

MÉTODO DE LINEARIZAÇÃO DE CURVAS DE TITULAÇÃO PARA DETERMINAÇÃO DA CAPACIDADE TAMPONANTE DE ALIMENTOS PARA ANIMAIS

(Linearization method of titration curves for determination of buffering capacity of animal feed)

Luciane Bockor, Juahil Martins de Oliveira Junior, Ana Rosalia Mendes, Marcia de Souza Vieira, Marson Bruck Warpechowski

¹Correspondência: marson@ufpr.br

RESUMO: O objetivo do presente estudo foi determinar uma medida de capacidade tamponante a partir da linearização de curvas de titulação de diversos ingredientes de dietas animais, em faixas de pH do 8,0 ao 2,0, e avaliar a aditividade desta análise obtida com diferentes misturas de ingredientes, através da comparação entre valores estimados e mensurados. A medida linearizada da CT foi obtida transformando-se os dados de pH por meio da função $Y = EXP(1/pH)$, e a taxa linear de tamponamento (TLT) foi calculada como o inverso da inclinação da regressão linear entre a medida transformada de pH e a quantidade de ácido adicionada, expressa em mEq H⁺/g de amostra seca. A aditividade da TLT foi avaliada por meio da análise de regressão linear entre os valores mensurados e estimados para as misturas de ingredientes, e foi comparada a outras medidas: acidez titulável, quantidade de ácido necessária para a redução do pH inicial da solução até o pH 2,0; acidez titulável padrão, quantidade de ácido necessária para reduzir o pH da solução do 8,0 ao 2,0; e a capacidade tamponante, obtida dividindo-se os valores da acidêz titulável pelo intervalo de pH do 8,0 ao 2,0. A TLT (mEq H⁺/g). O método de linearização mostrou-se adequado para ajustar os dados das curvas de titulação dos materiais avaliados, tendo todas as classes de ingredientes estudadas apresentado R² superior a 0,88 e erro padrão residual menor que 0,11 mEq H⁺/g. A TLT foi a medida que apresentou melhor aditividade (DP= 15,59, b= 1,13, a=0,11, R²= 0,43), sendo a medida que demonstrou maior potencial para se estimar, através dos ingredientes de uma mistura, a capacidade tamponante de dietas completas.

Palavras-chave: acidez titulável; propriedades físico-químicas; taxa linear de tamponamento

ABSTRACT: This study aimed to determinate a linearization method of titration curves for determination of buffering capacity (BC) in ingredients of various classes in a pH range of 8.0 to 2.0 and, to evaluate the additivity of this measure obtained with different blends of those ingredients through the comparative between the values observed and measured. The linearized measure of BC was obtained by the conversion of pH data, through the function $Y = EXP(1/pH)$. Linear buffering rate (LBR) was calculated as inverse of the slope of the linear regression between the transformed measure of pH and the amount of acid added, expressed as mEq H⁺/g sample dry mater. The additivity of the LBR was evaluated using linear regression analysis between measured and calculated values for the blends. It was compared to the others measures as: titratable acidity – amount of acid required to

reduce the initial pH of the solution to pH 2.0; standard titratable acidity (TAs) - amount of acid required to reduce the pH solution of 8.0 to 2.0 and; buffering capacity (BC), obtained by dividing the values of TAs at pH range 8.0 to 2.0. The R^2 was greater than 0.88 and the standard residual error less than 0.11 mEq H^+ /g for all classes of ingredients studied, which demonstrated that the linearization method was appropriate to adjust the data of the titration curves. The LBR (mEq H^+ /g) measure had the best additivity (SD = 15.59, b= 1.13, a=0.11, r^2 = 0.43), showing great potential to evaluate buffering capacity of complete diets, through the ingredients of the mixture.

Key Words: linear buffering rate; physico-chemical properties; titratable acidity

INTRODUÇÃO

A capacidade tamponante é uma propriedade físico-química, definida como a capacidade de uma molécula reter ou trocar cátions por H⁺, de acordo com o meio onde se encontra, e tem importante influência nos processos de fermentação e tamponamento ruminal (Van Soest et al., 1994). Em animais não ruminantes, a capacidade tamponante dos alimentos pode interferir no pH da digesta no trato gastrointestinal. Essa atividade pode ser especialmente importante para leitões recém-desmamados, que apresentam baixa capacidade de secreção de HCl, resultando em pH gástrico elevado. Isto predispõe ao desenvolvimento de micro-organismos indesejáveis (Gabert et al., 1995).

Diversos autores têm trabalhado com diferentes metodologias para a determinação da capacidade tamponante de alimentos para animais. Entre as medidas utilizadas, podem-se citar a acidez ou alcalinidade titulável (AT), conceituada como a quantidade de ácido ou base requerida para redução do pH da amostra em solução em um intervalo determinado (McBurney et al., 1983; Warpechowski e Ciocca, 2006); a capacidade tamponante propriamente dita (CT), obtida pela razão entre a AT e o intervalo de pH utilizado (McBurney et al., 1983; Gabert et al., 1995; Lawlor et al., 2005); e ainda, medidas que utilizam parâmetros das curvas de titulação, por exemplo, quando a capacidade tamponante é calculada como o inverso da inclinação da regressão linear ou não linear obtida entre o pH (Y) e a quantidade adicionada de ácido ou base (X) (Giger-Reverdin et al., 2002).

A avaliação da propriedade físico-química da capacidade tamponante realizada por meio de curvas de titulação, tanto em alimentos íntegros

(Gabert et al., 1995; Giger-Reverdin et al., 2002) quanto em frações deles, como a fibra em detergente neutro (McBurney et al., 1983; Warpechowski et al., 2005; Warpechowski e Ciocca, 2006), tem demonstrado o comportamento não linear dessas curvas, principalmente nas faixas de pH abaixo de 4,0. Oliveira Jr et al. (2010), utilizando curvas de titulação da fibra de diferentes alimentos e misturas, demonstraram que a transformação exponencial dos dados de pH gera resultados que se ajustam aceitavelmente à regressão linear, resultando em uma medida aditiva. Essa transformação leva em consideração a função logarítmica que originou a medida de pH (Van Slyke, 1922), podendo assim, ajustarem-se as curvas de titulação na faixa de pH fisiológico do trato gastrointestinal (aproximadamente do 8,0 ao 2,0) por meio de regressão linear.

O objetivo do presente estudo foi determinar uma medida de capacidade tamponante a partir da linearização de curvas de titulação de diversos ingredientes de dietas animais, em faixas de pH do 8,0 ao 2,0, e avaliar a aditividade desta análise obtida com diferentes misturas de ingredientes, através da comparação entre valores estimados e mensurados.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 46 amostras de 34 diferentes ingredientes utilizados na alimentação animal (Tabela 1), sendo as amostras obtidas de uma a quatro diferentes partidas de cada ingrediente, além de sete misturas formuladas com alguns desses materiais.

As amostras foram moídas com peneira de abertura de malha de 0,5 mm, sendo, então, armazenadas em geladeira (produtos de origem animal e

vegetal) ou em sala com controle de temperatura e umidade (sais e suplementos), vedadas em saco plástico, por período de até seis meses. As amostras de ácidos foram obtidas de reagentes com pureza absoluta. A colina foi incluída no grupo dos aminoácidos por ser um material puro. As composições dos suplementos mineral, vitamínico e vitamínico-mineral estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 1 - Classificação dos ingredientes e misturas experimentais.

Ácidos
Ácido acético, ácido benzóico, ácido cítrico, ácido fosfórico, ácido fumárico, ácido láctico
Aminoácidos e vitaminas
Colina, lisina, metionina, treonina
Suplementos minerais e vitamínicos
Bicarbonato de sódio, calcário calcítico, farinha de ostra, fosfato bicálcico, premix mineral, premix vitamínico, premix vitamínico-mineral, sal (NaCl)
Ingredientes de origem vegetal
Casca de soja, farelo de arroz integral, farelo de soja, farelo de trigo, milho, milho pré-cozido, soja integral, trigo grãos
Ingredientes de origem animal
Farinha de carne, farinha de carne e ossos, farinha de penas, farinha de peixe, farinha de sangue, farinha de vísceras, soro de leite, hemácia
Misturas
A = milho: farelo de soja (65:35)
B = mistura A: casca de soja (90:10)
C = mistura A: casca de soja (80:20)
D = mistura A: farelo de trigo (90:10)
E = mistura A: farelo de trigo (80:20)
F = milho: farelo de soja: casca de soja: farelo de trigo (25:25:25:25)
G = mistura F: farinha de carne e ossos: NaCl: premix: calcário (79:20:0,3:0,2:0,5)

O pH inicial (pHi) e as curvas de titulação de todos os ingredientes e misturas foram determinados de acordo com metodologia descrita por Gabert *et al.* (1995), com as seguintes modificações: utilizou-se 0,5 g de amostra para diluição em 50 mL de água destilada e deionizada. A mensuração do pH foi feita na solução sob agitação magnética constante, utilizando-se de peagâmetro com precisão de três casas decimais, ajuste para temperatura e detecção automática de oscilação estável. A partir da determinação do pHi, o pH da solução foi elevado até 8,0 através da adição de NaOH (0,05 N). Em seguida, a solução foi titulada com HCl (0,05N) até o pH 2,0, utilizando-se pipetas automáticas com precisão de 100 e 10 microlitros, até atingir o pH 6,0 e, HCl (0,10N) até atingir o pH 2,0. O pH foi medido 60 segundos após cada adição de HCl com volume variável, de forma a se obter intervalos de aproximadamente 0,2 pontos de pH. Os volumes de HCl

adicionados foram expressos em mEq/g de matéria seca (MS) de amostra. A MS das amostras foi obtida através da técnica descrita por Zenebon *et al.* (2008).

Tabela 2 - Composições do premix mineral, vitamínico e vitamínico-mineral (kg do produto).

Premix mineral
Zinco, 110.000 mg; selênio, 360 mg; iodo, 1.400 mg; cobre, 20.000 mg; manganês, 156.00 mg; ferro, 96.000 mg
Premix vitamínico
Vit. A, 8.000 ui; vit. D3, 2.000 ui; vit. E, 16.000 ui; ácido fólico, 800 mg; ácido pantotênico, 10.000 mg; biotina, 60 mg; vit. B2, 4.000 mg; vit. B6, 2.000 mg; BHT, 100 mg; vit. B1, 1.500 mg; vit. K3, 2.000mg; vit. B12, 10.000 mg; niacina, 30.000 mg
Premix vitamínico-mineral
Vit. A, 18.000 ui; vit. D3, 37.000 ui; vit. E, 150 g; Vit. K 10 mg; vit. B12, 110 mg; pantotenato de Ca, 80 mg; niacina, 200 mg; colina, 2.500mg; selênio, 3 mg; cobre, 120 mg; ferro, 1.000 mg; zinco, 1.475 mg; magnésio, 1.236 mg; sódio, 25 g; iodo, 13 mg; antioxidante, 60 mg

A acidez titulável (mEq/g de MS da amostra) foi avaliada de duas formas: em relação a quantidade de ácido necessária para a redução do pHi da solução até o pH 2,0 (AT_pHi) e, em relação a quantidade de ácido necessária para reduzir o pH da solução do valor 8,0 ao 2,0, sendo esta denominada acidez titulável padrão (ATp).

A capacidade tamponante (CT) foi obtida dividindo-se os valores da ATp pelo intervalo de pH do 8,0 ao 2,0.

Para a determinação da medida linearizada da capacidade tamponante, os dados de pH foram transformados por meio da função $Y = EXP(1/pH)$, e a taxa linear de tamponamento (TLT) foi calculada como inverso da inclinação da regressão linear entre a medida transformada de pH, como variável dependente, e a quantidade de ácido adicionada, como variável independente.

O coeficiente de determinação ajustado (R^2) e o erro padrão residual (EPR) foram utilizados para avaliar a adequação do método de linearização das curvas de titulação das diferentes classes de materiais às regressões lineares no intervalo de pH de 8,0 ao 2,0.

Para determinação da aditividade, os valores mensurados de AT_pHi, ATp, CT e TLT dos ingredientes foram usados para estimar

os valores de AT_{pHi}, AT_p, CT e TLT nas sete misturas, sendo comparados aos seus valores mensurados. A aditividade dessas medidas foi avaliada por três métodos: pela diferença entre os valores mensurados e os estimados, expressa em porcentagem dos valores mensurados; pelo desvio padrão dessa diferença; e pelos parâmetros da regressão linear entre valores mensurados e estimados, através do Teste de Hipóteses, considerando a hipótese nula quando intercepto (a)= 0 e a inclinação (b)=1, utilizando o software XV *StatGraphics Centurion*, (StatPoint, 2007).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pH é definido como o logaritmo da concentração de hidrogênio livre em solução (Baccan et al., 1991). Como as funções logarítmicas apresentam um comportamento curvilíneo, por meio da função exponencial, que é o inverso do logaritmo neperiano (Steel e Torrie, 1960), é possível linearizar as funções logarítmicas realizando a transformação exponencial do inverso do pH, como observado na Figura 1.

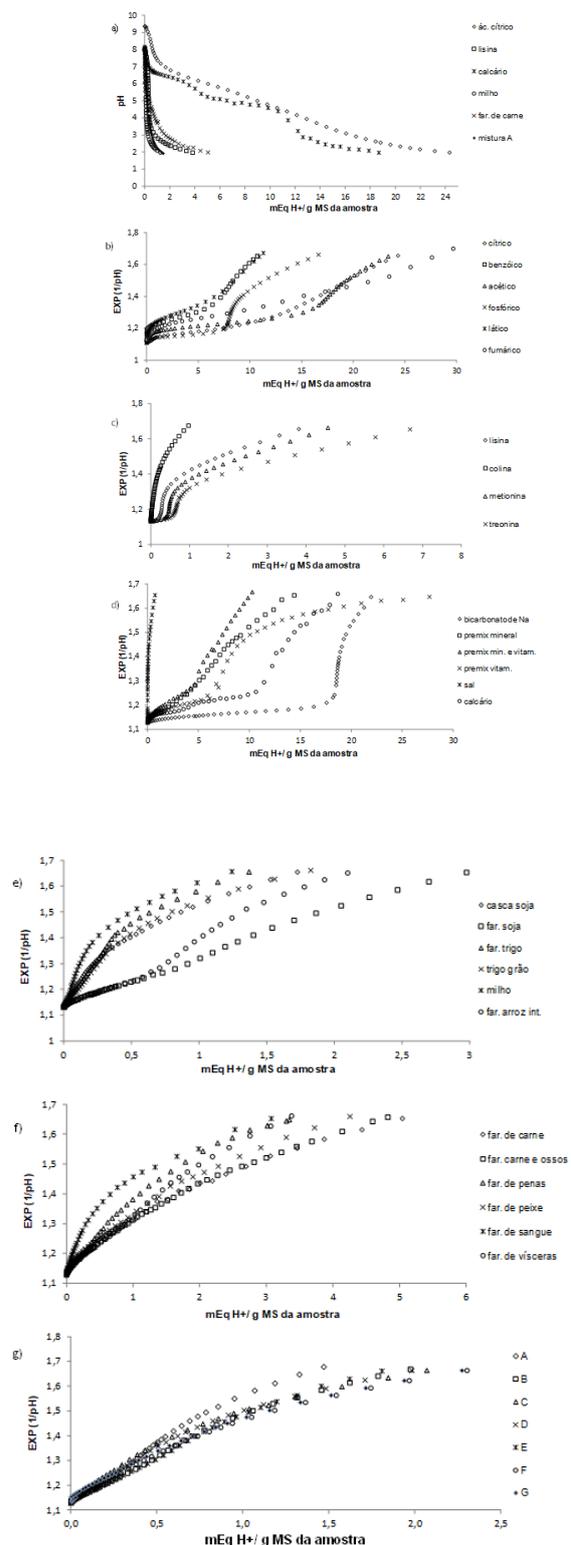


Figura 1 - Curvas de titulação de alguns ingredientes, determinadas do pH 8,0 ao 2,0 (a), curvas linearizadas das classes dos ácidos (b), aminoácidos (c), suplementos vitamínicos e minerais (d), ingredientes de origem vegetal (e), ingredientes de origem animal (f) e misturas (g).

As curvas de titulação linearizadas demonstraram bom ajuste à regressão linear para todas as classes de ingredientes avaliadas, quando considerado o R^2 das regressões (Tabela 3). As classes de amostras que apresentaram menores valores de R^2 ajustado foram as de suplementos vitamínicos e minerais e a de aminoácidos. As demais classes obtiveram R^2 ajustado superior a 0,920, sendo que a classe das misturas se destacou por apresentar o maior R^2 ajustado (0,969).

Em relação ao EPR, a classe das misturas foi a que apresentou menor EPR enquanto a dos aminoácidos foi a que obteve maior EPR, seguida pela dos suplementos vitamínicos e minerais (0,104), Tabela 3.

Tabela 3 - Valores médios do coeficiente de determinação ajustado (R^2) e do erro padrão residual (EPR) das regressões lineares ajustadas às curvas de titulação para as classes de ingredientes e de misturas analisadas.

Classes	R^2	EPR
Ácidos	0,925	0,076
Aminoácidos e vitaminas	0,887	0,108
Suplementos minerais e vitamínicos	0,886	0,104
Ingredientes de origem vegetal	0,936	0,062
Ingredientes de origem animal	0,959	0,038
Misturas	0,969	0,029

Nesse sentido, Oliveira Jr. et al. (2010), avaliando, por meio do R^2 e do EPR, a linearização de curvas de titulação para fibra de alimentos em faixas amplas de pH, demonstraram que o ajuste às regressões lineares foi ligeiramente inferior para as curvas de titulação com intervalo de pH do 8,0 ao 2,0 quando comparadas às curvas em outros intervalos, com pH final mais alto (8,0 ao 4,0 e 8,0 ao 3,0). De qualquer forma, os valores de R^2 ajustado obtidos no presente trabalho estão próximos aos valores obtidos por aqueles autores, e pouco inferiores aos valores obtidos por Giger-Reverdin et al. (2002), que trabalharam com modelos exponenciais para ajustar curvas na faixa de pH do 7,0 ao 4,0. Além disso, o uso de parâmetros de modelos não lineares, como os propostos por Giger-Reverdin et al. (2002), não permitiria o uso desta medida linearizada de capacidade

tamponante (TLT) para formulação linear de uma dieta, objetivo maior deste estudo.

Ingredientes, como os sais e os ácidos puros, demonstraram alterações mais evidentes nas curvas de titulação. Esses tipos de materiais apresentam constantes de dissociação (K_a) concentradas em determinadas faixas de pH, pois possuem poucos ou um único sítio ativo. O pK_a ($-\log K_a$) é uma grandeza que permite saber a força de dissociação de forma mais intuitiva que através do valor de K_a (Baccan et al., 1991). Já as amostras de ingredientes de origem vegetal e animal e as misturas, que possuem uma composição mais complexa, apresentaram uma alteração mais suave das curvas de titulação, decorrente da diversidade de pK_a de seus componentes, possuindo um número maior de sítios ativos. Todavia, o comportamento das misturas não foi alterado visivelmente pelo pK_a dos minerais e ácidos, devido a pequena e proporcional quantidade destes ingredientes nas misturas e também pela alteração no comportamento de cada substância na presença das demais substâncias, quando em solução.

Na prática de nutrição animal a estimativa da capacidade tamponante através dos valores encontrados nos seus componentes aumentaria a aplicabilidade desta propriedade físico-química nas formulações de dietas. Portanto, comparou-se os valores mensurados e estimados entre as medidas acidez titulável determinada a partir do pH_i (AT_{pH_i}) e acidez titulável padrão (AT_p) e, entre capacidade tamponante (CT) e taxa linear de tamponamento (TLT) para as misturas, e avaliou-se a aditividade dos métodos (Tabelas 4 e 5).

A mistura G apresentou maior diferença entre os valores mensurados e os estimados para todas as medidas

avaliadas. Essa mistura possuía suplementos minerais e farinha de carne e ossos. Tal resultado pode estar associado à solubilização gradativa dos minerais durante o tempo de titulação. Outra possível causa dessa variação pode ser atribuída à dificuldade de moagem da amostra de farinha de carne e ossos, que apresentava alto teor de gordura. Recomendam-se mais estudos e maior número de replicatas para a determinação da curva em misturas mais complexas, contendo alimentos de origem animal e minerais.

Tabela 4 - Valores médios mensurados e estimados da acidez titulável determinada a partir do pH inicial (AT_pHi) e acidez titulável padrão (ATp) e, diferença entre os valores mensurados e estimados expressa em % do valor mensurado^{1,2}.

Misturas ³	AT_pHi mensurada	AT_pHi estimada	Diferença %	ATp mensurada	ATp estimada	Diferença %
A	1,30	1,69	-29,70	1,34	1,72	-28,36
B	1,85	1,87	-1,08	1,89	1,90	-0,05
C	2,10	2,04	2,64	2,13	2,08	2,54
D	1,96	1,82	7,55	1,99	1,84	7,69
E	1,75	1,94	-10,95	1,80	1,97	-9,50
F	2,21	1,73	21,53	2,24	1,76	21,40
G	3,30	2,38	27,88	3,41	2,02	41,00
DP			19,42			22,09
N			14			14
a			-2,10			1,03
b			2,17			0,57
R ² (%)			88,26			4,70
r _{xy} (%)			82,62			21,68
EP			0,35			0,63

¹AT_pHi e ATp estão expressas em mEq/g MS amostra.

²DP = desvio padrão da diferença; N = número de amostras; Componentes da regressão: a = intercepto; b = coeficiente de regressão; R² = coeficiente de determinação; r_{xy} = coeficiente de correlação; EP = erro padrão.

³Misturas: A = milho farelo de soja (65:35); B = mistura A:casca de soja (90:10); C = mistura A:casca de soja (80:20); D = mistura A:farelo de trigo (90:10); E = mistura A:farelo de trigo (80:20); F = milho:farelo de soja:casca de soja:farelo de trigo (25:25:25:25); G = mistura F:farinha de carne e ossos:NaCl:premix:calcário (79:20:0,3:0,2:0,5).

O menor valor de desvio padrão (DP) da relação entre valores mensurados e os estimados para os diferentes métodos foi observado para a TLT (15,59%). Isto assegura que a transformação dos dados da curva de titulação obtida com o cálculo da TLT proporciona a menor variação entre os componentes de diferentes misturas. Para o método CT observou-se o maior valor de DP (35,90%), podendo ser justificado pelos baixos valores absolutos da medida, que apresentaram maior relação (3,06 vezes) entre os valores máximos e mínimos mensurados (0,55 e 0,18 mEq/gMS, respectivamente), diminuindo a eficiência de avaliação do método pelo desvio padrão.

Tabela 5 - Valores médios mensurados e estimados da capacidade tamponante (CT) e da taxa linear de tamponamento (TLT), diferença entre os valores mensurados e estimados expressa em % do valor mensurado^{1,2}.

Misturas	CT mensurada	CT estimada	Diferença %	TLT mensurada	TLT estimada	Diferença %
A	0,22	0,29	-28,77	2,23	2,61	-16,87
B	0,18	0,31	-79,04	3,20	2,93	8,33
C	0,35	0,34	1,53	3,62	3,25	10,26
D	0,33	0,31	7,65	3,37	2,81	16,40
E	0,29	0,33	-11,50	3,09	3,02	2,20
F	0,36	0,29	20,92	3,85	2,95	23,38
G	0,55	0,42	24,87	6,18	4,24	31,36
DP			35,90			15,59
N			14			14
a			-0,29			0,11
b			1,90			1,13
R ² (%)			44,74			43,43
r _{xy} (%)			66,89			65,90
EP			0,10			0,93

¹CT e TLT estão expressas em mEq/g MS amostra.

²DP = desvio padrão da diferença; N = número de amostras; Componentes da regressão: a = intercepto; b = coeficiente de regressão; R² = coeficiente de determinação; r_{xy} = coeficiente de correlação; EP = erro padrão.

³Misturas: A = milho:farelo de soja (65:35); B = mistura A:casca de soja (90:10); C = mistura A:casca de soja (80:20); D = mistura A:farelo de trigo (90:10); E = mistura A:farelo de trigo (80:20); F = milho:farelo de soja:casca de soja:farelo de trigo (25:25:25:25); G = mistura F:farinha de carne e ossos:NaCl:premix:calcário (79:20:0,3:0,2:0,5).

Avaliando-se a aditividade das medidas por meio dos parâmetros de regressão entre os valores mensurados e estimados para as misturas, pode-se observar que o método AT_pHi foi o que apresentou os maiores valores de r_{xy} (82,62%) e R² (68,26%) entre os dados mensurado e estimado, demonstrando melhor precisão. Entretanto, os valores do intercepto (a) e da inclinação da regressão linear (b) dos dados obtidos pela AT_pHi são diferentes de zero e um (P<0,02), respectivamente, de acordo com o teste de Hipóteses. Estes valores foram semelhantes aos relatados por Lawlor et al. (2005), que avaliaram modelos de predição da capacidade tamponante em dietas completas a partir dos ingredientes e encontraram R² de 71% para acidez titulável do pH inicial até o pH 3.

A acidez titulável medida a partir do pH_i (Giger-Reverdin et al., 2002) acarreta valores de acidez titulável dependentes do pH do material analisado, devido a isso, essa medida pode não apresentar correlação com a capacidade tamponante da mistura nas demais faixas de pH no trato digestório. Por outro lado, de acordo com Oliveira Jr et al. (2010), a acidez titulável é um valor fixo, já a capacidade tamponante, quando avaliada pela inclinação da regressão linear com valores

transformados de pH (TLT) e com preservação da unidade original da adição de ácido, é uma taxa que permite a estimativa dessa propriedade físico-química em qualquer intervalo de pH dentro da faixa estudada (8,0 – 2,0).

Os baixos valores do R^2 (4,70%) e de r_{xy} (21,68%) observados na regressão do método de ATp demonstram que este não é indicado para a estimativa da capacidade tamponante a partir dos valores encontrados nos ingredientes. Esse resultado difere daqueles encontrados por Warpechowski e Ciocca (2006), que avaliaram a capacidade tamponante da FDN de cinco misturas de dietas para monogástricos, através da técnica descrita por McBurney et al. (1983), onde a acidez titulável é determinada no intervalo de pH do 7,0 ao 2,0. Esses autores demonstraram que a acidez titulável pode ser potencialmente aditiva, quando comparada a medidas como capacidade de troca catiônica.

A CT e a TLT apresentaram valores de R^2 e r_{xy} semelhantes. No entanto, considerando o valor do intercepto e do coeficiente de regressão, o método da TLT apresentou melhor exatidão, já que demonstraram valores mais próximos ao esperado, zero para o intercepto ($a = 0,11$) e um para a inclinação ($b = 1,13$). Além disso, os resultados do teste de Hipótese para os parâmetros a e b mostraram que o valor do intercepto não é diferente de zero ($P > 0,93$) e a inclinação não é diferente de um ($P > 0,72$), para a taxa linear de tamponamento.

CONCLUSÃO

O método de linearização proposto mostrou-se ajustável à regressão linear para os materiais estudados, permitindo obter, com erro aceitável, uma taxa linear única que explica a capacidade tamponante em qualquer faixa de valores entre o pH 8,0 e 2,0. Essa medida, chamada de TLT,

demonstrou melhor aditividade que outras medidas de referência, quando estimada através dos ingredientes de uma mistura.

Mais estudos, incluindo o aumento do número e variação nos alimentos e suplementos, a avaliação de repetibilidade e sensibilidade da medida, bem como a avaliação da metodologia em múltiplos laboratórios, são necessários para aumentar a confiança e padronizar a metodologia laboratorial desenvolvida para a determinação das curvas de titulação.

REFERÊNCIAS

BACCAN, N.; DE ANDRADE, J. C.; GODINHO, O. E. S. et al. **Química Analítica Quantitativa Elementar**. Campinas: Edgard Blucher, 1991. 259 p.

GABERT, V. M.; SAUER, W. C.; SCHMITZ, M. et al. 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 fishmeal diets. **Canadian Journal of Animal Science**, v. 75, n. 4, p. 615-623, 1995.

GIGER-REVERDIN, S.; DUVAUX-PONTER, D. C.; SAUVANT, D. et al. 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. et al. Measurements of the acid-binding capacity of ingredients used in pig diets. **Irish Veterinary Journal**, v.58, n. 8, p. 447-452, 2005.

McBURNAY, 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.

- OLIVEIRA Jr, J. M.; BOCKOR, L.; GIERUS, M. et al. Linearização de curvas de titulação para determinação da capacidade tamponante da fibra de alimentos em ampla faixa de pH. **Acta Scientiarum**, v. 32, n. 1, p. 55-61, 2010.
- STATPOINT TECHNOLOGIES, INC. *StatGraphics Centurion*. Versão XV. Warrenton, VA, 2007.
- STEEL R. G. D.; TORRIE, J. H. **Principles and procedures of statistics**. New York: Mcgraw-Hill Book Company, INC, 1960. 481 p.
- 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.57, p.525-570, 1922.
- VAN SOEST, P. J. Fiber and Physicochemical Properties of Feeds. In: Van Soest, P. J. **Nutritional Ecology of the Ruminant**. 2. USA: Ed. Cornell University, 1994. p.140-155.
- WARPECHOWSKI, M. B; PINHEIRO, C. C.; CIOCCA, M. L. S. Propriedades físico-químicas da fibra de diferentes palhas de trigo em detergente neutro. **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.
- ZENEBON, O.; PASCUET, N. S.; TIGLEA,, P. **Métodos físico-químicos para análise de alimentos**. 4.ed/1. ed digital. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008. 1020 p. Disponível em: http://www.crq4.org.br/sms/files/file/anali_sedealimentosal_2008.pdf 13.