíquota k, avaliada no material j e na bateria de análise i;  $\mu$  = constante geral;  $B_i$  = efeito da bateria de análise i (aleatório);  $A_j$  = efeito da amostra j (aleatório); e  $\varepsilon_{ijk}$  = erro aleatório, não observável,

pressuposto NID (0;  $\sigma\epsilon^2$ ).

A partir do modelo (5), estimou-se a variância residual (variabilidade entre alíquotas) para se estimar a repetibilidade dos teores de N segundo as concentrações de hidróxido de sódio, a qual é dada por:

$$r = \frac{\sqrt{\hat{\sigma}_\epsilon^2}}{\bar{Y}} \times 100$$

em que:  $r$  = repetibilidade padronizada em função da média (%);  $\hat{\sigma}_\epsilon^2$  = variância residual; e  $\bar{Y}$  = teor médio de N (g/kg de MS).

Todos os procedimentos estatísticos foram conduzidos por intermédio do procedimento MIXED do programa SAS (*Statistical Analysis System*, versão 9.4), adotando-se  $\alpha = 0,01$  como nível crítico de probabilidade para ocorrência do erro tipo I.

## RESULTADOS

Não foi observado efeito de bateria de análise sobre a recuperação de N dos padrões HCl-Lisina e sulfato de amônio ( $P > 0,01$ ; dados não mostrados). Verificou-se recuperação completa do N ( $P > 0,01$ ) do padrão HCl-Lisina para as concentrações de 300, 400 e 500 g/L de hidróxido de sódio (Tabela 1). No entanto, para este padrão, verificou-se recuperação incompleta de N ( $P < 0,01$ ) utilizando-se a concentração de 600 g/L. Em contrapartida, para o padrão sulfato de amônio, nenhuma das

concentrações de hidróxido de sódio testadas afetou a recuperação de N ( $P > 0,01$ ).

Os teores médios de N (g/kg de MS) dos diferentes materiais avaliados em função das concentrações de hidróxido de sódio testadas são apresentados na Tabela 2. Não foram verificados efeitos de bateria de análise, amostra e interação entre amostra e concentração de hidróxido de sódio tanto para materiais de alto quanto baixo teor de N ( $P > 0,01$ ; Tabela 3). Adicionalmente, nenhum efeito das concentrações de hidróxido de sódio ( $P > 0,01$ ) foi verificado sobre os as concentrações de N em ambos os tipos de materiais avaliados (Tabela 3).

Analisando-se os valores de repetibilidade padronizada dos diferentes materiais (Figura 1), verifica-se que estes foram baixos e não apresentaram nenhum padrão em função das concentrações de hidróxido de sódio nas soluções de destilação.

## DISCUSSÃO

A ausência de efeito de bateria de análise sobre as recuperações de nitrogênio nas diferentes concentrações de hidróxido de sódio reitera aspectos de rusticidade dos procedimentos de destilação realizados neste trabalho. Resultados similares foram obtidos por SILVA et al. (2016).

Na avaliação da recuperação do N a

**Tabela 1. Recuperação de nitrogênio (g/g) nos padrões HCl-Lisina e sulfato de amônio em função das concentrações de hidróxido de sódio na solução utilizada na etapa de destilação do método de Kjeldahl.**

Padrões	Concentrações de hidróxido de sódio (g/L)	Recuperação (g/g)	Valor P <sup>3</sup>
HCl-Lisina <sup>1</sup>	300	0,997	0,316
	400	0,994	0,089
	500	0,998	0,502
	600	0,988	0,005
Valor P <sup>4</sup>	-	-	0,154
Sulfato de amônio <sup>2</sup>	300	1,011	0,036
	400	1,011	0,035
	500	1,015	0,013
	600	1,009	0,093
Valor P <sup>4</sup>	-	-	0,786

<sup>1</sup>Erro padrão da média = 0,0028. <sup>2</sup>Erro padrão da média = 0,0042. <sup>3</sup>H<sub>0</sub>:  $\mu = 1$ ; H<sub>a</sub>:  $\mu \neq 1$ . <sup>4</sup>Diferença geral entre as recuperações obtidas com as diferentes concentrações de hidróxido de sódio.

**Tabela 2. Teores médios de nitrogênio (g/kg de MS) nos materiais de baixo e alto teor de nitrogênio em função das concentrações de hidróxido de sódio na solução utilizada na etapa de destilação do método de Kjeldahl.**

Material	Concentração de hidróxido de sódio (g/L)				EPM <sup>1</sup>
	300	400	500	600	
Baixo teor de nitrogênio	1,02	1,02	1,01	1,02	0,194
Alto teor de nitrogênio	10,44	10,57	10,53	10,55	2,246

<sup>1</sup> EPM = Erro padrão da média.

partir da HCl-Lisina, verificou-se que as concentrações de hidróxido de sódio de 300, 400 e 500 g/L propiciam resultados exatos. Entretanto, houve recuperação incompleta de nitrogênio na concentração de 600 g/L (Tabela 1). Contudo, deve ser considerado que o presente experimento foi conduzido em ambiente altamente controlado, o que propiciou aos resultados elevada precisão. Apesar da significância, a recuperação do N a partir da HCl-Lisina para a solução de concentração 600 g/L foi próxima a 0,99. Adicionalmente, a comparação geral entre concentrações indicou ser este valor similar ( $P > 0,15$ ) à recuperação obtida com as demais soluções (Tabela 1). Desta forma, ao que tudo indica, a recuperação do nitrogênio a partir da HCl-Lisina com a solução de concentração 600 g/L poderia ser considerada completa de forma similar às demais soluções avaliadas.

O uso do sulfato de amônio como padrão se atribuiu ao fato de este composto químico ser a forma final dos compostos nitrogenados ao

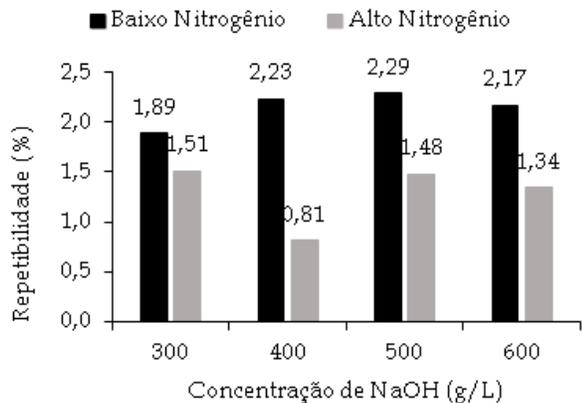
término da etapa de digestão (SILVA E QUEIROZ, 2002). Desta forma, a influência da concentração de hidróxido de sódio na destilação pode ser avaliada sem qualquer interferência ocorrida a partir da digestão. A recuperação de N foi completa em todas as concentrações de hidróxido de sódio testadas para este padrão. Esta constatação suporta que a recuperação do N a partir da HCl-Lisina com a solução de 600 g/L poderia ser considerada completa, embora tenha apresentado um aparente viés. Por outro lado, a soma dos resultados obtidos com ambos os padrões reitera que qualquer uma das concentrações testadas permitiria ao método ser capaz de recuperar todo o N presente na amostra, sem comprometer a exatidão dos valores obtidos.

A ausência de efeito das concentrações de hidróxido de sódio sobre os teores de N dos materiais de alto e baixo N pode ser observada por intermédio da não significância dos efeitos de ordem estudados (Tabela 3). Em termos teóricos, pode-se inferir que independente da

**Tabela 3. Teores médios de nitrogênio (g/kg de MS) nos materiais de baixo e alto teor de nitrogênio em função das concentrações de hidróxido de sódio na solução utilizada na etapa de destilação do método de Kjeldahl.**

Efeitos	Material	
	Baixo teor de nitrogênio	Alto teor de nitrogênio
Concentração de hidróxido de sódio <sup>1</sup>		
Linear	0,525	0,110
Quadrático	0,762	0,130
Cúbico	0,506	0,198
Amostra <sup>2</sup>	0,224	0,220
Amostra × Concentração de hidróxido de sódio <sup>2</sup>	0,279	0,615
Bateria <sup>2</sup>	0,411	0,325

<sup>1</sup>Decomposição ortogonal das somas de quadrados das concentrações de hidróxido de sódio em efeitos de ordem. <sup>2</sup>Os componentes de variância associados a cada efeito aleatório (amostras, baterias e interação amostra × concentração de hidróxido de sódio) foram avaliados por intermédio do teste Z de Wald.



**Figura 1.** Valores de repetibilidade padronizada (%) para os materiais de baixo e alto teor de nitrogênio em função da concentração de hidróxido de sódio (NaOH) na solução utilizada na etapa de destilação método de Kjeldahl.

concentração de hidróxido de sódio utilizada, a recuperação de N é a mesma para os materiais avaliados. Cabe ressaltar que, para nenhum tipo de material foi observada interação entre amostra avaliada e concentração de hidróxido de sódio, reforçando os aspectos de rusticidade do método de Kjeldahl.

De forma similar, em decorrência dos valores de repetibilidade padronizada dos diferentes materiais terem sido baixos e não terem apresentado nenhum tipo de tendência em função das concentrações de hidróxido de sódio, pode-se afirmar que, em termos de precisão, todas as concentrações das soluções de hidróxido de sódio utilizadas foram semelhantes (Figura 1). Os valores de repetibilidade aqui obtidos estão em concordância com os relatados por outros autores para o método de Kjeldahl (THIEX et al., 2002; SILVA et al., 2016).

Considerando que todas as concentrações de hidróxido de sódio avaliadas neste estudo propiciaram resultados semelhantemente exatos e precisos, a escolha da concentração a ser utilizada pode recair sobre aspectos não técnicos do método adotado. A utilização de menores concentrações de hidróxido de sódio permite redução dos custos operacionais da análise. Em comparação ao método INCT-CA N-001/1, o uso de solução com 300 g/L possibilitaria diminuição de 40% na compra e utilização de hidróxido de sódio. Adicionalmente, complementa-se o fato de a redução constituir também em menor geração

de resíduos potencialmente prejudiciais ao meio ambiente e que demandam recursos e infraestrutura para a adequada coleta, tratamento e destinação.

## CONCLUSÕES

Concentrações de hidróxido de sódio de 300 a 600 g/L na solução empregada na etapa de destilação do método de Kjeldahl propiciam recuperação completa e precisa do nitrogênio contido em amostras. Assim, considerando-se aspectos não técnicos, como o custo operacional, recomenda-se a utilização de solução com concentração de 300 g/L.

## AGRADECIMENTOS

Os autores externam seus agradecimentos ao INCT Ciência Animal, ao CNPq e à CAPES por proverem recursos para a realização deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- BRADSTREET, R.B. A Review of the Kjeldahl determination of organic nitrogen. **Chemical Reviews**, v.27, p.331-350, 1940. <https://doi.org/10.1021/cr60087a002>
- BRUTTEL, P.; SCHLINK, R. **Water determination by Karl Fisher titration**. Herisau: Metrohm, 2006. 80p.
- DETMANN, E.; SOUZA, M.A.; VALADARES FILHO, S.C.; QUEIROZ, A.C.; BERCHIELLI, T.T.; SALIBA, E.O.S.; CABRAL, L.S.; PINA, D.S.; LADEIRA, M.M.; AZEVEDO, J.A.G. **Métodos para análise de alimentos**. Visconde do Rio Branco: Suprema, 2012. 214p.
- GONÇALVES, E.C.B.A. **Análise de alimentos: uma visão química da nutrição**. 2.ed. São Paulo: Varela, 2006. 280p.
- KAPS, A.M.; LAMBERSON, W.R. **Biostatistics for animal science**. London: CABI Publishing, 2004. 445p.
- SAÉZ-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**, v.43, p.178-223, 2013. <https://doi.org/10.1080/1>

0408347.2012.751786

- SILVA, D.J.; QUEIROZ, A.C. **Análise de alimentos**: métodos químicos e biológicos. 3.ed. Viçosa: Editora UFV, 2002. 235p.
- SILVA, T.E.; DETMANN, E.; FRANCO, M.O.; PALMA, M.N.; ROCHA, G.C. Evaluation of digestion procedures in Kjeldahl method to quantify total nitrogen in analyses applied to animal nutrition. **Acta Scientiarum - Animal Sciences**, v.38, p.45-51, 2016. <https://doi.org/10.4025/actascianimsci.v38i1.29171>
- SOUZA, M.A; DETMANN, E.; FRANCO, M.O.; BATISTA, E.D.; ROCHA, G.C.; VALADARES FILHO, S.C.; SALIBA, E.O.S. Estudo colaborativo para avaliação dos teores de proteína bruta em alimentos utilizando o método de Kjeldahl. **Revista Brasileira de Saúde e Produção Animal**, v.17, p.696-709, 2016. <https://doi.org/10.1590/s1519-99402016000400013>
- THIEX, N.J.; MANSON, H.; ANDERSON, S.; PERSSON, J. Determination of crude protein in animal feed, forage, grain, and oilseeds by using block digestion with a copper catalyst and steam distillation into boric acid: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v.85, p.309-317, 2002.