

## AVALIAÇÃO DE MÉTODOS DE DETERMINAÇÃO DA MATÉRIA SECA DE SILAGENS<sup>1</sup>

João José Assumpção de Abreu Demarchi<sup>2</sup>

Gilberto Braun<sup>2</sup>

Celso Boin<sup>3</sup>

### INTRODUÇÃO

A análise de alimentos é um dos principais pontos a serem observados na área de nutrição animal, sendo seu principal objetivo conhecer a composição química, de natureza orgânica ou inorgânica, o que possibilita comparações e mistura de alimentos, e principalmente, explicações e inferências sobre o desempenho animal quando se fornece determinado alimento. Quando se compara o valor nutritivo de dois ou mais alimentos é necessário considerar seus respectivos teores de matéria seca, pois expressamos os nutrientes em base seca, ou seja, em relação à matéria seca total do alimento.

A coleta de amostras dos alimentos, visando à análise química, tem por finalidade obter amostra perfeitamente representativa da média geral do material a ser analisado. Torna-se portanto essencial todo cuidado na coleta de tais amostras, pois erros cometidos na amostragem não podem ser retificados ou compensados, por mais cuidadosas que venham a ser as futuras análises (SILVA, 1981). Segundô Gross & Averdunk, citados por McDONALD (1981), a amostragem é a principal causa de erros na determinação da matéria seca. Junte-se a isso a necessidade de manutenção da qualidade da amostra do local de coleta até o laboratório onde serão realizadas as análises físico-químicas.

<sup>1</sup> Parte da Dissertação de Mestrado do primeiro autor.

<sup>2</sup> Instituto de Zootecnia/SAA – CP 60 – CEP 13.460-000 – Nova Odessa, SP.

<sup>3</sup> EMBRAPA = CNPQC – CP 154 – CEP 79.002-270 – Campo Grande, MS.

A determinação da matéria seca ou da umidade é o ponto de partida da análise de alimentos. Existem formas de sua determinação, tais como: liofilização, secagem em estufa (com ou sem ventilação forçada), vácuo (com ou sem elevação da temperatura), destilação com tolueno, microondas, infravermelho, métodos químicos, etc. Silagens e outras forragens submetidas à fermentação podem sofrer perdas de determinadas substâncias durante a secagem em estufa, como: ácidos orgânicos, amônia, etanol, etc., que podem ser superiores a 10% (McDONALD, 1981). WOOLFORD (1984) afirma ser possível a determinação de matéria seca de silagens secando-se as amostras em estufa a 100°C durante 16 horas, mas que ela é subestimada pela perda de compostos voláteis. Essas perdas, dependendo do teor de matéria seca e dos ácidos graxos, pode ser maior que 22%.

MARTINEZ et al. (1989), secando *P. purpureum* cv. Taiwan A-144 em estufa a 70°C durante 72 h, não verificaram efeito do tamanho da partícula (2 a 5 cm versus 10 a 20 cm), contudo recomendaram que secagens a 60°C deveriam ser feitas por um período mínimo de 72 h, enquanto que para temperaturas mais elevadas (70, 80 ou 100°C), 48 h foram suficientes.

HAIGH & HOPKINS (1977) analisaram amostras de 205 silagens pelo método de secagem de estufa a 100°C e pelo de destilação com tolueno. Encontraram até 11% de diferença entre dois métodos para os valores de matéria seca determinados. Comparando estes dois métodos, também, WILSON (1964) encontrou maiores diferenças para silagens com baixo teor de matéria seca e alto pH, explicando que, nestas condições, a concentração de ácidos graxos voláteis (AGV) é alta, e rapidamente perdida no processo de secagem. Além disso, a proteína em silagens de pH alto é mais degradável, e ocorre a liberação de compostos voláteis como a amônia. DERIKX et al. (1994), avaliando esterco diversos, verificaram que, para pH abaixo de 4,0, todo o nitrogênio amoniacal foi fixado, enquanto que o mesmo efeito de fixação foi verificado para AGV (ácidos graxos voláteis) em pH acima de 10,0.

AERTS et al. (1974), utilizando temperaturas de 70 e 100°C para fazer a pré-secagem, em estufas, de diversos tipos de amostras, não verificaram diferenças significativas entre os teores de matéria seca, apenas uma tendência de redução dos teores com o aumento da temperatura. Já BRAHMAKSTRIYA & DONKER (1971), utilizando as mesmas temperaturas (70 e 100°C), detectaram aumento significativo nas perdas de matéria seca.

Para SILVA (1981) existe um método DIRETO, que se baseia na secagem das amostras em estufas, de preferência ventiladas, numa temperatura de 70 a 80°C, durante aproximadamente 48 h, com o cuidado de fazer a pesagem das amostras imediatamente após a retirada da estufa, ainda a quente. Isto difere do método tradicional, em que se espera o equilíbrio da amostra com a umidade relativa do ar por 12 a 24 h. Este método fornece aproximação bastante razoável da matéria seca total, sem precisar calcular a matéria seca real (padrão). Presta-se tanto para avaliar forragens a serem ensiladas e fenos para fins de conservação, como para estimativas de produtividade de qualquer planta forrageira. O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a efetividade desta metodologia para silagens.

## MATERIAL E MÉTODOS

Durante o ciclo de uma cultura de sorgo (AG-2005-E/Duplo-propósito), foram produzidas silagens em barricas de 220 L em cinco estádios de maturação dos grãos: A – grãos leitosos com 92 dias de ciclo; B – leitosos/pastosos/99 dias; C – farináceos/106 dias; D – farináceos/117 dias, E – duros/134 dias. Depois de um período médio de 70 dias após a ensilagem, durante os ensaios de digestibilidade, foram coletadas três amostras de silagem por barrica (silo), simultaneamente ao fornecimento aos animais, sendo uma do terço superior, outra do meio e a última do fundo. Estas amostras foram congeladas e posteriormente homogeneizadas em uma amostra composta por silo. Cada amostra composta foi subdividida em três porções, submetidas às seguintes determinações: uma para matéria seca em estufa e demais análises químicas, outra para porcentagem de

grãos, e a última, mantida fresca, para determinação da matéria seca pelo método de destilação com tolueno, pH, nitrogênio total (N-total) e amoniacal ( $\text{NH}_3/\text{N-total}$ ), segundo DEMARCHI (1993). Não foi possível a quantificação dos ácidos graxos voláteis.

Uma porção das amostras, descongeladas à sombra (12 horas), foram homogeneizadas e colocadas em 4 bandejas de alumínio para secagem em estufa com circulação forçada de ar, regulada a  $60^\circ\text{C}$ , até peso constante (aproximadamente 48 a 72 h). Decorrido este período, foram pesadas imediatamente após retiradas da estufa, com as bandejas ainda quentes, determinando-se quatro valores de matéria seca, denominada de “%MS-DIRETA” (SILVA, 1981). As bandejas permaneceram 24 horas fora da estufa para atingir o equilíbrio com a umidade relativa do ar, quando então foram novamente pesadas, determinados novos valores de matéria seca, chamados “MS60-PARCIAL (SILVA, 1981). Após esta pesagem, duas das quatro bandejas retornaram à estufa, só que reajustada para  $105^\circ\text{C}$ , também para secagem até peso constante (24 h). A pesagem foi novamente realizada imediatamente após a retirada das bandejas da estufa, e calculados os valores de matéria seca, identificados como “MS105-DIRETA”(SILVA, 1981). Este material foi descartado.

As amostras das bandejas restantes foram moídas em moinho tipo Wiley, homogeneizadas em separadores, envasadas e identificadas. Foi determinada a matéria seca em cadinhos de porcelana (2 g de amostra) em estufa sem ventilação forçada de ar, regulada a  $105^\circ\text{C}$  durante 12 horas (AOAC, 1984). A pesagem foi feita após o resfriamento da amostra em dessecador, o valor obtido foi denominado “MS105-PARCIAL” (SILVA, 1981). Os valores de %MS60 e %MS105-PARCIAIS foram utilizados para cálculo da matéria seca padrão nos laboratórios, multiplicando-se uma pela outra e dividindo-se por cem, para obter a “%MS PADRÃO” (SILVA, 1981). O fluxograma completo do esquema de determinação da matéria seca é mostrado na Figura 1.

Uma segunda porção das amostras das silagens, ainda congeladas, foram moídas em liquidificador com copo de aço inox,

utilizando-se gelo seco e nitrogênio líquido para que a amostra não “empastasse” e houvesse significativa redução do tamanho das partículas e maior homogeneização da massa. Para determinação da matéria seca pelo método de destilação com tolueno ou toluol ( $C_6H_5CH_3$ ) foi utilizado um equipamento apropriado com balão de 500 mL, coletor com capacidade para 25 mL e condensador, como proposto por DEWAR & McDONALD (1961).

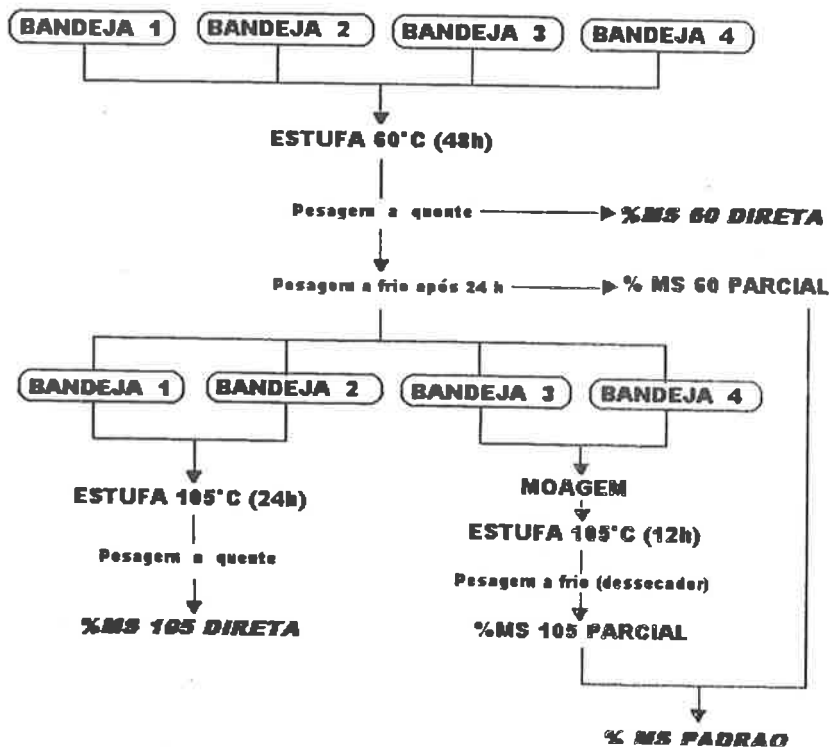


Figura 1. Fluxograma de determinação da matéria seca em estufas.

O tempo de destilação aplicado foi determinado através do teste de recuperação d'água, com utilização de pedaços de espuma umedecidas com 10 e 20 mL de água destilada, além de bolinhas de vidro, que evitaram a ocorrência de explosões durante a fervura. Esse material foi imerso em tolueno até completar um volume de 250 mL. A temperatura foi mantida no máximo até o início da fervura, quando o reostato foi reduzido para impedir explosões durante o processo e proporcionar tempo de a água se condensar e ficar retida no coletor. Não foi possível a quantificação do número de gotas de tolueno condensadas por minuto, como recomendado pela bibliografia. A recuperação de 99% da água contida na esponja foi obtida 2,5 horas após o início da fervura, com a leitura feita após a imersão dos coletores em água para resfriamento até temperatura ambiente, o que demorou aproximadamente 20 minutos.

As amostras de silagem moidas frescas, depois de descongeladas à sombra, foram mantidas no processo de destilação por até 8 horas, verificando-se que após 2,5 horas já não havia mais extração de água da amostra. A quantidade de amostra utilizada variou em função do ajuste da quantidade de água nela contida, não se permitindo que esta fosse superior a 20 mL, variando-se, com isso, de 30 a 40 g de matéria verde por determinação. A quantidade esperada de água por amostra foi obtida pela determinação da matéria seca dessas amostras em estufa, conforme descrito anteriormente (Figura 1), mas com uso de Placas de Petri ao invés de bandejas de alumínio. Esta determinação foi feita para verificar também as alterações provocadas pela moagem, com gelo seco e nitrogênio líquido, nos teores de matéria seca das amostras (eficiência do método).

Os experimentos, inteiramente casualizados, com 5 repetições, foram fatoriais de 4 métodos de determinação de matéria seca  $\times$  5 estádios de maturação dos grãos, como já se descreveu. Aos dados de cada um deles se aplicou a análise da variância, associada à comparação das médias de Métodos pelo teste de Tukey e ao estudo da regressão para Estádios.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

As características físico-químicas determinadas para as silagens em estudo constam da **Tabela 1**, assim como alguns resultados relativos a sua análise estatística. Tais dados mostram que todas as silagens nos cinco estádios de maturação foram consideradas de boa qualidade fermentativa, pois tanto o pH (inferior a 4,2), quanto o nitrogênio amoniacal (menor que 13%), estão dentro de limites considerados adequados (Wieringa; Breirem & Uvesli; Nilsson & Nilsson; Saue & Uvesti, citados por ANDRIGUETTO et al., 1984; McDONALD, 1981). Por outro lado, o componente linear da regressão referente aos Estádios foi altamente significativo em todos os casos, com exceção do pH, com efeito médio decrescente para N-total, N-NH<sub>3</sub> e Densidade de MV, e crescente para NIDA, Densidade de MS e % de Grãos.

Os valores de nitrogênio insolúvel em detergente ácido (NIDA) aumentaram linearmente com a maturidade e conseqüentemente com os teores de matéria seca, o que teria sido provocado pela permanência de maiores quantidades de oxigênio na fase inicial da fermentação (maior dificuldade de compactação e maior presença de grãos). Isto aumentou o período de respiração e conseqüentemente elevou a temperatura da massa ensilada, provocando aumentos na reação de Maillard (VAN SOEST, 1983), alterando a estrutura da parede celular e tornando o nitrogênio indisponível para digestão microbiana no rúmen.

A **Tabela 2** mostra as médias de Matéria Seca, para determinações tanto em Bandejas de Alumínio como em Placas de Petri. Em ambos os casos a Interação Métodos × Estádios deu valores de F inferiores à unidade, isto é, não houve o menor indício de Interação significativa, o que justifica a comparação separada entre Métodos ou entre Estádios.

**Tabela 1.** Características físico-químicas das silagens avaliadas.

Estádios de maturação	N-total (% da MS)	N-NH <sub>3</sub> (% do N- total)	NIDA (% do N total)	pH	Densidade (kg/metro <sup>3</sup> )		% de Grãos (base seca)
					MV	MS	
A	1,81	13,3	7,60	3,96	515	163	35,1
B	1,61	9,94	14,3	4,04	497	187	45,2
C	1,55	11,0	13,2	4,08	491	185	48,9
D	1,50	6,00	17,2	4,00	440	201	51,3
E	1,41	6,38	18,6	4,01	415	207	47,4
Média geral	1,58	9,31	14,2	4,02	471	189	45,6
CV	6,78%	13,2%	25,5%	1,93%	3,7%	5,3%	5,6%
s( $\hat{m}$ )	0,11	1,24	3,61	0,08	17,2	10,0	2,8
Regressão	Nível de significância da regressão						
Linear	0,001	0,001	0,005	0,838	0,001	0,001	0,001
Quadrática	0,050	0,006	0,205	0,013	0,597	0,026	0,001
Cúbica	0,206	0,165	0,568	0,008	0,114	0,516	0,240
R <sup>2</sup>	0,952	0,859	0,776	0,725	0,959	0,923	0,989

1. R<sup>2</sup> é o coeficiente de determinação da regressão para estádios de maturação.

Considerando apenas as determinações em Bandejas de Alumínio, a %MS60-DIRETA não diferiu da % MS-TOLUENO, mas foi significativamente maior (P<0,05) que as demais determinações em estufa, que não diferiram entre si (Tabela 2). Isto indica que, para o tipo de silagem utilizado neste trabalho, o método de determinação proposto por SILVA (1981) equivale ao método considerado padrão. Os teores mais altos da %MS60-DIRETA em relação aos demais indicam que esta variação é provavelmente provocada pela menor perda de compostos voláteis, como os ácidos graxos voláteis formados durante o processo de fermentação, durante a secagem em estufas, com



relação às temperaturas mais altas, próximas de 105°C, já que a perda de compostos nitrogenados é praticamente inexistente, segundo DERIKX et al. (1994). Pode-se questionar também se toda a água foi realmente retirada da amostra por este método. Contudo, estes resultados são concordantes com os obtidos por BRAHMAKSHATRIYA & DONKER (1971).

**Tabela 2.** Porcentagem de matéria seca das silagens.

Estádios de Maturação	Placas de Petri (amostra processada)					Bandejas de Alumínio (amostra íntegra)				
	%MS60 direta	%MS105 direta	%MS padrão	%MS Tolueno	Média de Estádio	%MS60 direta	%MS105 direta	%MS padrão	%MS Tolueno	Média de Estádio
A	29,9	28,9	29,0	31,6	29,9D	31,6	29,8	29,2	31,6	30,6D
B	36,8	35,8	36,3	37,7	36,6C	37,5	35,1	35,9	37,7	36,6C
C	36,4	35,4	35,3	37,2	36,1C	37,7	34,9	32,9	37,2	35,7C
D	46,0	45,7	44,7	46,7	45,8B	45,8	42,7	43,9	46,7	44,8B
E	49,7	48,4	48,6	50,7	49,4A	49,9	46,3	46,0	50,7	48,3 <sup>A</sup>
Média	39,8 <sup>ab</sup>	38,8 <sup>b</sup>	38,8 <sup>b</sup>	40,8 <sup>a</sup>		40,5 <sup>a</sup>	37,8 <sup>b</sup>	37,6 <sup>b</sup>	40,8 <sup>a</sup>	
Regressão	Nível de significância da regressão					Nível de significância da regressão				
Linear	0,001					0,001				
Quadrática	0,015					0,152				
Cúbica	0,366					0,442				
R <sup>2</sup>	0,936					0,884				

1. Médias seguidas de letras minúsculas iguais dentro de uma mesma linha, ou maiúsculas dentro de uma mesma coluna, dentro do mesmo material, não diferem entre si a nível de 5,0% de probabilidade.

2. R<sup>2</sup> é o coeficiente de determinação da regressão para estádios de maturação.

3. Não houve interação significativa entre Estádios e Métodos de determinação da matéria seca.

O processamento com gelo seco e nitrogênio líquido e posterior determinação da matéria seca em Placas de Petri não alteraram significativamente os resultados de matéria seca, mas talvez tenham reduzido a possibilidade de detecção de diferenças entre os métodos,

devido ao reduzido tamanho da amostra colocada em estufa, além da maior probabilidade de erros nos congelamentos e descongelamentos e sub-amostragens. Isso evidencia o cuidado que devemos ter no uso de pequenas amostras em ensaios comparativos de métodos de determinação de matéria seca, como este.

Esses resultados mostram que os valores de %MS60-DIRETA e de %MS-TOLUENO para silagens não diferiram significativamente, mostrando que as perdas de matéria seca pelo processo fermentativo nesse método, se ocorreram, não foram detectadas, e que o método de %MS-TOLUENO, sem as correções, poderia ser substituído pela metodologia proposta por SILVA (1981).

A %MS-TOLUENO, sem correção, pelo fato de não diferir da %MS-DIRETA determinada em Bandejas de Alumínio, sugere que esta última, além de ser mais econômica, prática e fácil de ser executada, também é um bom método de avaliação da matéria seca de silagens com as características físico-químicas das usadas neste trabalho.

Note-se (**Tabela 2**), que o componente linear de regressão para Estádios foi altíssimamente significativo ( $P < 0,001$ ) tanto no caso de Bandejas de Alumínio como no de Placas de Petri, com efeito médio crescente em ambos os experimentos.

## CONCLUSÕES

1. A metodologia de amostragem de silagens deveria ser modificada para um sistema onde um cano de PVC fosse introduzido no perfil do silo (barrica de 220 L), evitando-se o número excessivo de amostragens durante o esvaziamento dos silos na condução dos ensaios de digestibilidade. Essa amostra única representaria todo o perfil do silo, evitando-se coletas de topo, meio e fundo, e

- também o congelamento delas para posterior homogeneização.
2. O preparo de amostras com gelo seco e nitrogênio líquido não alterou significativamente as porcentagens de matéria seca das silagens determinadas em Placas de Petri ou estufa com circulação forçada de ar. Contudo, amostras pequenas como estas aparentemente interferiram nos resultados pela menor sensibilidade em detectar perdas de compostos voláteis.
  3. A utilização do método %MS-TOLUENO para amostras de silagens com os perfis fermentativos apresentados, por não diferir da %MS60-DIRETA, poderia ser dispensável por ser um método mais difícil e oneroso de ser utilizado como rotina nos laboratórios. Contudo, este resultado foi obtido sem a correção dos ácidos graxos perdidos na água destilada.
  4. A determinação da matéria seca pelo método %MS-DIRETA é uma forma rápida, econômica e eficiente de estimar a MS de silagens com bom padrão fermentativo ( $\text{pH} < 4,2$  e  $\text{N-NH}_3 < 12\%$ ), não diferindo significativamente da %MS-PADRÃO.

## RESUMO

Foram avaliados três métodos de determinação da matéria seca em estufa e um por destilação com tolueno, de silagens de sorgo em cinco estádios de maturação: %MS-PADRÃO, %MS60-DIRETA, %MS105-DIRETA e %MS-TOLUENO. Não houve diferença significativa entre %MS-TOLUENO e %MS-DIRETA, mas ambas foram significativamente superiores a %MS105-DIRETA e a %MS-PADRÃO ( $P < 0,05$ ), que não diferiram entre si. Essa diferença foi provavelmente devida a perda de compostos voláteis em temperaturas

superiores a 100°C. Portanto, para silagens de boa qualidade fermentativa, a %MS60-DIRETA pode ser utilizada como uma forma de avaliação rápida e eficiente da sua porcentagem de matéria seca.

**Palavras - chave:** Avaliação, determinação, estufa, matéria seca, métodos, silagem, secagem, tolueno, umidade.

## SUMMARY

### EVALUATION OF METHODS OF SILAGE DRY MATTER DETERMINATION

Three methods were evaluated, by oven drying and one by toluen destillation, in silage samples, in five maturity stages: STANDARD-%DM, DIRECT-%DM60, DIRECT-%DM105 and TOLUEN destillations. There wasn't any significant difference between DIRECT-%DM60 and TOLUEN destillation, but DIRECT-%DM105 and STANDARD-%DM gave lower values ( $P < 0.05$ ) than the others. This difference probably was caused by volatile substance losses in temperatures above 100°C. So, for well fermented silages, the DIRECT-%DM60 can be used as a form of fast and efficient evaluation of dry matter content.

**Key words:** Evaluation, determination, dry matter, drying, humidity, methods, oven drying, silage, toluen.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AERTS, J.V.; D.L. de BRANDADER & B.G. COTTYYN, 1974. Comparison of Methods for Dry Matter Determination of High Moisture Roughages and Faeces. *J. Sci. Food Agric.*, **25**: 619-627.

- ANDRIGHETTO, J.M.; L. PERLY & I. MINARD, 1984. **Nutrição Animal**. 3.ed. São Paulo, Nobel. V. 1, 395p.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS, 1984. **Official Methods of Analysis**. 15.ed. Washington. 1141p.
- BRAHMAKSTRIYA, R.D. & J.D. DONKER, 1971. Five Methods for Determination of Silage Dry Matter. **J. Dairy Science**, Albany, **54**(10): 1470-75.
- DEMARCHI, J.J.A.A., 1993. Produção, Valor Nutritivo e Características do Sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench), Colhidos em Cinco Estádios de Maturação, e de suas Silagens. Piracicaba. 230p. (Mestrado – ESALQ/USP).
- DERIKX, P.J.L.; H.C. WILLERS & P.J.W. TEN-HAVE, 1994. Effect of pH on the Behavior of Volatile Compounds in Organic Manures During Dry Matter Determination. **Bioresource Technology**, **49**: 1, 41-45.
- DEWAR, W.A. & P. McDONALD, 1961. Determination of Dry Matter in Silage by Distillation With Toluene. **J. Sci. Food Agric.**, **12**: 700-795.
- HAIGH, P.M., 1977. Relationship Between Oven and Toluene Dry Matter in Grass Silage. **J. Sci. Food Agric.**, **28**: 477-480.
- HARVEY, W.R., 1990. **Least Square and Maximum Likelihood General Purpose Program**. Ohio University. 465p.
- MARTINEZ, J.; F. OJEDA; I. YEPES; I. JACOME, 1989. Formas de Secado en la Determinación de la Matéria Seca en el *Pennisetum purpureum* cv., Taiwan A-144. I. Porcentaje de Matéria Seca. **Pastos y Forrajes**, **12**: 1, 59-64.
- McDONALD, P., 1981. **Biochemistry of Silage**. Toronto, John Willey. 228p.
- SAS Institute Inc., 1988. **SAS-STAT User's Guide**, ed. Gary, NC.
- SILVA, D.J., 1981. **Análise de Alimentos (Métodos Químicos e Biológicos)**. Viçosa, UFV, Impr. Univ. 166p.
- VAN SOEST, P., 1983. **Nutritional Ecology of the Ruminant Metabolism, Nutritional Strategies, the Cellulolytic**

**Fermentation and the Chemistry of Forages and Plant Fibers.** Cornell University. 490p.

WILSON, R.F.; J.,M.A. TILLEY & M. STEEMERS, 1964. A Comparison of Oven Drying and Toluene Distillation in the Determination of the Dry Matter Content of Silage. **J. Sci. Food Agric.**, 15: 197-200.

WOOLFORD, M.K., 1984. **The Silage Fermentation.** Hurley, The Grassland Research Institute. 350p.