

Linearização de curvas de titulação para determinação da capacidade tamponante da fibra de alimentos em ampla faixa de pH

Juahil Martins de Oliveira Júnior^{1*}, Luciane Bockor², Markus Eggers³, Martin Gierus³, João Ricardo Dittrich² e Marson Bruck Warpechowski²

¹Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade Estadual de Filosofia, Ciências e Letras de Paranaguá, Paranaguá, Paraná, Brasil. ²Departamento de Zootecnia, Setor de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Paraná, Rua dos Funcionários, 1540, 80035-050, Curitiba, Paraná, Brasil. ³Christian Albrechts University Kiel, Kiel, Alemanha. *Autor para correspondência. E-mail: juahiljunior@yahoo.com.br

RESUMO. Foi avaliado o método de linearização de curvas de titulação para determinação da capacidade tamponante (CT) da fibra em detergente neutro (FDN) de 13 alimentos. Foram utilizados dados individuais de dois experimentos, incluindo amostras de aveia branca, aveia preta, azevém, trevo branco e trevo vermelho (ensaio 1), além de amostras de milho, farelo de soja, palha de trigo e cinco misturas destes alimentos (ensaio 2). As titulações foram realizadas do pH inicial até o pH 2,0. A acidez titulável (AT) foi medida como a quantidade de HCl necessária ($\text{mEq H}^+ \text{g}^{-1}$ de FDN) para redução do pH inicial da solução até o pH 4,0; 3,0 e 2,0, e a medida taxa linear de tamponamento (TLT) foi obtida como inverso da inclinação da regressão linear entre a medida linearizada do pH, calculada como EXP (1 pH^{-1}), e a adição acumulada de HCl em cada intervalo. A transformação resultou em ajuste satisfatório à regressão linear para todos os materiais estudados, com r^2 maior que 0,85 e erro-padrão residual menor que 0,059. Houve correlação positiva entre a AT e a TLT medidas nas diferentes faixas de pH. Diferentemente da AT, o método TLT permite obtenção da CT como taxa linear única, válida em qualquer intervalo de pH de 8,0 ao 2,0.

Palavras-chave: acidez titulável, capacidade tamponante, fibra em detergente neutro, propriedade físico-química, regressão linear.

ABSTRACT. Linearization of the titration curves for determination of buffering capacity of feed fiber in a wide pH range. A method for linearization of titration curves and its application to determine the buffering capacity (BC) of neutral detergent fiber (NDF) from 13 feeds and their mixtures was evaluated. Individual data from 2 essays, including samples of white oat, black oat, ryegrass, red clover and white clover (essay 1), and samples of corn, soybean meal, wheat straw and mixtures of these five feeds (essay 2). Titration was performed just to the pH 2.0. The titratable acidity was measured as the amount of HCl needed (mEq g^{-1} NDF) to reduce the initial pH of the solution down to 4.0, 3.0 and 2.0, and the linear buffer (LB) measure were determined as the inverse of the slope of the linear regression between linearized pH, calculated as EXP (1 pH^{-1}), and the accumulated HCl in each interval. The transformation presented satisfactory fitting to linear regression for all materials evaluated, with r^2 higher than 0.85 and standard error residual lower than 0.059. A positive correlation between TA and LB evaluated in the different ranges of pH was obtained. Unlike TA, the LB method makes it possible to obtain the BC as a single linear ratio, valuable for every pH interval from 8.0 to 2.0.

Key words: titratable acidity, buffering capacity, neutral detergent fiber, physical-chemical property, linear measure.

Introdução

A capacidade tamponante (CT) pode ser definida como a habilidade de um alimento ou ingrediente em suspensão aquosa resistir a alterações de pH após adição de solução ácida ou básica (GIGER-REVERDIN et al., 2002). Em nutrição animal, a CT dos alimentos tem sido, usualmente, determinada por titulação direta de amostra em solução aquosa até um valor de pH estipulado (acidez ou alcalinidade titulável, AT) (McBURNEY et al., 1983;

WARPECHOWSKI et al., 2005; WARPECHOWSKI; CIOCCA, 2006; BOCKOR et al., 2007), ou pela razão entre a AT e o intervalo de pH utilizado (McBURNEY et al., 1983; GABERT et al., 1995; LAWLOR et al., 2005; BOCKOR et al., 2007), ou ainda utilizando-se parâmetros das curvas de titulação, em que a CT é calculada como o inverso da inclinação da regressão linear obtida entre o pH (Y) e a quantidade adicionada de ácido ou base (X) (GIGER-REVERDIN et al., 2002).

A avaliação da CT, a partir das curvas de titulação, tem sido realizada em amostras de alimento (GABERT et al., 1995; GIGER REVERDIN et al., 2002; LAWLOR et al., 2005; BOCKOR et al., 2007) ou de frações do mesmo, como na fibra detergente neutro (FDN) (McBURNEY et al., 1983; WARPECHOWSKI et al., 2005; WARPECHOWSKI; CIOCCA, 2006). Porém, nos dois casos, as curvas de titulação apresentam comportamento não-linear, especialmente em faixas de pH abaixo de 4,0 (McBURNEY et al., 1983; VAN SOEST et al., 1991; GABERT et al., 1995; GIGER-REVERDIN et al., 2002; WARPECHOWSKI; CIOCCA, 2006). Essa falta de linearidade resulta em não-aditividade da medida CT em faixas de pH abaixo de 4, ou seja, não permite se estimar a CT de misturas a partir dos valores de CT de seus componentes.

A tentativa de utilização de medidas, como proposto por Van Ooijen (2000), determina a CT na parte linear da curva, ou seja, do pH inicial até o pH 5, de forma a serem medidas mais aditivas. Entretanto, o efeito não-linear é maior exatamente na entrada da porção assintótica inferior da curva, que ocorre a partir do pH em torno de 4 e 3,5 (MCBURNEY et al., 1983; VAN SOEST et al., 1991; GABERT et al., 1995; WARPECHOWSKI; CIOCCA, 2006).

Considerando-se a função logarítmica que dá origem à medida do pH (VAN SLYKE, 1922), a utilização de transformação exponencial poderia ajustar regressões lineares às curvas de titulação dentro da faixa ampla do pH fisiológico no trato gastrointestinal (8 a 2). Medidas da CT obtidas dessa forma poderiam ser suficientemente aditivas para uso na formulação linear, além de resultar em uma única medida que atenda aos interesses de formulação para diferentes espécies e momentos da digestão e fermentação no trato gastrointestinal.

A CT dos alimentos tem importante influência nos processos de fermentação e tamponamento ruminal (VAN SOEST et al., 1991). Em animais não-ruminantes, a CT dos alimentos pode interferir no pH da digesta no trato gastrointestinal (PENZ JR., 1991). Esta atividade pode ser especialmente importante para leitões recém-desmamados, que apresentam baixa capacidade de secreção de HCl, o que resulta em pH gástrico elevado, predispondo o desenvolvimento de microrganismos indesejáveis (GABERT et al., 1995; LAWLOR et al., 2005). A CT dos alimentos tem sido considerada importante modulador do pH no trato digestório de suínos (PENZ JR., 1991) e ruminantes (VAN SOEST et al., 1991).

Este trabalho foi realizado com o objetivo de avaliar um método de linearização de curvas de titulação para determinação da CT da fibra de diferentes alimentos em faixas de pH do 8 ao 2.

Material e Métodos

Para o presente trabalho foram utilizados dados individuais das curvas de titulação da FDN de diferentes alimentos, provenientes de dois trabalhos distintos, a saber: a) amostras de aveia branca, aveia preta, azevém, trevo branco e trevo vermelho, obtidas em segundo corte de canteiros experimentais do Departamento de Zootecnia da Universidade Federal do Paraná, durante o inverno de 2007, em Curitiba, Estado do Paraná (ensaio 1) (EGGERS, 2009); b) amostras de milho, farelo-de-soja, palha-de-trigo e as misturas compostas por 65% do milho + 35% do farelo-de-soja, e desta mistura diluída em 7,5; 15; 22,5 e 30% com a palha de trigo, utilizados no trabalho publicado por Warpechowski e Ciocca (2006) (ensaio 2).

A fibra dos alimentos utilizada para a determinação de CT no ensaio 1 foi obtida de acordo com a metodologia adotada por Warpechowski e Silva (2006), a partir do resíduo da análise de FDN restante no cadinho de vidro sinterizado, após secagem em estufa de ar forçado a 65°C por uma noite. O teor de MS da FDN dessas amostras foi estimado pela análise de duplicatas, que foram secas em estufa de ar forçado a 105°C por uma noite, de acordo com procedimento adotado por Warpechowski e Silva (2006). Os resultados do ensaio 1 foram obtidos de duas diferentes parcelas (blocos), colhidas no mesmo dia, enquanto que para os materiais do ensaio 2 foram analisadas replicatas da mesma amostra.

A separação do resíduo em detergente neutro dos alimentos provenientes do ensaio 2 foi realizada conforme técnica descrita por McBurney et al. (1983), com as modificações descritas por Warpechowski e Ciocca (2006).

Para todos os materiais estudados, a determinação das curvas de titulação foi realizada de acordo com a metodologia descrita por McBurney et al. (1983), utilizando-se 0,40 a 0,50 g de amostra suspensa em 50 mL de água destilada e deionizada, de acordo com modificações adotadas por Warpechowski e Ciocca (2006). O pH inicial (pHi) foi determinado em todas as amostras e, para o ensaio 1, foi utilizada solução de NaOH 0,050 N para se elevar o pH da mistura até 8. Em seguida, a mistura foi titulada com HCl até o pH 2, sendo utilizado HCl 0,05 N no início da titulação até

próximo ao pH 6 e de 0,10 N até o pH final, enquanto no ensaio 2 foi utilizado apenas HCl 0,10 N em toda a titulação. No ensaio 1, o pH foi medido após 60 s de estabilização após cada adição de HCl, com volume variável, de forma a se obter intervalos de aproximadamente 0,2 pontos de pH. No ensaio 2, foi utilizada adição de volumes fixos de 0,01 mL de HCl e medição do pH após 30 s de estabilização após cada adição. Os volumes de HCl adicionados foram expressos em mEq g⁻¹ MS de FDN.

A AT (mEq g⁻¹ de FDN), nos diferentes intervalos, foi obtida como a quantidade de ácido necessária para redução do pH inicial (pHi) da solução até o pH 4 (AT₄), 3 (AT₃) e 2 (AT₂). Em seguida, os dados de pH foram transformados pela função $Y = EXP(1 \text{ pH}^{-1})$ de forma a linearizar a sua relação da concentração de H⁺ em solução, e a medida denominada taxa linear de tamponamento (TLT) foi calculada como o inverso da inclinação da regressão linear entre a medida transformada de pH, como variável dependente, e a quantidade de ácido adicionada, como variável independente. Para a comparação da TLT em diferentes intervalos de pH, a medida foi calculada, utilizando-se as curvas até os pontos de pH 4 (TLT₄), 3 (TLT₃) e 2 (TLT₂).

O coeficiente de determinação ajustado (r²) e erro-padrão residual (EPR) das regressões lineares foi utilizado para se avaliar a adequação do método de linearização das curvas de titulação dos diferentes

materiais nos intervalos de pH analisados.

Utilizou-se o delineamento de blocos casualizados com duas repetições por tratamento, considerando-se a corrida laboratorial como bloco. Os resultados de AT e TLT foram submetidos à análise de variância, considerando-se os diferentes alimentos, e agrupados pelo teste de Duncan, com nível de significância de 5%. Também foi realizada a análise de correlação linear entre as diferentes medidas realizadas.

Resultados e discussão

Os valores obtidos das medidas pHi, AT e TLT na fibra dos alimentos estudados e o r² e EPR das regressões lineares ajustadas às curvas de titulação nos diferentes intervalos de pH avaliados estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3, respectivamente.

O pHi da FDN dos alimentos variou no ensaio 1, de 7,85 para o trevo vermelho a 7,09 para a aveia preta, e no ensaio 2, de 7,62 para farelo de soja a 6,89 para o milho (Tabela 1). Os resultados obtidos de pHi apresentaram valores elevados (todos acima de 7,0, com exceção do milho). O pHi médio da fração de FDN do milho e do farelo-de-soja foram mais elevados que os registrados na literatura para amostras integrais desses alimentos (GIGER-REVERDIN et al., 2002; LAWLOR et al., 2005; BOCKOR et al., 2007).

Tabela 1. Valores médios de pH inicial (pHi), acidez titulável (AT₄) e taxa linear de tamponamento (TLT₄) obtidos das curvas de titulação da FDN no intervalo até o pH 4¹.

Tabela 1. Mean values of initial pH (pHi), titratable acidity (TA₄) and linear buffer (LB₄) obtained from titration curves of NDF in the interval until pH 4.

Alimentos Feeds	pHi ± DP pHi ± SD	AT ₄ ² ± DP mEq H ⁺ g ⁻¹ FDN TA ₄ ² ± SD	TLT ₄ ² ± DP mEq H ⁺ g ⁻¹ FDN LB ₄ ² ± SD	r ₄ ²	EPR ₄ SE ₄
Trevo branco White clover	7,34 ± 0,161	0,379 ^a ± 0,04	2,978 ^a ± 0,38	0,941	0,010
Trevo vermelho Red clover	7,85 ± 0,170	0,299 ^{bc} ± 0,00	2,089 ^{bc} ± 0,29	0,940	0,011
Aveia preta Black oat	7,09 ± 0,004	0,382 ^a ± 0,08	2,937 ^a ± 0,69	0,857	0,017
Aveia branca White oat	7,45 ± 0,167	0,353 ^{ab} ± 0,02	2,602 ^{ab} ± 0,16	0,939	0,011
Azevém Ryegrass	7,47 ± 0,173	0,253 ^c ± 0,01	1,808 ^c ± 0,30	0,954	0,011
Milho (M) Corn (C)	6,89 ± 0,318	0,091 ^d ± 0,00	0,724 ^d ± 0,02	0,992	0,004
Farelo-de-soja (FS) Soybean meal (SM)	7,62 ± 0,141	0,253 ^c ± 0,01	1,910 ^c ± 0,06	0,987	0,005
Palha de trigo (PT) Wheat straw (WS)	7,45 ± 0,120	0,094 ^d ± 0,01	0,806 ^d ± 0,02	0,989	0,004
65% M + 35% FS 65% C + 35% SM	7,38 ± 0,078	0,138 ^d ± 0,01	1,092 ^d ± 0,03	0,994	0,003
M + FS + 7,5% PT C + SM + 7,5% WS	7,39 ± 0,078	0,119 ^d ± 0,00	0,993 ^d ± 0,06	0,988	0,004
M + FS + 15% PT C + SM + 15% WS	7,51 ± 0,049	0,127 ^d ± 0,01	0,911 ^d ± 0,02	0,987	0,005
M + FS + 22,5% PT C + SM + 22,5% WS	7,42 ± 0,078	0,111 ^d ± 0,00	0,878 ^d ± 0,04	0,989	0,004
M + FS + 30% PT C + SM + 30% WS	7,31 ± 0,049	0,100 ^d ± 0,01	0,789 ^d ± 0,05	0,986	0,004
CV%		13,37	16,07		

¹TLT = 1/b, em que b é a inclinação da regressão linear entre o EXP(1 pH⁻¹) e a adição de ácido. ²Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de significância.

³LB = 1/b, and b is the slope of linear regression between EXP(1 pH⁻¹) and acid used. ⁴Average followed by different letters differs by Duncan test at 5% level of significance.

Tabela 2. Valores médios de acidez titulável (AT₃) e taxa linear de tamponamento (TLT₃¹) obtidos das curvas de titulação da FDN no intervalo até o pH 3¹.

Table 2. Mean values of titratable acidity (TA) and linear buffer (LB₃) obtained from titration curves of NDF in the interval until the pH 3.

Alimentos Feeds	AT ₃ ² ± DP	TLT ₃ ² ± DP	r ₃ ²	EPR ₃ SE ₃
	mEq H ⁺ g ⁻¹ FDN	mEq H ⁺ g ⁻¹ FDN		
	TA ₃ ² ± SD	LB ₃ ² ± SD		
Trevo branco <i>White clover</i>	0,671 ^a ± 0,01	2,557 ^a ± 0,59	0,975	0,012
Trevo vermelho <i>Red clover</i>	0,659 ^a ± 0,16	2,649 ^a ± 0,00	0,948	0,017
Aveia preta <i>Black oat</i>	0,595 ^{ab} ± 0,03	2,563 ^a ± 0,64	0,941	0,019
Aveia branca <i>White oat</i>	0,609 ^a ± 0,13	2,268 ^{ab} ± 0,26	0,978	0,013
Azevém <i>Ryegrass</i>	0,540 ^{ab} ± 0,19	2,184 ^{ab} ± 0,66	0,955	0,018
Milho (M) <i>Corn (C)</i>	0,171 ^d ± 0,03	0,660 ^d ± 0,06	0,993	0,007
Farelo-de-soja (FS) <i>Soybean meal (SM)</i>	0,416 ^{bc} ± 0,01	1,567 ^{bc} ± 0,04	0,982	0,011
Palha de trigo (PT) <i>Wheat straw (WS)</i>	0,181 ^d ± 0,02	0,639 ^d ± 0,03	0,982	0,012
65% M + 35% FS <i>65% C + 35% SM</i>	0,256 ^{cd} ± 0,01	0,914 ^{cd} ± 0,02	0,989	0,009
M + FS + 7,5% PT <i>C + SM + 7,5% WS</i>	0,219 ^d ± 0,01	0,835 ^d ± 0,02	0,989	0,009
M + FS + 15% PT <i>C + SM + 15% WS</i>	0,212 ^d ± 0,01	0,809 ^d ± 0,02	0,991	0,008
M + FS + 22,5% PT <i>C + SM + 22,5% WS</i>	0,205 ^d ± 0,01	0,762 ^d ± 0,01	0,992	0,008
M + FS + 30% PT <i>C + SM + 30% WS</i>	0,185 ^d ± 0,02	0,695 ^d ± 0,04	0,988	0,008
CV%	21,14	21,21		

¹TLT = 1/b, em que b é a inclinação da regressão linear entre o EXP(1 pH⁻¹) e a adição de ácido. ²Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de significância.

³LB = 1 / b, and b is the slope of linear regression between EXP (1 pH⁻¹) and acid used. ⁴Average followed by different letters differs by Duncan test at 5% level of significance.

Tabela 3. Valores médios de acidez titulável (AT₂) e taxa linear de tamponamento (TLT₂¹) obtidos das curvas de titulação da FDN no intervalo até o pH 2¹.

Table 3. Mean values of titratable acidity (TA₂) and linear buffer (LB₂) obtained from titration curves of NDF in the interval until the pH 2.

Alimentos Feeds	AT ₂ ² ± DP	TLT ₂ ² ± DP	r ₂ ²	EPR ₂ SE ₂
	mEq H ⁺ g ⁻¹ FDN	mEq H ⁺ g ⁻¹ FDN		
	TA ₂ ² ± SD	LB ₂ ² ± SD		
Trevo branco <i>White clover</i>	1,680 ^a ± 0,23	2,947 ^{ab} ± 0,49	0,973	0,025
Trevo vermelho <i>Red clover</i>	1,697 ^a ± 0,27	3,144 ^a ± 0,40	0,973	0,026
Aveia preta <i>Black oat</i>	1,500 ^{ab} ± 0,26	2,743 ^{ab} ± 0,77	0,929	0,041
Aveia branca <i>White oat</i>	1,694 ^a ± 0,41	2,891 ^{ab} ± 0,76	0,961	0,032
Azevém <i>Ryegrass</i>	1,457 ^{ab} ± 0,23	2,453 ^{abc} ± 0,43	0,917	0,050
Milho (M) <i>Corn (C)</i>	0,741 ^{cd} ± 0,13	1,414 ^d ± 0,25	0,876	0,056
Farelo-de-soja (FS) <i>Soybean meal (SM)</i>	1,187 ^{bc} ± 0,09	2,096 ^{bcd} ± 0,07	0,954	0,033
Palha de trigo (PT) <i>Wheat straw (WS)</i>	0,669 ^d ± 0,10	1,181 ^d ± 0,13	0,895	0,052
65% M + 35% FS <i>65% C + 35% SM</i>	0,920 ^{cd} ± 0,10	1,741 ^{cd} ± 0,24	0,901	0,051
M + FS + 7,5% PT <i>C + SM + 7,5% WS</i>	0,913 ^{cd} ± 0,09	1,613 ^{cd} ± 0,17	0,886	0,055
M + FS + 15% PT <i>C + SM + 15% WS</i>	0,907 ^{cd} ± 0,11	1,643 ^{cd} ± 0,19	0,887	0,053
M + FS + 22,5% PT <i>C + SM + 22,5% WS</i>	0,878 ^{cd} ± 0,03	1,682 ^{cd} ± 0,08	0,882	0,057
M + FS + 30% PT <i>C + SM + 30% WS</i>	0,822 ^{cd} ± 0,03	1,478 ^d ± 0,036	0,868	0,057
CV%	16,22	18,34		

¹TLT = 1/b, em que b é a inclinação da regressão linear entre o EXP(1 pH⁻¹) e a adição de ácido. ²Médias seguidas por letras distintas na coluna diferem pelo teste de Duncan em nível de 5% de significância.

³LB = 1 / b, and b is the slope of linear regression between EXP (1 pH⁻¹) and acid used. ⁴Average followed by different letters differs by Duncan test at 5% level of significance.

Possivelmente, o pH_i elevado para os alimentos analisados pode ser atribuído à contaminação de solução detergente neutro presente no resíduo de FDN avaliado. Conforme registrado por Bockor et al. (2007), que avaliaram amostras integrais de diferentes alimentos, subprodutos e dietas, a fibra do milho foi menor que da fibra dos demais alimentos avaliados, semelhante ao ocorrido no presente estudo.

A fibra dos alimentos avaliados formou grupos similares quanto à AT, com a fibra das forragens apresentando AT maior que a dos outros materiais nas diferentes faixas de pH (p < 0,05), com exceção do azevém e farelo-de-soja que apresentaram valores de AT da fibra próximos e com valor intermediário entre os demais alimentos.

Os dados obtidos neste trabalho apresentaram concordância com os obtidos por Warpechowski e Ciocca (2006) e Bockor et al. (2007), os quais observaram que a soja obteve valor de AT maior que de cereais e subprodutos. Nos resultados apresentados de AT, a ordem numérica dos alimentos se altera entre as análises realizadas em diferentes intervalos, o que também ocorre em trabalho que utiliza dados de AT de alimentos integrais até o pH 4 e 3, publicado por Lawlor et al. (2005), provavelmente pela não-linearidade das curvas e/ou à presença de componentes com sítios ativos com constante de dissociação iônica (pK) abaixo do pH 4.

A TLT da FDN foi avaliada neste trabalho de acordo com a inclinação da regressão linear. Conforme Van Slyke (1922), o pH é definido como logaritmo da concentração de hidrogênio livre em solução. Funções logarítmicas apresentam comportamento curvilíneo, porém, sabe-se que a função exponencial é o inverso do logaritmo neperiano (STEEL; TORRIE, 1960). Dessa forma, com base na origem da função utilizada no cálculo do pH, a transformação exponencial do inverso do pH pôde ser utilizada como alternativa para a linearização. Algumas curvas de titulação no seu formato-padrão e as curvas linearizadas utilizadas para cálculo da TLT estão apresentadas na Figura 1.

Para a medida TLT, assim como para a AT, a fibra das forragens apresentou maior valor que as misturas, milho e palha de trigo (Tabelas 1, 2 e 3). Em todos os intervalos avaliados, a fibra do FS obteve resultados de TLT semelhantes ao azevém, e para TLT₄ o FS apresentou diferença significativa (p < 0,05) em relação aos demais materiais e misturas, para TLT₃, o FS apresentou diferença significativa (p < 0,05) em relação às misturas diluídas com PT, e para TLT₂, o FS apresentou valor intermediário e diferente significativamente (p < 0,05) apenas em relação ao trevo vermelho (Tabelas 1, 2 e 3).

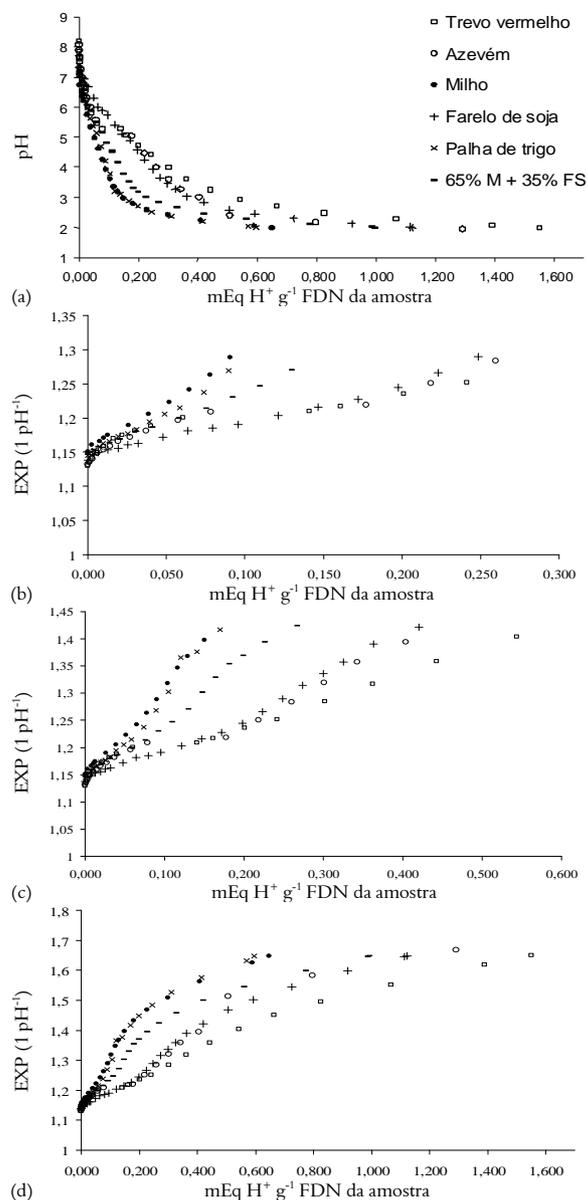


Figura 1. Curvas de titulação avaliadas até pH 2 (a) e curvas linearizadas avaliadas até pH 4 (b), 3 (c) e 2 (d).

Figure 1. Titration curves evaluated until pH 2 (a) and linearized titration curves until pH 4 (b), 3 (c) and 2 (d).

O resíduo da FDN pode apresentar níveis variáveis de N e minerais (WARPECHOWSKI; SILVA 2006), o que pode afetar pH do material em solução aquosa, e também sua CT. É presumível que a presença residual de N e minerais na fração de fibra obtida como FDN dependa da composição inicial do alimento analisado.

De acordo com McBurney et al. (1983) e Annison e Choct (1994), o valor de CT normalmente é alto nas pectinas e lignina, variável nas hemiceluloses e proporcionalmente mais baixo na celulose. Os resultados encontrados no presente trabalho mostram que os materiais forrageiros com maiores teores de lignina apresentaram valores maiores de TLT em

relação aos demais materiais, e, portanto, de acordo com os autores citados anteriormente.

Normalmente, a fibra insolúvel de leguminosas, como do feno-de-alfafa e do farelo-de-soja, apresenta maior CT que aquela de subprodutos e grãos de cereais (MCBURNY et al., 1983; WARPECHOWSKI; CIOCCA, 2006). Entretanto, a fibra das leguminosas forrageiras presentes neste trabalho (trevos) não apresentou diferenças em relação à fibra das aveias nos intervalos avaliados.

Os resultados de r^2 ajustado das regressões lineares às curvas de titulação da FDN apresentado demonstraram excelente ajuste à regressão linear em todos os intervalos de pH avaliados (Tabelas 1, 2 e 3).

Para os materiais forrageiros (ensaio 1), no intervalo até pH 4, o azevém obteve valor médio mais alto (0,95) para r^2 ajustado (r^2_4), com o valor mais baixo para aveia preta (0,86), ainda suficientemente alto para explicar o comportamento linear da regressão (Tabela 1). Para o intervalo avaliado até pH 3, o r^2 ajustado (r^2_3) foi maior do que nos demais intervalos, com o maior valor obtido para aveia preta (0,98) e menor para aveia branca (0,94) (Tabela 2). Para o r^2 obtido no intervalo até pH 2 (r^2_2), os maiores valores foram para os trevos (0,97) e o menor, para o azevém (0,92) (Tabela 3).

Os resultados médios de r^2 do ensaio 2 foram de 0,99 para r^2_4 em todos os alimentos avaliados (Tabela 1). Os menores valores obtidos (0,98) de r^2_3 foram para farelo-de-soja e palha de trigo (Tabela 2). Os dados obtidos de r^2_2 sofreram redução considerável, com o menor r^2_2 para a diluição com 30% de palha de trigo (0,87) e o maior para o farelo-de-soja que foi de 0,95 (Tabela 3).

Os resultados de EPR, obtidos das regressões lineares ajustadas às curvas de titulação da FDN, demonstram que o ajuste nos intervalos de pH até 4 e 3 apresentou menores valores do que o intervalo até 2, considerando-se que são valores absolutos (Tabelas 1, 2 e 3). Os maiores resultados obtidos entre os diferentes intervalos do EPR₄ foi de 0,017 para aveia preta (Tabela 1), do EPR₃ foi de 0,019 para aveia preta (Tabela 2), e do EPR₂ foi de 0,057 para as diluições com elevado nível de palha (Tabela 3).

Considerando-se o r^2 e EPR, os ajustes às regressões lineares foi ligeiramente inferior para o intervalo até pH 2, e os materiais com menores valores de TLT, ou seja, milho, palha de trigo e misturas (ensaio 2), foram os que apresentaram piora mais evidente no r^2 entre os diferentes intervalos, provavelmente por o comportamento das curvas de titulação desses materiais se apresentar mais acentuado, abaixo do ponto de pH 3,0.

Os coeficientes de correlação das medidas pH_i, AT₄, AT₃, AT₂, TLT₄, TLT₃, TLT₂ estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4. Coeficientes de correlação entre as variáveis pH inicial (pHi), acidez titulável (AT) e taxa linear de tamponamento (TLT) nos intervalos até o pH 4,0 (AT₄ e TLT₄), 3,0 (AT₃ e TLT₃) e 2,0 (AT₂ e TLT₂).

Table 4. Correlation coefficients among the initial pH (pHi), titratable acidity (TA) and linear buffer (LB) in intervals until the pH 4.0 (AT₄ and LB₄), 3.0 (AT₃ and LB₃) and 2.0 (AT₂ and LB₂).

	pHi pHi	Prob.	AT ₄ TA ₄	Prob.	AT ₃ TA ₃	Prob.	AT ₂ TA ₂	Prob.	TLT ₄ LB ₄	Prob.	TLT ₃ LB ₃	Prob.
AT ₄ TA ₄	0,15	0,453										
AT ₃ TA ₃	0,21	0,292	0,93	<0,001								
AT ₂ TA ₂	0,23	0,229	0,93	<0,001	0,96	<0,001						
TLT ₄ LB ₄	0,12	0,562	0,99	<0,001	0,89	<0,001	0,88	<0,001				
TLT ₃ LB ₃	0,19	0,363	0,94	<0,001	0,99	<0,001	0,96	<0,001	0,90	<0,001		
TLT ₂ LB ₂	0,21	0,292	0,89	<0,001	0,95	<0,001	0,99	<0,001	0,85	<0,001	0,94	<0,001

¹TLT = 1/b, em que b é a inclinação da regressão entre o EXP(1 Ph⁻¹) e a adição de ácido.
(LB = 1/b, and b is the slope of the linear regression between EXP (1 pH⁻¹) and acid used).

O pHi não apresentou correlação com nenhuma das variáveis estudadas ($p < 0,05$), o que está de acordo com as informações de Bockor et al. (2007), de que não existe correlação consistente entre o pH inicial e a CT dos alimentos (Tabela 4).

As variáveis AT e TLT apresentaram correlação linear positiva ($p < 0,001$) em todos os intervalos avaliados, resultando em coeficientes de correlação acima de 0,85 (Tabela 4).

Os coeficientes de correlação entre diferentes intervalos de pH, avaliados da medida TLT entre TLT₄ e TLT₂, foram de 0,85, e entre TLT₃ e TLT₂ de 0,93. Para a medida AT, o menor valor obtido entre AT₄ e AT₂ foi de 0,93, o mesmo valor entre AT₄ e AT₃, e maior entre AT₃ e AT₂ de 0,96.

Warpechowski e Ciocca (2006), trabalhando com a CT da fibra de cinco ingredientes de dietas para monogástricos, observaram que medidas como AT podem ser potencialmente aditivas, em comparação com outras medidas como a capacidade de troca catiônica, ambas determinadas com metodologia descrita por McBurney et al. (1983).

Os coeficientes de correlação entre as medidas pHi, AT e TLT apresentaram baixos valores obtidos das medidas AT e TLT com pHi e alto entre as medidas AT₄, AT₃, AT₂, TLT₄, TLT₃ e TLT₂.

Diferentemente do método proposto por McBurney et al. (1983), para a fibra de alimentos, a AT normalmente é determinada, partindo-se do pHi até pH desejado (GIGER-REVERDIN et al., 2002; BOCKOR et al., 2007). Entretanto, essa forma de medição acarreta em valores de AT dependentes de pHi do alimento analisado. No presente trabalho, o ponto inicial da análise das curvas do ensaio 1 foi fixado para todos os materiais em pH 8, e, no ensaio 2, os valores obtidos de pHi da fibra foram todos próximos a 7, o que explica a alta correlação da medida AT e a TLT. Alimentos que possuem pHi variável terão consequentemente variação na medida AT para qualquer ponto de pH determinado e,

portanto, a alta correlação observada entre as medidas AT e TLT no presente trabalho não deve ser esperada com outros alimentos. A medida AT é um valor fixo. Por outro lado, a medida TLT, quando avaliada pela inclinação de regressão linear, é uma taxa que permite a estimativa dessa propriedade em qualquer intervalo de pH dentro da faixa estudada (8 ao 2).

Conclusão

A linearização proposta resultou em ajuste satisfatório à regressão linear para a fibra de todos os alimentos estudados, permitindo a obtenção de uma taxa linear única que explica a capacidade tamponante em qualquer faixa de valores entre o pH 8 e 2.

Referências

- ANNISON, G.; CHOCT, M. Plant polysaccharides - their physiochemical properties and nutritional roles in monogastric animals. In: LYONS, T. P.; JACQUES, K. A. (Ed.). **Biotechnology in the feed industry**. Nottingham: Nottingham University Press, 1994. p. 51-66.
- BOCKOR, L.; DAHLKE, F.; MAIORKA, A.; OTÁVIO, S. C.; OELKE, C. A.; KRABBE, E. L.; WARPECHOWSKI, M. B. Comparação de medidas da capacidade tamponante de matérias primas e dietas utilizadas para leitões. **Archives of Veterinary Science**, v. 12, n. 3, p. 71-76, 2007.
- EGGERS M. **Forage quality and physico-chemical properties of C3 grasses and legumes in South Brazil**. 2009. 128f. Dissertação (Master of Sciences)-Institute of Crop Science and Plant Breeding, Grass and Forage Science/Organic Agriculture, Kiel, 2009.
- GABERT, V. M.; SAUER, W. C.; SCHMITZ, M.; AHRENS, F.; MOSENTHIN, R. The effect of formic acid and buffering capacity on the ileal digestibilities of amino acids and bacterial populations and metabolites in the small intestine of weanling pigs fed semipurified fish meal diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, n. 4, p. 615-623, 1995.

- GIGER-REVERDIN, S.; DUVAUX-PONTER, C.; SAUVANT, D.; MARTIN, O.; PRADO, I. N.; MÜLLER, R. Intrinsic buffering capacity of feedstuffs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 96, n. 1-2, p. 83-102, 2002.
- LAWLOR, P. G.; LYNCH P. B.; CAFFREY, P. J.; O'REILLY, J. J.; O'CONNELL, M. K. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**, v. 58, n. 8, p. 447-452, 2005.
- MCBURNEY, M. I.; VAN SOEST, P. J.; CHASE, L. E. Cation exchange capacity and buffering capacity of neutral-detergent fibers. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 34, n. 9, p. 910-916, 1983.
- PENZ JR, A. M. Hipótesis que justifican el uso de ácidos orgánicos en las dietas para aves y cerdos. **Avicultura Profesional**, v. 9, n. 1, p. 46-51, 1991.
- STEEL R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: McGraw-Hill Book Company, 1960.
- VAN SLYKE, D. D. On the measurement of buffer value to the dissociation constant of the buffer and the concentration and reaction of the buffer solution. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 52, n. 2, p. 525-570, 1922.
- VAN SOEST, P. J.; ROBERTSON, J. B.; LEWIS, B. A. Methods for dietary fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. **Journal of Dairy Science**, v. 74, n. 10, p. 3583-3597, 1991.
- VAN OOIJEN, C. **Quais os efeitos do Calprona – P adicionado a ração?** Porto Alegre: Verdugt, 2000. (Boletim técnico).
- WARPECHOWSKI, M. B.; PINHEIRO, C. C.; CIOCCA, M. L. S. Propriedades físico-químicas da fibra em detergente neutro de diferentes palhas de trigo. **Archives of Veterinary Science**, v. 10, n. 3, p. 38-41, 2005.
- WARPECHOWSKI, M. B.; CIOCCA, M. L. S. Propriedades físico-químicas da fibra em detergente neutro de alimentos isolados e misturados. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 1, p. 23-26, 2006.
- WARPECHOWSKI, M. B.; SILVA, D. A. Modificação de técnica de determinação da capacidade de troca catiônica da fibra em detergente neutro de alimentos. **Archives of Veterinary Science**, v. 11, n. 2, p. 30-33, 2006.

Received on October 7, 2008.

Accepted on February 9, 2010.

License information: This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.