

DETERMINAÇÃO DA CONCENTRAÇÃO HIDROGENIÔNICA (pH) E ACIDEZ TOTAL TITULÁVEL DO LÍQUIDO RUMINAL DE OVINOS DAS RAÇAS MERINO AUSTRALIANO E CORRIEDALE, CRIADOS EM REGIME EXTENSIVO DE PASTAGEM

DETERMINATION OF THE pH AND TOTAL TITRATABLE ACIDITY OF THE RUMEN LIQUOR FROM AUSTRALIAN MERINO AND CORRIEDALE SHEEP, FED ON PASTURE

Françisco Leydson Formiga FEITOSA¹; Clóvis Teixeira de ALMEIDA²; Suely Regina Kato MOGAMI³; Paulo Roberto CURI⁴; Mary Marcondes FEITOSA¹

RESUMO

Objetivou-se estabelecer padrões de normalidade para a concentração hidrogeniônica (pH) e acidez total titulável do líquido ruminal de ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale, criados em regime extensivo de pastagem em duas épocas do ano (inverno e verão), no município de Botucatu, Estado de São Paulo. No inverno foram utilizados 103 animais, sendo 50 ovelhas da raça Corriedale e 53 da raça Merino Australiano e, no verão, 107 animais, sendo 52 ovelhas pertencentes à raça Corriedale e 55 à raça Merino Australiano. As amostras de suco de rúmen foram obtidas através de sonda esofágica. Os resultados obtidos para o pH e a acidez total titulável para os animais da raça Merino Australiano no inverno e no verão foram, respectivamente, $6,69 \pm 0,20$ e $6,75 \pm 0,23$, e $26,27 \pm 5,02$ e $29,24 \pm 6,24$ unidades. Os resultados observados nessas provas para os ovinos da raça Corriedale, no inverno e no verão foram, respectivamente $6,70 \pm 0,21$ e $6,84 \pm 0,28$ e $27,26 \pm 4,82$ e $30,40 \pm 5,11$ unidades.

UNITERMOS: Rúmen, fluidos; Rúmen, pH; Ovinos; Merino Australiano; Corriedale

INTRODUÇÃO

De acordo com BIRGEL⁴ (1977), no estudo das afecções que acometem os ruminantes destacam-se aquelas do aparelho digestivo e, em particular, os distúrbios dos reservatórios gástricos. BAUMGARTNER⁴ (1983) relatou que o exame clínico das contrações dos compartimentos pré-estomacais, juntamente com a avaliação do líquido ruminal, permitem uma maior avaliação da atividade dos reservatórios gástricos e da digestão microbiana e bioquímica no complexo rúmico-reticular. Desse modo, o exame laboratorial do suco de rúmen é essencial para estabelecer o diagnóstico de alterações da digestão, contribuindo não só para a determinação do tratamento, como também para avaliar a sua eficácia. Apesar da literatura referente à avaliação do líquido ruminal em bovinos ser relativamente extensa, existe uma limitação numérica dos estudos do suco de rúmen de ovinos criados em nossas condições climáticas e de manejo. Visando preencher parte desta lacuna, esta pesquisa teve como objetivos: estabelecer padrões de referência para a concentração hidrogeniônica (pH) e acidez total titulável no líquido ruminal de ovinos clinicamente sadios, das raças Merino Australiano e Corriedale, criados em regime extensivo de pastagem; verificar as possíveis mudanças dessas variáveis com relação à época do ano e observar a existência de variações entre raças nas duas épocas do ano.

MATERIAL E MÉTODO

ANIMAIS UTILIZADOS

A pesquisa foi realizada na Fazenda Edgardia, de propriedade da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, UNESP, no município de Botucatu, Estado de São Paulo. No inverno foram examinados 103 animais, sendo 50 ovelhas da raça Corriedale e 53 da raça Merino Australiano, e no verão 107 animais, sendo 52 ovelhas pertencentes à raça Corriedale e 55 à raça Merino Australiano. Os animais apresentavam idade variando entre dois e quatro anos e eram submetidos a uma dieta básica de forragem verde "ad libitum", constituída exclusivamente de *Cynodon dactylon* (L) Pers. Antes do início do experimento os animais receberam tratamento anti-helmíntico* e foram observados clinicamente a fim de comprovar-se o estado de higidez. Os animais utilizados no inverno foram posteriormente avaliados no verão.

COLHEITA DAS AMOSTRAS

As amostras de suco de rúmen foram colhidas, em sua maior parte, nos meses de julho (inverno) do ano de 1990, e de janeiro (verão) do ano de 1991, no período matinal, entre 9:00 e 10:00 horas.

As amostras, com volume variando entre 400 e 500 ml de

1- Professor Assistente - Faculdade de Medicina Veterinária da UNESP - Campus de Araçatuba
2- Professor Assistente Doutor - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Campus de Botucatu
3- Auxiliar de Ensino - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Campus de Botucatu
4- Professor Titular - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da UNESP - Campus de Botucatu
* RIPERCOL INJETÁVEL - Cynamid Química do Brasil

Líquido ruminal, foram colhidas mediante a introdução de uma sonda esofágica até o rúmen, previamente lubrificada com 2 ml de óleo mineral**, adaptada a uma bomba de vácuo***. Desta forma evitava-se traumatismos no trato digestivo anterior e tornava a introdução mais rápida, prevenindo assim, uma maior contaminação das amostras com a saliva contida na boca, faringe e esôfago dos animais.

As amostras colhidas eram imediatamente transferidas para garrafas térmicas individuais, previamente aquecidas com água à temperatura de 39°C, sendo então, imediatamente fechadas, procurando-se, dessa maneira, evitar mudanças bruscas na temperatura e contato com o ar atmosférico. As amostras permaneciam nas garrafas por um período aproximado de 3 horas até a realização de todas as provas.

EXAME DO LÍQUIDO RUMINAL

Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada em potenciômetro****, sendo reduzida 0,2 unidade no valor de pH obtido em cada amostra, devido a uma possível contaminação salivar, segundo as recomendações de ROSENBERGER¹⁹ (1983).

Determinação da acidez total titulável

A acidez total titulável foi determinada de acordo com a técnica de JONOV, citada por ROSENBERGER¹⁹ (1983) e SLANINA; ROSSOW²¹ (1964). Para tanto, adicionavam-se duas gotas de fenolftaleína a 10 ml de fluido ruminal, e a seguir, a mistura era titulada com uma solução de N/10 NaOH, considerando-se o ponto de viragem dessa preparação, a coloração semelhante à carne. O volume da solução de soda utilizado na titulação, expresso em ml, era multiplicado por 10, resultando nas unidades de acidez total.

Análise estatística

As variáveis pH e acidez total titulável do suco ruminal foram avaliadas nas duas raças, no inverno e verão. Os procedimentos efetuados foram:

- estudo descritivo das variáveis por raça e em cada época do ano, calculando-se a média (x), desvio padrão (s), coeficiente de variação (cv) e intervalo de confiança da média a 95% (LI: limite inferior e LS: limite superior).
- comparação entre inverno e verão, utilizando-se o teste t para amostras pareadas (BERQUO et al.⁵, 1980).
- comparação entre raças, utilizando-se o teste t para amostra independente (BERQUO et al.⁵, 1980).

Em todas as comparações efetuadas, os índices estatísticos calculados foram considerados significativos quando o nível

de significância (p) resultou menor que 5% (p < 0,05).

TABELA 1

Valor do pH do líquido ruminal de ovelhas das raças Merino Australiano (MER) e Corriedale (CORR), no inverno (INV) e verão (VER). Média (x), desvio padrão (s), coeficiente de variação (CV) e intervalo de confiança da média a 95% (Limite inferior = LI e Limite superior = LS). Comparações, Índices estatísticos calculados e interpretação. Botucatu - SP, julho/1990 e janeiro/1991.

Valores Amostrais	x	s	CV	Intervalo de Confiança	
				LI	LS
MER INV	6,60	0,20	2,94	6,64	6,96
MER VER	6,75	0,23	3,47	6,69	7,02
CORR INV	6,70	0,21	3,15	6,64	6,97
CORR VER	6,84	0,28	4,07	6,78	7,11

Comparações	Índice Estatístico	Interpretação
MER x CORR no INV	t=0,187; p>0,50	MER = CORR
MER x CORR no VER	t=1,766; p>0,50	MER = CORR
INV x VER p/ MER	t=1,330; p>0,10	INV = VER
INV x VER p/ CORR	t=2,828; p<0,01	INV < VER

TABELA 2

Acidez total titulável (unidades) do líquido ruminal de ovelhas das raças Merino Australiano (MER) e Corriedale (CORR), no inverno (INV) e verão (VER). Média (x), desvio padrão (s), coeficiente de variação (CV) e intervalo de confiança da média a 95% (Limite inferior = LI e Limite superior = LS). Comparações Índices estatísticos e interpretação. Botucatu - SP, julho/1990 e janeiro/1991.

Valores Amostrais	x	s	CV	Intervalo de Confiança	
				LI	LS
MER INV	26,27	5,02	19,10	24,88	27,65
MER VER	29,24	6,24	21,34	27,55	30,93
CORR INV	27,26	4,82	17,67	25,89	28,63
CORR VER	30,40	5,11	16,80	28,97	31,81

Comparações	Índice Estatístico	Interpretação
MER x CORR no INV	t=1,027; p>0,30	MER = CORR
MER x CORR no VER	t=1,043; p>0,30	MER = CORR
INV x VER p/ MER	t=2,337; p<0,05	INV < VER
INV x VER p/ CORR	t= 2,808; p<0,01	INV < VER

RESULTADOS

DISCUSSÃO

A determinação do pH do líquido ruminal das ovelhas que constituíram os grupos experimentais desta pesquisa foi realizada com o uso de pH neutro, conforme recomendações de ALONSO¹ (1979), por apresentar uma maior precisão do que o método efetuado com papel indicador. Os valores obtidos nesse trabalho, tanto no inverno como no verão, permaneceram dentro da faixa de normalidade, variando entre 6,0 e 7,4, como descrito por HOLTENIUS et al.¹³(1959); SLANINA; CABADAJ²⁰ (1967); BAUMGARTNER⁴ (1983); VAZQUEZ et al.²³ (1986); BLOOD; RADOSTITS⁷(1989) e GARRY⁹ (1990).

Nos animais estudados não foi constatada influência dos fatores raciais sobre os valores do pH do líquido ruminal, pois não se observaram diferenças significativas entre esses valores nos ovinos da raça Merino Australiano nas duas épocas do ano; a existência de diferenças estatísticas entre os valores

** NUJOL - Schering S.A.

*** BOMBA DE SUÇÃO RUMINAL - II. Hauptner - Solingen

****MODELO E 520 - Metrohm Herisau

do pH com relação aos ovinos da raça Corriedale nas duas estações, não devem ser levadas em consideração na prática, pois não apresentam significado biológico.

Apesar dos valores do pH das amostras de suco de rúmen obtidas com sonda esofágica serem maiores, em decorrência da contaminação salivar, como indicado por BAILEY; BALCH³ (1961); RAUN; BURROUGHES¹⁸ (1961); BAUMGARTNER⁴ (1983); ROSENBERGER¹⁹ (1983); GARRY⁹ (1990) e DIRKSEN 1981 apud OLIVEIRA¹⁶ (1991), esse problema foi minimizado face ao treinamento dessa técnica antes da realização do experimento, permitindo a obtenção de um considerável volume de suco ruminal e pela adaptação de uma sonda esofágica específica para ovinos, de acordo com os relatos de ORTOLANI¹⁷ (1981); GARRY^{9,10} (1990). Com isso, pode-se assegurar que a contaminação das amostras com saliva foi a menor possível, não sendo, todavia, descartada a hipótese da mesma ter ocorrido, de modo que reduziu-se 0,2 unidade do valor do pH obtido das amostras, a fim de atingir-se o verdadeiro valor do pH do líquido ruminal, como sugerido por ROSENBERGER¹⁹ (1983) e DIRKSEN 1981 apud OLIVEIRA¹⁶ (1991).

A liberação do dióxido de carbono tem sido apontada como um dos fatores envolvidos no aumento da concentração hidrogeniônica quando se faz a mensuração do pH "in vitro", como relatado por TURNER; HODGETTS²² (1955); KOLB¹⁴ (1979) e BLOOD; RADOSTITS⁷ (1989). Contudo, essa perda do dióxido de carbono pode ser reduzida pela conservação das amostras em recipientes fechados até a realização das provas.

A determinação da acidez total titulável do conteúdo ruminal oferece informação sobre o bioquimismo do rúmen e segue aproximada e paralelamente as mudanças de pH, conforme as afirmações de HOFIREK et al.¹³ (1976). Porém, a técnica de JONOV, citada por SLANINA; ROSSOW²¹ (1964) e ROSENBERGER¹⁹ (1983) é bastante limitada, já que outros métodos mais modernos, como a cromatografia gasosa, por exemplo, são mais eficientes e não só determinam a concentração total dos ácidos graxos voláteis, como também a proporção entre estes, sendo recomendado por BAUMGARTNER⁴ (1983). No entanto, como na rotina clínica necessitamos muitas vezes de exames práticos e rápidos, a técnica de JONOV pode ser usada satisfatoriamente no auxílio diagnóstico de algumas afecções dos reservatórios gástricos (acidose e alcalose ruminais), pois uma concentração alta ou baixa de ácidos graxos voláteis observada com a realização dessa prova, poderá confirmar a ocorrência de algum desses distúrbios.

Os valores obtidos no presente trabalho foram superiores àqueles reportados por SLANINA; ROSSOW²¹ (1964); SLANINA; CABADAJ²⁰ (1967); HOFIREK¹¹ (1970) e ROSENBERGER¹⁹ (1983), que consideraram normais valores variando entre 8 e 25 unidades. No entanto, temos que levar em consideração que todos esses pesquisadores trabalharam com bovinos, podendo existir diferenças na concentração de AGV no rúmen, em relação à espécie animal.

Não foram constatadas diferenças estatisticamente significativas ao compararem-se os resultados obtidos nos grupos experimentais formados, respectivamente, por ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale; entretanto observaram-se

valores mais elevados no verão do que no inverno, concordando com as afirmações feitas por OLIVEIRA¹⁶ (1991), que analisando o líquido ruminal de 51 bovinos da raça Nelore criados em regime extensivo de pastagem, em duas épocas do ano, obteve valores mais elevados no verão do que no inverno. Estes valores mais elevados podem ser atribuídos a uma maior porcentagem de proteínas no pasto no verão, e a uma maior ingestão de capim pelos animais quando este está fresco e succulento, intensificando a taxa de fermentação e, conseqüentemente, a concentração dos ácidos graxos voláteis (AGV).

FENNER et al.⁸ (1970); VENTUROLI et al. 1971 apud ARAUJO² (1974); LEEK¹⁵ (1983) e ROSENBERGER¹⁹ (1983) comentaram que existem outros fatores que podem afetar a concentração total dos ácidos graxos voláteis ou de um ácido em particular, como por exemplo, a constituição da dieta. A velocidade de produção de AGV no rúmen, a velocidade de passagem do conteúdo ruminal para o omaso e a taxa de sua diluição com a saliva também interferem na concentração total dos AGV, como sugerido por YOUSRI et al.²⁴ (1977).

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos com a avaliação do líquido ruminal de ovinos das raças Merino Australiano e Corriedale nos meses de verão e inverno permitiram concluir que não existem diferenças estatisticamente significativas entre os valores obtidos nas raças Merino Australiano e Corriedale, quer para o pH como para a acidez total titulável. Todavia as estações do ano influíram de forma significativa nos resultados da prova da acidez total titulável, o mesmo não sendo observado com relação ao pH.

SUMMARY

Determination of the pH and total titratable acidity from rumen liquor was carried out in Australian Merino and Corriedale sheep fed on pasture, in two seasons of the year (winter and summer), in Botucatu City, São Paulo, Brazil. Rumen samples were collected using a standard tube, from 103 sheep during the winter period (50 Corriedale and 53 Australian Merino) and from 107 sheep in the summer (52 Corriedale and 55 Australian Merino). The results obtained for pH and total titratable acidity in Australian Merino sheep in winter and summer were, respectively $6,69 \pm 0,20$ and $6,75 \pm 0,23$, and $26,27 \pm 5,02$ and $29,24 \pm 6,24$ units. The results observed in these tests for Corriedale sheep in winter and summer were, respectively, $6,70 \pm 0,21$ and $6,84 \pm 0,28$, and $27,26 \pm 4,82$ and $30,40 \pm 5,11$ units.

UNITERMS: Rumen, fluids; Rumen, pH; Sheep; Australian Merino; Corriedale

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 01-ALONSO, A. N. Diagnostic analysis of rumen fluid. *Vet. Clin. N. Amer. Small anim. Pract.*, v.1, p. 363-76, 1979.
- 02-ARAUJO, L. M. Ruminite crônica hiperplástica em bovinos (*Bos taurus*, L. 1758): estudo de fatores alimentares como

- agentes etiológicos. São Paulo, 1974. Tese (Livre-Docência) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade de São Paulo.
- 03-BAILEY, C. B.; BALCH, C.C. Saliva secretion and its relation to feeding in cattle. 2. The composition and rate of secretion of mixed saliva in the cow during rest. *Brit. J. Nutr.*, v. 15, p. 383-402, 1961.
- 04-BAUMGARTNER, W. Laboratory diagnosis in cattle practice V. Examination of rumen fluid. *Tierärztl. Umsch.*, v. 38, p.560-1, 1983.
- 05-BERQUO, E.S.; SOUZA, J.M.P.; GOTLIEB, S.L.D. *Bioestatística*. São Paulo, Pedagógica e Universitária, 1980.
- 06-BIRGEL, E.H. Aspectos fisiopatológicos dos reservatórios gástricos dos bovinos. In: ENCONTRO DE INTEGRAÇÃO REGIONAL DO VALE DO PARAIBA, 1., Guaratinguetá, 1977. *Resumo de trabalhos*. São Paulo, Sociedade Paulista de Medicina Veterinária, 1977. p. 54-65.
- 07-BLOOD, D.C.; RADOSTITS, O.M. *Veterinary medicine: a textbook of the diseases of cattle, sheep, pigs, goats and horses*. 7. ed. London, Baillière Tindall, 1989. p. 228-87: Diseases of the alimentary tract.
- 08-FENNER, H.; DAMON JUNIOR, R.A.; BARNES, H.D. Effects of a stepwise replacement of hay with corn silage on pH, some of the bovine after feeding. *J. Dairy Sci.*, v. 53, p. 1568-77, 1970.
- 09-GARRY, F.B. Indigestion in ruminants. In: SMITH, B. P. *Large animal internal medicine*. St. Louis, C.V. Mosby, 1990. v.1, p. 747-82.
- 10-GARRY, F.B. Managing forestomach problems caused by motor disease. *Vet. Med.*, Missouri, v. 85, p.651-8, 1990.
- 11-HOFIREK, B. A method of the determination of the reduction activity of the rumen liquor by means of methylene blue, resazurin and thionine in cattle clinically free from disease. *Vet. Med.*, Praha, v. 15, p.461-7, 1970.
- 12-HOFIREK, B.; JAGOS, P.; PVORAK, R. A metabolic profile test of rumen fluid and its application in the diagnosis of rumen dysfunctions. In: CONGRES INTERNATIONAL SUR LES MALADIES DU BETAIL, 9., 1976, Paris. *Rapports & Résumés*. Boigneville, Société Française du Buiatria, 1976. p.659-64.
- 13-HOLTENIUS, P.; BJORCK, G.; HOFLUND, S. Die Untersuchung von Pansensaftproben. *DTW Dtsch. Tierärztl. Wochenschr.*, v.66, p.554-8, 1959.
- 14-KOLB, E. *Fisiologia veterinária*. 2. ed. Zaragoza, Acribia, 1979. p.265-338: La digestión en el estómago de los ruminantes.
- 15-LEEK, B.F. Clinical diseases of the rumen: a physiologist's view. *Vet. Rec.*, v. 113, p. 10-4, 1983.
- 16-OLIVEIRA, D.B. *Estudo do suco rumenal de bovinos criados em regime extensivo de pastagem (Brachiarlia decumbens) no município de Botucatu - SP*. Botucatu, UNESP, 1991. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia, Universidade Estadual Paulista.
- 17-ORTOLANI, E.L. Considerações técnicas sobre o uso da sonda esofágica na colheita do suco de rúmen de bovinos para mensuração do pH. *Arq. Esc. Vet. Univ. Fed. M. Gerais*, v.33, p.269-75, 1981.
- 18-RAUN, N.S.; BURROUGHS, W. Suction strainer technique in obtaining rumen fluid samples from intact lambs. *J. anim. Sci.*, v.21, p.454-7, 1961.
- 19-ROSENBERGER, G. *Exame clínico dos bovinos*. 2. ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1983.
- 20-SLANINA, L.; CABADAJ, R. Biochemistry of the rumen and its use in clinical diagnosis. I. Rumen acidity under normal feeding conditions. *Folia Vet. Lat.*, Milan, v.9, p. 59-66, 1967.
- 21-SLANINA, L.; ROSSOW, N. Zur speziellen diagnostik einiger erkrankungen des vormagen-lambmagen-komplexes. *Mh. Vet.-Med.*, v. 19, p. 282-91, 1964.
- 22-TURNER, A.W.; HODGETTS, V.E. Buffer systems in the rumen of the sheep. I. pH and bicarbonate concentration in relationship to pCO₂. *Austr. J. agric. Res.*, v.6, p.115-24, 1955.
- 23-VAZQUEZ, O.; PORTAL, A.; GUERREIRO, R.; CURBELO, R. Efecto de la temperatura y de algunos aditivos químicos en la preservacion de muestras de líquido ruminal de ovejas. Determinación de amoniaco y pH. *Rev. Cuba Cienc. Vet.*, Havana, v. 17, p.139-44, 1986.
- 24-YOUSRI, R.M.; ABOU AKKADA, A.R.; ABOU RAYA, A.K. Rumen activity and blood urea of sheep as affected by climatic conditions. *Wld. Rev. Anim. Prod.*, Rome, v. 13, p. 51-6, 1977.

Recebido para publicação em 28/01/92
Aprovado para publicação em 09/10/92