

**Nogueira, Silvia Carolina**

*Suplementación con mezcla comercial de taninos  
de quebracho y castaño en vacas lecheras*

**Trabajo Final de Ingeniería en Producción Agropecuaria  
Facultad de Ciencias Agrarias**

Este documento está disponible en la Biblioteca Digital de la Universidad Católica Argentina, repositorio institucional desarrollado por la Biblioteca Central "San Benito Abad". Su objetivo es difundir y preservar la producción intelectual de la Institución.

La Biblioteca posee la autorización del autor para su divulgación en línea.

Cómo citar el documento:

Nogueira, S.C. 2011. Suplementación con mezcla comercial de taninos de quebracho y castaño en vacas lecheras [en línea]. Trabajo Final. Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad Católica Argentina. Disponible en: <http://bibliotecadigital.uca.edu.ar/repositorio/tesis/suplementacion-mezcla-comercial-taninos-quebracho.pdf>. [Fecha de Consulta:.....]

(Se recomienda indicar fecha de consulta al final de la cita. Ej: [Fecha de consulta: 19 de agosto de 2010]).



PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA ARGENTINA  
*FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS*  
*INGENIERIA EN PRODUCCIÓN AGROPECUARIA*

---

# SUPLEMENTACIÓN CON MEZCLA COMERCIAL DE TANINOS DE QUEBRACHO Y CASTAÑO EN VACAS LECHERAS

---

*TRABAJO FINAL DE GRADUACIÓN  
PARA OPTAR POR EL TÍTULO DE:*  
**INGENIERO EN  
PRODUCCIÓN AGROPECUARIA**

*AUTOR*  
**SILVIA CAROLINA NOGUEIRA**

*PROFESOR TUTOR*  
**CLAUDIO GUSTAVO CABRAL**

*FECHA*  
**FEBRERO 2011**



# Indice

1. Resumen	1
2. Introducción	2
3. Hipótesis	4
4. Objetivos	5
5. Revisión Bibliográfica	6
5.I. Inicio de los taninos	6
5.I.1. Perfil histórico	6
5.I.2. El corazón de la idea	8
5.I.3. Definición y clasificación	10
5.I.3.1. Los taninos vegetales	11
5.I.3.2. Los taninos sintéticos	16
5.I.4. Propiedades químicas de los taninos	16
5.I.5. Formación del fito-complejo llamado ácido tánico	18
5.I.6. Principales usos de los taninos	22
5.I.6.1. Medicamentos	22
5.I.6.2. Ácido gálico y pirogalol	23
5.I.6.3. Purificación de vinos y cervezas	24
5.I.6.4. Tinta para escribir	24
5.I.6.5. Curtido	26
5.II. Taninos en la naturaleza	27
5.II.1. El sorgo	29
5.II.1.1. Constitución y composición del grano de sorgo	29



5.II.1.2. Los taninos del sorgo .....	33
5.II.2. La agricultura y los taninos .....	36
5.III. Taninos en la nutrición animal .....	36
5.III.1. Los taninos y su efecto en la ingestión voluntaria .....	37
5.III.2. Los taninos y su efecto en la digestibilidad de la dieta .....	38
5.III.3. Los taninos y su efecto en la fermentación ruminal .....	39
5.III.4. Los taninos y su efecto en la digestibilidad intestinal .....	42
5. IV. Efectos sobre el rendimiento productivo .....	42
5. V. Taninos en la alimentación .....	44
5.V.1. Protector de la proteína frente a la degradación ruminal. ....	44
5.V.1.1. Tratamientos para la protección de la proteína .....	45
5.V.1.2. Tratamientos para la protección de la proteína .....	45
5.V.2. Otros usos en la nutrición .....	46
6. Materiales y Métodos .....	48
6.I. Animales .....	48
6.II. Dieta .....	48
6.III. Tratamiento experimental .....	50
6.III.1. Muestreo .....	50
6.III.2. Análisis estadístico .....	52
7. Resultados .....	53
8. Discusión .....	58
9. Conclusión .....	61
10. Bibliografía .....	63



# 1

## Resumen

Este trabajo se realizó con el objeto de observar la performance de los animales, al agregar un aditivo con cierta cantidad de taninos (desde 0 a 1,8% en MS); también medir cómo interactúan estos, con dos niveles de proteína en la dieta. El ensayo se practicó durante 4 meses, y se dividió en cuatro períodos en los cuales se tomaron muestras de: alimento consumido, orina, materia fecal y líquido ruminal.

Los microorganismos del rumen, especialmente las bacterias, degradan la proteína que ingresa en el rumen. Sin embargo, una parte de la proteína dietaria escapa a la degradación ruminal y llega al intestino donde es absorbida como amino ácidos. Los taninos tienen la propiedad de ligarse a las proteínas y ejercer un efecto “bypass” sobre las mismas, por esto cierta cantidad de proteína dietaria de mayor valor biológico atraviesa el rumen al ser protegida y llega al duodeno para ser absorbida. Puede asumirse que el resultado de agregar taninos a la ración, disminuirá la liberación de nitrógeno en el rumen. En consecuencia, el flujo de amino ácidos dietarios que van hacia el duodeno, puede verse incrementado.

Los resultados obtenidos sugieren que la respuesta de las vacas no fue afectada por el nivel de proteína dietaria, en combinación con taninos. Se vio reducido el consumo pero no la producción de leche. Por otra parte, el nivel medio de taninos, incrementó el contenido en leche de proteína verdadera y la producción de la misma en comparación al tratamiento control.

Con el nivel superior de taninos, se observó una reducción del  $\text{NH}_3\text{-N}$  ruminal, y de los niveles de Nitrógeno Ureico en Leche (NUL), Nitrógeno Ureico en Plasma (NUP), y el N en orina.



## 2 Introducción

Los taninos vegetales pertenecen a un grupo muy complejo de compuestos fenólicos que se encuentran en diversas especies vegetales y pueden o no ser consumidas por los rumiantes. Aunque es difícil definir químicamente a los taninos, podemos decir que, se consideran como tal aquellos compuestos fenólicos con una gran afinidad por otras moléculas, fundamentalmente proteínas, y que poseen pesos moleculares que van desde 500 a 20000 Daltons (McLeod, 1974; Hagerman y Butler, 1991; Mueller-Harvey y McAllan, 1992; Mueller-Harvey, 1999).

Desde el punto de vista químico podemos dividir a los taninos vegetales en dos grandes grupos: taninos hidrolizables (TH) y taninos condensados (TC). Los TH están constituidos por un núcleo compuesto por un glúcido, cuyos grupos hidroxilo se encuentran esterificados con ácidos fenólicos, tales como el ácido gálico o su dímero, el ácido elágico. Los taninos condensados (o proantocianidinas), son polímeros de hidroxiflavonoles (McLeod, 1974; Haslam, 1994). En la naturaleza se encuentra con mayor frecuencia los TC que los TH, principalmente, en árboles, arbustos y leguminosas herbáceas (Van Soest, 1994; Aerts *et al.*, 1999).

Dentro del grupo de los TC, se encuentran varios compuestos con diferente reactividad y estructura química, los que podrían causar diferentes efectos sobre la nutrición de los rumiantes (Aerts *et al.*, 1999; Schofield *et al.*, 2001, Hervás 2001).

Los taninos vegetales tienen una gran capacidad de formar puentes



de hidrógeno (pH dependientes) con otras moléculas, principalmente con las proteínas; debido a la gran cantidad de grupos hidroxilo que poseen (Hagerman *et al.*, 1992; Mueller-Harvey y McAllan, 1992; Schwab, 1995; Barry y McNabb, 1999).

La rápida hidrólisis de la proteína de origen vegetal en el rumen constituye uno de los principales factores limitantes en la producción intensiva de rumiantes (Broderick *et al.*, 1991). El uso de grandes cantidades de concentrados proteicos vegetales para hacer frente a los altos requerimientos de proteína nos lleva a elevadas pérdidas urinarias de una gran parte del nitrógeno proteico ingerido. En este sentido, la desaminación de los amino ácidos genera  $\text{NH}_3$  que puede ser utilizado por la microbiota ruminal para la síntesis de proteína microbiana si se cuenta con suficiente energía en la ración. No obstante, cuando se produce una mayor cantidad de  $\text{NH}_3$  y este supera la capacidad microorganismos de sintetizar proteína microbiana, el exceso de este  $\text{NH}_3$  atraviesa las paredes del rumen, pasando a formar en su mayor parte urea (Martínez *et al.*, 2002). Esto nos lleva a grandes pérdidas urinarias de nitrógeno y por lo cual a una utilización ineficiente del nitrógeno proteico (Wallace, 1994). Es por esto que identificar factores capaces de reducir la degradación de proteína dietaria en rumen, es de suma importancia y se ha convertido en una línea de investigación primordial en la nutrición de rumiantes, para favorecer el pasaje de estos componentes deseados al intestino. Actualmente, crece el interés por medir el potencial de los taninos en la protección de la proteína frente a su hidrólisis en el rumen, y algunos resultados apuntan hacia ciertos efectos beneficiosos de los mismos sobre la utilización de la proteína de forrajes y concentrados (Zimmer y Cordesse, 1996a; Martínez *et al.*, 2002).



## 3 Hipótesis

- 1 El agregado de una mezcla de taninos a la dieta, mejora los índices productivos en vacas Holstein.
- 2 El nivel de PB no interacciona con el nivel de taninos agregados.



# 4

## Objetivos

- 1 Determinar los efectos en vacas lecheras, del agregado a la dieta de una mezcla comercial de taninos de quebracho y castaño (taninos condensados e hidrolizables, respectivamente), en el rendimiento (consumo de materia seca, producción de leche, y aumento del peso corporal) composición de la leche, parámetros de fermentación ruminal y composición de la excreción orina y heces.
- 2 Determinar si la respuesta a la suplementación con taninos puede verse afectada por el nivel de proteína bruta en la dieta (“recomendado” vs. “exceso” de proteína bruta).



## 5 Revisión Bibliográfica

### 5.I. INICIO DE LOS TANINOS

#### 5.I.1. *Perfil histórico*

La producción industrial de taninos vegetales comenzó alrededor de 1842 en Lyon, Francia, y originalmente implicaba a la madera de castaño.

Precisamente fueron los curtidores de la ciudad que al experimentar en el siglo XIX, se dan cuenta que la madera de castaño contenía una cierta cantidad de taninos. Anteriormente se extraían los taninos de la corteza de roble, pero este posee un pequeño porcentaje de taninos (alrededor del 5%) e incluso 1,5% en las plantas jóvenes de dos décadas (Calleri, 1989). Según algunos autores, la palabra “taninos” deriva de la palabra celta “*tan*” (roble) (Meunier y Vaney, 1950).

En un principio se utilizaba para teñir la tela de seda color negro y este hecho explica la relación tecnológica y comercial con Lyon que, a mediados del siglo XIX, fue el principal lugar de distribución de la seda. Y donde se producía la “tintura por ácido gálico”.

Es muy probable que el origen del extracto de castaño, si bien, no se



encuentra claramente documentado, haya sido como aditivo alternativo, más económico, que el producto de la madera, utilizado para producir tinta y para otorgarle rigidez y peso a la seda (Bignami, 1983)

Era un nuevo uso que se sumaba a otros, tales como descalcificación de calderas, componente en la fabricación de pomada de zapatos y como componente más económico en la tintura gris para algodón.

La denominación “Gálico”, que se conservó por un largo tiempo, deriva del hecho que durante la tintura de la seda, se obtenían mejores resultados sustituyendo el extracto de nuez de agalla por el ácido tánico.

Alrededor de 1860 en Francia y luego en Italia, en Suiza e Inglaterra, se pusieron a la moda vestimentas femeninas en seda negra con flecos y cordón. Los baños de tintura y masa permitían que las fibras se hincharan lo que permitía confeccionar las grandes faldas semirrígidas clásicas de esa época.

Una década más tarde, sin embargo, la demanda de ropa confeccionada con este tipo de tela cayó de manera significativa y los curtidores de Lyon comenzaron a explorar el uso de madera de castaño para curtir los cueros con resultados alentadores (Bignami, 1983).

Pero fue la intuición de Aimé Koch al introducir el uso en la curtiembre “no, del uso directo de la madera de castaño, sino su extracto”. Fue entonces que en 1872 se presentó en la exposición de Lyon, “un extracto de castaño que fue el primer curtiente obtenido mediante procedimientos modernos” (Bignami, 1983).

En los años siguientes, se crearon varios establecimientos para la extracción de tanino de castaño, especialmente en las zonas donde la presencia de grandes bosques podría garantizar el fácil y constante suministro de la materia prima.

Las “fábricas”, como se los las llamaba en la jerga popular a estos establecimientos, fueron construidas en los valles de los Alpes y los Apeninos, sobre todo en Cuneo y en la zona de Mondoví. Y esto formó parte del contexto geográfico, social y económico de la montaña.

Si Francia fue considerada la cuna de los extractos de tanino de la madera de castaño, Italia fue la que introdujo rápidamente la producción de estas sustancias. Desde el principio hubo un gran desarrollo de industriales y técnicos italianos que contribuyeron de manera significativa al avance de esta industria (Calleri, 1989).

El Piamonte ha sido y es la región líder en la actividad de extracción de taninos, ya sea que provenga del castaño o de otras materias primas.

## 5.1.2.

## *El corazón de la idea*

En 1854 el farmacéutico Sebastiano Camperi de Frabosa Soprana, al entrar en contacto con la moda “à la française” e interesarse en la técnica que utilizaban los fabricantes de seda franceses, es que decidió instalar una fábrica de ácido gálico en medio de una región poblada de castaños en la zona de Mondoví, más precisamente en el pueblo de Corsaglia (donde ya había un molino, que permitió triturar la corteza del castaño, de donde se obtiene el extracto tánico).



*Figura 1. Fabrica de extractos para tintura y para curtir, en Mondoví.*

Tal vez la llegada de esta nueva actividad, al sur oeste de Piamonte, se vio favorecida por el aumento del comercio y la emigración de trabajadores temporarios durante los meses de invierno.

Dada la abundancia de castaños en los valles de la ciudad de Frabosa Soprana el farmacéutico intuyó que para obtener un patrimonio a futuro debía construir una “fábrica” cerca de las materias primas.

En 1856, en el pueblo de Pamparato, fue inaugurada la segunda “fábrica” de extracción de ácido tánico, por lo que ambas quedaron en la provincia de Cuneo, mas precisamente en el distrito de Mondoví.

Como consecuencia de la caída económica en el área de la seda, a partir de 1870 se buscó otro uso del extracto de castaño, más seguro y constante, y este resultó ser la curtiembre.

La operación se llevaba hasta el momento, bajo el viejo sistema de curtir en



fosas. Las pieles eran limpiadas y preparadas para ser estiradas y profundamente enterradas en capas alternadas de corteza de roble molida. La fosa se llenaba de agua, y todo se dejaba macerar durante meses hasta que se obtenía poco a poco la fijación del curtiente de la madera, que se disolvía en primera instancia en el agua. Las dificultades que debió afrontar el curtidor para obtener resultados constantes en la producción fueron muchas, y la introducción de un nuevo e importante sistema para curtir la piel era una problemática concretamente sentida y de difícil resolución por razones técnicas y por costumbres operativas radicadas.

En este sentido se realizaron un gran número de investigaciones, tanto en Italia como en Francia, y se llegó a desarrollar primero el extracto de roble y luego el extracto de castaño. Los primeros extractos de madera de castaño se vendieron bajo el nombre de “roble”, fundamentalmente por cuestiones comerciales, ya que el tanino del roble hasta ese momento era el más conocido (camera di commercio di Cuneo, 1922)

El debate entre el proceso de curtir en fosas y la introducción de líquidos curtidores (ácido tánico), se prolongó hasta pasada la Primera Guerra mundial, donde algunos pequeños curtidores seguían utilizando el primer método, sin importar que presentara serios problemas operativos pero que garantizaba excelentes resultados de curtido y el cuero presentaba una gran resistencia.

El Curtido con extractos curtientes mostró beneficios significativos, y permitió la creación de mezclas constantes y adaptables a cada fase de la elaboración, con un considerable ahorro de tiempo y mano de obra.

En los últimos años del siglo XIX se produjo una disminución en la disponibilidad de corteza de roble, lo que favoreció la incorporación del nuevo extracto de castaño. A esto se le sumó la presión de varios fabricantes por lo que su uso fue aumentando y desplazando, cada vez más, hasta su totalidad al viejo roble así como también el sistema de curtir.

Entre mediados y fines del siglo XIX en Italia se inauguraron por lo menos quince establecimientos, además de los dos ya mencionados; ocho en la provincia de Cuneo y más concretamente en los valles Mondoví y Tanaro; los restantes fueron instalados en las regiones de Lombardia, Toscana, Liguria y Calabria. Muchas de estas fábricas desaparecieron luego de una breve actividad, otras se modernizaron y continuaron su trabajo durante largos períodos, hasta que las exigencias técnicas y organizativas requirieron la concentración en pocos y modernos establecimientos.



### 5.1.3. Definición y clasificación

Las sustancias conocidas con el término “taninos” no son fáciles de insertar en un sistema de clasificación simple y completo. Esta dificultad surge principalmente por dos razones: en primer lugar, con el término “tanino” se hace referencia tanto a los extractos vegetales, como a los derivados sintéticos. Aunque estos dos tipos de productos se pueden utilizar para propósitos similares, es decir, como sustancias curtientes en el proceso de producción del cuero, no son de una analogía química y se caracterizan por procesos de obtención completamente diferentes.

En segundo lugar, el término “tanino vegetal” no indica un solo producto exactamente definido en su composición y estructura, aunque si refiere a un grupo de sustancias afines de naturaleza vegetal, que aún teniendo características comunes son bastante diferentes entre sí en términos de estructura y de composición centesimal.

Por otra parte, erróneamente con el término ácido tánico se identifica a la totalidad de fito-complejo que se extrae de la madera, porque es la única molécula de la cual se conoce exactamente su estructura. Pero el resto de las moléculas que componen el fito-complejo, no han llegado a ser tan detalladas como esa.

En síntesis, una clasificación precisa de todos los distintos taninos vegetales es casi imposible debido a que su composición exacta es desconocida, ya que las plantas contienen taninos de composición similar pero variable.

Mas allá de los evidentes problemas para la clasificación, es todavía necesario y posible realizar una categorización general de los taninos.

Como se dijo anteriormente, de acuerdo con las sustancias de las que se obtienen y del proceso de producción, los taninos se pueden dividir en *taninos vegetales* y *taninos sintéticos*.

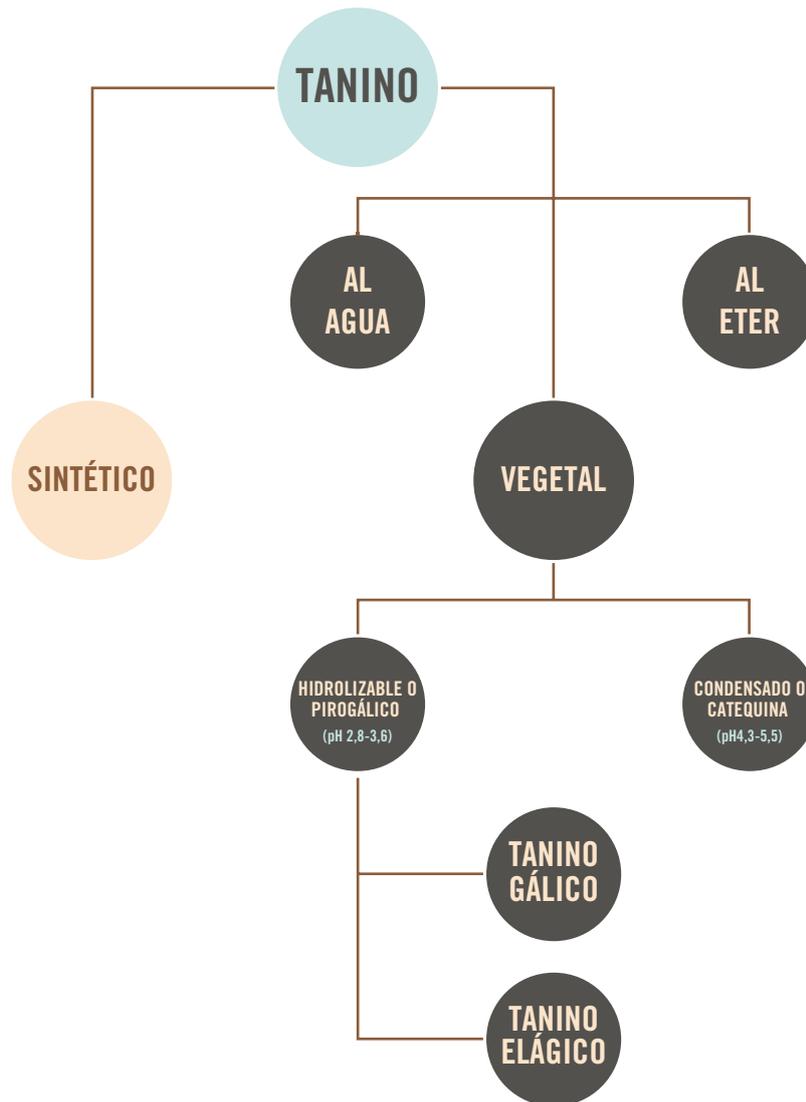


Figura 2. Clasificación de los taninos

### 5.I.3.1

### Los taninos vegetales

Los “taninos vegetales” tienen un alto peso molecular (500- 20000 Da), y poseen la capacidad de formar complejos reversibles o irreversibles con las proteínas, fundamentalmente, pero también con otras sustancias, tales como polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, pectina, etc.), alcaloides, ácidos nucleicos, minerales, etc. (McLeod, 1974; Jansman, 1993; Haslam, 1994; Schofield *et al.*, 2001), dependiendo de su grado de polimerización y peso molecular, y debido a su elevada afinidad por estas moléculas (McLeod, 1974; Kumar y Singh, 1984; Mole y Waterman, 1987; Mangan, 1988; Mueller-Harvey y McAllan, 1992; Jansman, 1993; McSweeney *et al.*, 2001b).

Hay que aclarar que los términos tanto “tanino vegetal” o polifenol pueden



describir correctamente a este grupo de compuestos fenólicos, pero ambos resultan imprecisos ya que ni sólo los taninos son capaces de unirse a las proteínas (también lo hacen otros fenoles, como el pirogalol o el resorcinol), ni todos los polifenoles tienen la capacidad de precipitar proteínas o formar complejos con polisacáridos (Nelson, 1996).

Horvarth en 1981 fue quien definió, a los taninos como, cualquier compuesto fenólico con suficiente peso molecular y suficientes grupos hidroxilo o similares (e.g., carboxilo) capaces de formar enlaces con proteínas y otras macromoléculas (celulosa, almidón, etc.) bajo determinadas condiciones (Giner-Chavez, 1996; Van Soest, 1994). Es por todo esto que, el término “tanino” ha sido ampliamente aceptado por la comunidad científica para referirse a estos compuestos (Giner-Chavez, 1996).

Los “taninos vegetales” tienen las siguientes características (Vocabulario della lingua italiana, 1996):

- 1) Sabor astringente;
- 2) reacción ácida;
- 3) en una solución de sales de hierro tienen una intensa coloración azul o verde oscuro y negro y esta última reacción, conocida desde hace siglos, es en la que se basó la fabricación de tintas para escribir;
- 4) precipitación, en una solución de gelatina.

En esta última reacción se basa el uso del tanino como curtiente, debido al hecho de que se une a la proteína, haciéndola insoluble y no permitiéndole la putrefacción, por lo que la piel animal se reduce a cuero.

Los taninos son muy abundantes en la naturaleza, más del 30% de las plantas que se reproducen por semilla lo contienen, con porcentajes que varían ampliamente de una planta a otra: su presencia puede limitarse a unos pocos puntos porcentual o hasta 60-70%.

Los taninos están presentes en las plantas en diferentes estructuras: la madera, corteza, hojas, bellota, en las flores, en agallas causadas por picaduras de insectos, en la cáscara de fruta y en la fruta en sí (Thacher, 1921).

Con respecto a esto último, se ha señalado que antes de la maduración los frutos contienen cantidades importantes de taninos que le otorgan ese sabor astringente característico. Estos van disminuyendo gradualmente y hasta en algunos casos desaparecen totalmente en el momento de la maduración.

Los colores amarillo y rojo, propios de la fruta madura, se deben a una reacción que producen estos pigmentos, provocados por el tanino (Thacher, 1921)

Como ya dijimos, los taninos vegetales no tienen la misma composición



química, sino que, por el contrario, puede tener composiciones químicas muy diferentes. Esto no impide que muchos taninos pueden ser intercambiados en su uso, pero para algunos usos o exigencias específicas, algunos taninos proporcionan mejores resultados, o al menos diferentes o especiales, por ejemplo, para producir una suela, que es cuero muy compacto y con cuerpo por es preferible extracto de castaño, mientras que el quebracho se adapta mejor para un cuero liviano.

Dentro de la familia de los taninos vegetales son posibles más clasificaciones. Sobre la base del proceso de producción se puede diferenciar los taninos extractados con agua o con éter.

Sobre la base de las características químicas de estos compuestos fenólicos, como hemos mencionado con anterioridad, podemos distinguir entre: taninos hidrolizables TH (o pirogálicos) y taninos condensados TC (o catequinas), (McLeod, 1974; Haslam, 1994; McMahon *et al.*, 2000). Los primeros son a base del pirogálico, y resultan ser hidrolizables y se caracterizan además por:

- 1) alta acidez: sus soluciones no tratadas tienen un valor de pH entre 2,8 y 3,6;
- 2) baja velocidad de penetración causada por su alta acidez y astringencia;
- 3) de color amarillo amarronado;
- 4) presentan sales tamponadas que confieren al cuero una buena protección contra el envejecimiento.

Los taninos hidrolizables como su nombre lo indica, son hidrolizables químicamente o por enzimas y están constituidos por un núcleo compuesto por un glúcido, cuyos grupos hidroxilo se encuentran esterificados con ácidos fenólicos (básicamente, ácidos gálico y hexahidroxidifénico).

Este primer grupo de taninos vegetales se puede dividir en dos clases basadas en la estructura química y propiedades curtientes: la clase de taninos gálicos (presente, por ejemplo, en las agallas y en las hojas de zumaque, en la madera de castaño y de roble y en las hojas del té) y la clase de taninos elágico (presente, por ejemplo, en el roble, la madera de valonea y divi-divi o vaina de tara (Vocabolario della lingua italiana, 1996).

El segundo tipo, los taninos condensados (o catequinas o proantocianidinas) se caracterizan por lazos R-C-C-R y no son hidrolizables.

Sus características principales son las siguientes:

- 1) baja acidez: las soluciones no tratadas de taninos catequínicos tienen un pH entre 4,3 y 5,5;
- 2) alta velocidad de penetración debido a su baja acidez y astringencia;
- 3) color rojizo;

4) ausencia de sales tamponadas.

En esta tipología de taninos encontramos al quebracho, mimosa, mangle, corteza de pino, etc.

Los taninos condensados (TC), son polímeros no ramificados de hidroxiflavonoles (flavan-3-ol, flavan-3,4-diol), unidos mediante enlaces entre carbonos y carecen del núcleo glúcido que caracteriza a los taninos hidrolizables (Wong, 1973; McLeod, 1974).

Los TC tienen, en general, un peso molecular mayor que los TH (1000-20000 vs. 500-3000 Da respectivamente) (McLeod, 1974; Mueller-Harvey y McAllan, 1992; Mueller-Harvey, 1999).

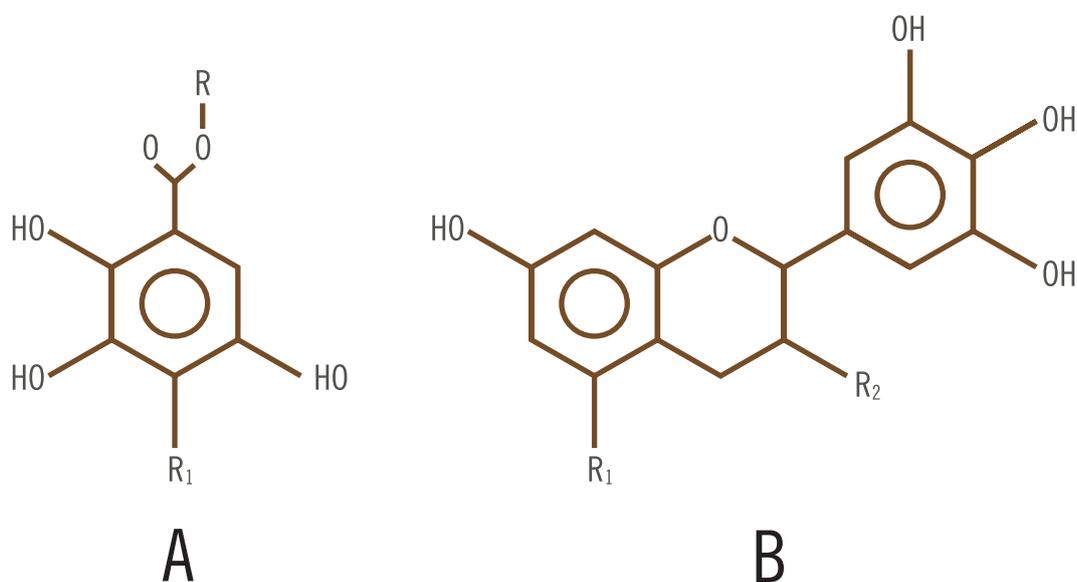


Figura 3.- Moléculas de (A) tanino hidrolizable (galoil) y (B) condensado (flavan-3-ol).



<b>ESPECIE BOTANICA</b>	<b>PARTE CURTIENTE</b>	<b>TANINO (%)</b>
ABETO BLANCO	CORTEZA	9,5
ABETO ROJO	CORTEZA	12
BETULLA	CORTEZA	12
CASTAÑO	MADERA	28
CASTAÑO	EXTRACTO LIQUIDO A 30 BÈ	40
CASTAÑO	EXTRACTO SECO, CHIP	67
CASTAÑO	EXTRACTO POLVO ATOMIZADO	76
CASTAÑO	EXTRACTO ATOMIZADO SUAVE	72
DIVI DIVI	VAINAS	50
ALERCE	CORTEZA	7
QUEJIGO	CORTEZA	7
MANGLAR	CORTEZA	35-50
MIMOSA	CORTEZA	36
MIMOSA	EXTRACTO POLVO ATOMIZADO	70
QUEBRACHO	MADERA	20
QUEBRACHO	EXTRACTO POLVO ATOMIZADO	82
QUEBRACHO	EXTRACTO POLVO ATOMIZADO SULFITADO	80
ROBLE	CORTEZA	9
ROBLE	EXTRACTO SECO	65
ZUMAQUE	HOJAS	29
ZUMAQUE	EXTRACTO POLVO ATOMIZADO	62
VALONEA	EXTRACTO POLVO	68

*Tabla 1- Especies botánicas poseedoras de taninos extractables.*



### 5.1.3.2

### *Los taninos sintéticos*

El término “tanino sintético” se refiere a los taninos producidos a partir de varios compuestos químicos con características similares a los naturales en cuanto a su capacidad de ligarse a las proteínas de las pieles (Grasso, Santoprete, Del Pezzo, 1992)

En otras palabras, se tratan de numerosos productos que pueden reaccionar como los taninos vegetales en combinación con las pieles, y que exhiben propiedades especiales útiles para curtir.

Su proceso de fabricación utiliza materias primas como los aceites destilados de alquitrán, y ciertas porciones de petróleo crudo.

### 5.1.4. *Propiedades químicas de los taninos*

Como ya hemos definido con anterioridad, los “taninos vegetales” son sustancias caracterizadas químicamente como polifenoles, con un alto peso molecular y una elevada afinidad por las proteínas. Los taninos de diferentes especies vegetales poseen diferentes propiedades físicas y químicas (Mangan, 1988), las cuales van a ser responsables de diferentes variaciones en su actividad biológica (Clausen *et al.*, 1990).

La alta afinidad de los taninos por las proteínas se fundamenta en que la molécula de tanino presenta un gran número de grupos fenólicos que proporcionan numerosos puntos para la formación de enlaces con los grupos carbonilo de los péptidos (McLeod, 1974; Hagerman y Butler, 1991; Leinmuller *et al.*, 1991; Hagerman *et al.*, 1992). La reactividad y afinidad de estas uniones viene determinada por el tipo, concentración, estructura y peso molecular del tanino, como por el grado de polimerización, conformación y peso molecular de la proteína (Hagerman y Butler, 1991). Por ejemplo, proteínas con una alta proporción del aminoácido prolina, y por tanto una estructura tridimensional abierta y flexible, muestran una mayor afinidad por los taninos que las proteínas globulares (Hagerman y Butler, 1991; Haslam, 1994).

Hay otros factores más allá, de las características propias de los taninos y de las proteínas, que condicionan la formación de los complejos tanino- proteína; como lo es pH (Leinmuller *et al.*, 1991; Zimmer y Cordesse, 1996a; McNabb *et al.*, 1998).

Los complejos entre taninos, sean hidrolizables o condensados, y las



proteínas u otros compuestos, son generalmente inestables, con enlaces individuales que continuamente pueden romperse y volverse a formar (Hervás *et al.*, 2001).

Se sugiere que la formación de los complejos tanino-proteína puede ocurrir por medio de cuatro tipos de enlaces (Kumar y Singh, 1984):

1) Interacciones hidrofóbicas: son reversibles e independientes del pH, y se producen entre el anillo aromático del compuesto fenólico y las regiones hidrofóbicas de la proteína.

2) Puentes de hidrógeno: son reversibles y dependientes del pH y se dan entre los radicales hidroxilo de los grupos fenólicos y el oxígeno del grupo carbonilo y amida del enlace peptídico de las proteínas.

3) Enlaces covalentes: son irreversibles y se producen por la oxidación de los polifenoles a quinonas y la consecuente condensación con el grupo nucleofílico de la proteína.

4) Enlaces iónicos: son reversibles y ocurren entre el ión fenolato y el catión de la proteína. Este tipo de enlaces es prácticamente exclusivo de los TH debido a que cuando el pH es neutro o algo ácido, existen grupos cargados eléctricamente como consecuencia de la hidrólisis de este tipo de taninos. En el caso de los TC la disociación de los grupos hidroxilo de los compuestos fenólicos se producen sólo a un pH altamente básico.

Se creyó, durante muchos años que en la formación de los complejos tanino-proteína intervenían principalmente los puentes de hidrógeno. Sin embargo, hoy se sabe que las interacciones hidrofobas son de gran importancia en la formación de los mismos. Diversos autores sugieren que en la formación de estos complejos, primero se produce una interacción hidrofoba entre las regiones alifáticas del fenol y de la proteína y luego se forman puentes de hidrógeno entre los grupos hidroxilo del fenol y los carbonilos de la proteína (Haslam, 1994; McMahan *et al.*, 2000). Los enlaces mediante fuerzas de van der Waals aportan a la estabilidad de estos complejos (Haslam, 1994).

La formación de complejos entre los taninos (hidrolizables y condensados) y las proteínas mediante enlaces no covalentes resultan estables en rangos de pH comprendidos entre aproximadamente 3,5 y 8 (figura 4) (Jones y Mangan, 1977). Estos complejos, estables a pH ruminal, se disocian a un pH inferior a 3,5, como en el abomaso pH 2,5-3 o superior como es el pH del duodeno. (~ >8) (Driedger y Hatfield, 1972; McLeod, 1974; Mangan, 1988; Leinmuller *et al.*, 1991; Hagerman *et al.*, 1992; Mueller-Harvey y McAllan, 1992; Zimmer y Cordesse, 1996a; Barry y McNabb, 1999; McMahan *et al.*, 2000).

La precipitación que producen los taninos en las proteínas aumenta cuando el pH del medio coincide con el punto isoeléctrico de la proteína a la que se une (Zucker, 1983; Oh y Hoff, 1986).

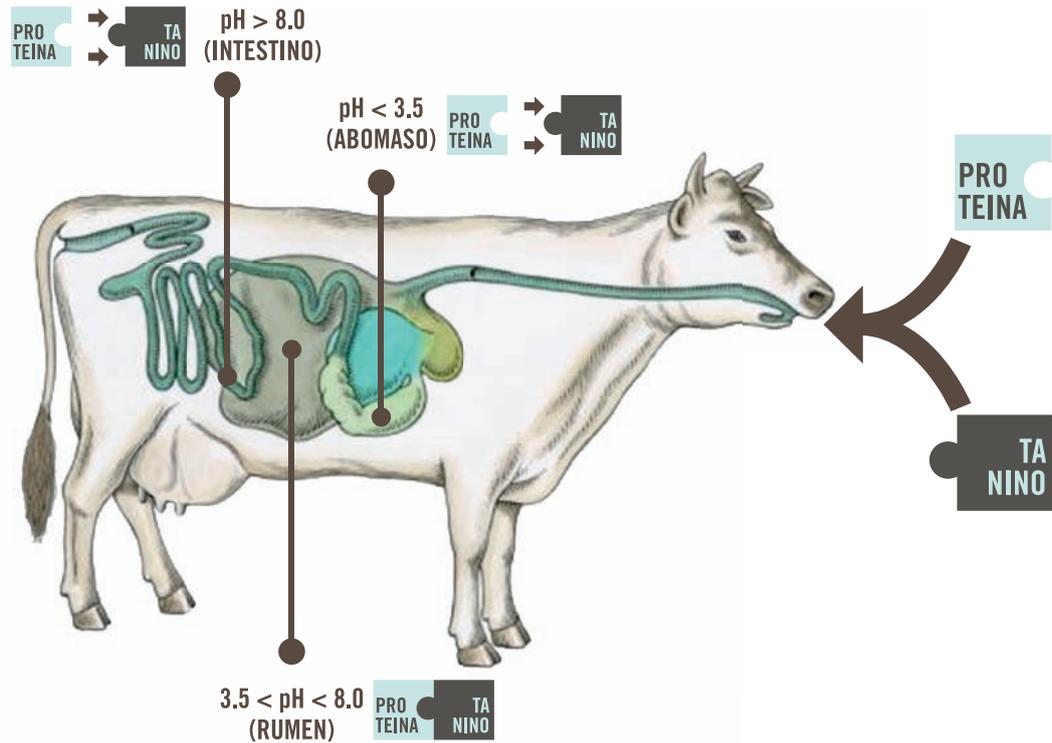


Figura 4.- Comportamiento dependiente del pH en rumiantes.

También las uniones tanino-proteína dependen de la presencia de determinados iones, como el sodio, potasio, magnesio y calcio (Martin *et al.*, 1985). Es favorable la presencia de estos iones para que la unión tanino-proteína se produzca en un medio con un pH comprendido entre 6 y 7, como lo es el del rumen en condiciones normales (Perez-Maldonado *et al.*, 1995).

El rango de pH en el que las uniones tanino-proteína son estables, depende de factores como origen y composición y otros múltiples factores (Hervás, 2001).

Por todos estos factores y por otros que tal vez no han podido ser identificados todavía, dependerán tanto los efectos negativos, reducción del consumo voluntario, y la disminución en la digestibilidad de la dieta; como los efectos positivos de los taninos, protección de la proteína de la dieta frente a la degradación ruminal, disminución de la producción de  $\text{NH}_3$ , entre otras y de las que nos encargaremos de demostrar a lo largo de este ensayo.

### 5.1.5. Composición del fito-complejo llamado ácido tánico

Los taninos son moléculas polifenólicas explotadas por la industria mediante avanzados procesos que permiten refinar y que conducen a la polimerización los sustratos de partida.

Los procesos químicos relevantes son la oxidación por formaldehído y sulfito (para aumentar la solubilidad de los taninos). También se pueden utilizar los catalizadores adecuados para acelerar la reacción de polimerización.

Los taninos más comunes están formados por unidades repetidas que se alternan con pequeñas fracciones de polisacáridos y azúcares simples.

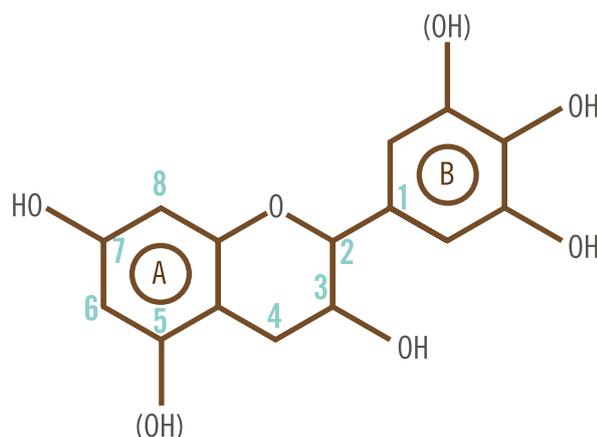


Figura 5.- Estructura básica de los taninos

Hay por lo menos dos conformaciones diferentes de anillos fenólicos que pueden sufrir reacciones químicas cualitativa y cuantitativamente diferentes cuando son expuestos al formaldehído.

A los efectos de la nomenclatura química, en la estructura básica de los taninos se distinguen las subestructuras A y B, como se puede ver en la figura 5.

Recientemente, se creó un nuevo método para la observación de estructuras orgánicas complejas, tanto lineales como ramificadas: la MALDI-TOF.

La MALDI (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization) colaboró con la expansión el uso de la espectrofotometría en el campo de los polímeros y oligómeros de plantas de interés industrial.

Esta técnica se utilizó con éxito en un estudio comparativo que tiene por objetivo destacar las diferencias moleculares de los taninos de quebracho respecto a los del brezo.

La MALDI-TOF requiere una pequeña cantidad de muestra y proporciona resultados óptimos con un costo relativamente bajo en comparación con métodos similares.

En este caso se realizó sobre extractos de quebracho (*Schinopsis balansae*), donde se precipitó previamente la porción poli - sacárida.

Las mediciones se realizaron a 337 nm en un intervalo de tiempo de 200-800 nanosegundos.

A la muestra disuelta en acetona se le añadió NaCl para garantizar un buen equilibrio electrolítico en la solución, luego la evaporación del solvente es

medida mediante el análisis espectrofotométrico.

El profistenidina /prorobinetinidin son los componentes de los taninos de mayor interés industrial, normalmente se extraen de la mimosa y del quebracho.

La muestra quebracho presenta diferencias interesantes con respecto al extracto de mimosa.

El extracto acuoso de quebracho se caracteriza por ciertos taninos particulares en los que se encuentran como grupos accesorios sustituyentes el catecol, resorcinol y pirogalol.

Las moléculas tienen masa de 274,3 Da, y 290,3 Da respectivamente con lo cual es fácil determinar la altura de su pico en el análisis espectrofotométrico.

Se puede observar varios picos que corresponden a diferentes grupos funcionales presentes en el extracto acuoso de quebracho.

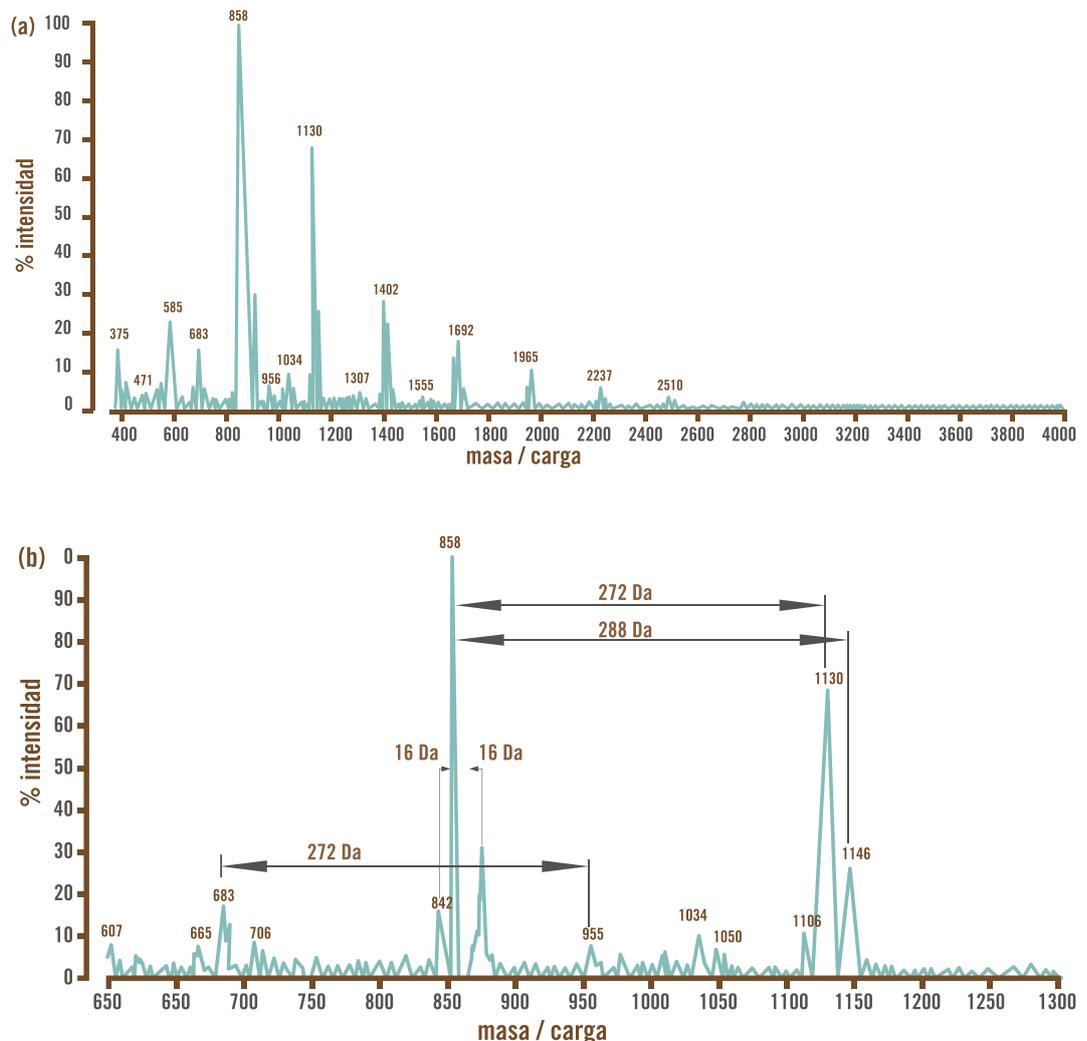


Figura 6.- Análisis espectrofotométrico del tanino de la mimosa y el quebracho.

Por ejemplo, el pico a 375 es debido a la eliminación del grupo catecólico a través de la sulfitación. La frecuente presencia de picos 683 son, en cambio, más difíciles de explicar.

Como se mencionó con anterioridad, el extracto de tanino utilizado en el termoendurecimiento de la madera es sulfitado o bisulfitado.

Al reemplazar el grupo c mediante la sulfitación con un grupo de  $\text{SO}_2$  se obtiene la correspondiente apertura del heterociclo.

Esta es precisamente la razón del pico de 683 Da, de hecho, la reacción descrita determina la estructura estérico-molecular de los taninos y un “reordenamiento” que se manifiesta en un análisis espectrofotométrico.

El origen del pico más bajo a 665 es similar: se trata de la eliminación del  $\text{SO}_2$  y el pirogálico.

El pico de 683 es causado por la presencia del grupo sulfúrico: de hecho en los extractos de mimosa no sulfitados, el pico de 683 no existe y por lo contrario aparece un pequeño pico de 687 de origen incierto.

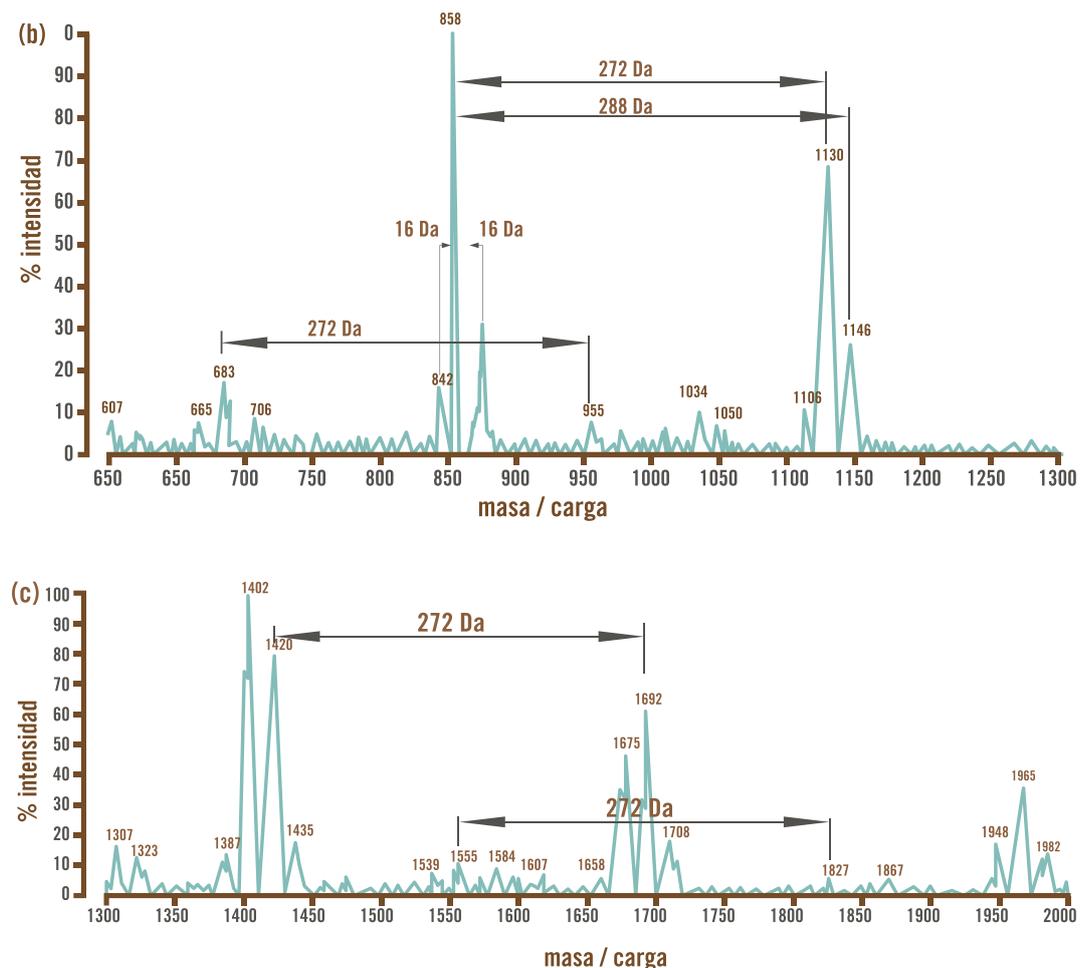


Figura 7.- Análisis espectrofotométrico del tanino del quebracho y del brezo



## 5.1.6. Principales usos de los taninos

### 5.1.6.1. Medicamentos

Las agallas que se crean en las ramas y las hojas de algunas plantas son seguramente las primeras formaciones vegetales, observadas por el hombre que contienen taninos.

Se denominan “nueces de agalla” a los brotes de los robles, producidos por las picaduras de insectos que depositan sus huevos; y estas toman diferentes formas y tamaños dependiendo de la planta donde se crean.

Entre los principales tipos de agallas podemos encontrar las de China (el más rico en ácido tánico; puede contener hasta un 80%), que nacen en las hojas de una planta tupida, el Zumaque (Sommacco). En su origen se utilizaban con fines medicinales como expectorante y astringente, y también para curar heridas e hinchazones (Howes, 1953). Fueron importados a Europa alrededor de 1870 y al parecer se han hecho sobre ellos los primeros estudios sobre el ácido tánico.

Las agallas de Japón y Turquía son del mismo tipo que las anteriores, pero con forma un poco diferente y con un menor porcentaje de ácido tánico. El árbol en donde crecen es el roble, *Infectoria quercus*.

En varias otras familias de robles también crecen agallas que contienen taninos, pero por el menor contenido de taninos y por la presencia de sustancias extrañas, estos no se utilizan para el comercio.

Ciertamente, la facilidad de cosecha de estas excrecencias (agallas) y su sabor astringente hizo que se estudiaran desde la antigüedad, en particular el uso de sus contenidos tánicos como medicinales. Así lo indican las referencias en la obra de Hipócrates, Dioscórides, Teofrasto y Plinio (Howes, 1953).

La aplicación principal parece haber sido el tratamiento de trastornos gastrointestinales, pero sin duda se ha intentado utilizar esta droga para diversos tratamientos.

Desde la antigüedad, un pueblo que se dedica especialmente al estudio de la farmacología es la India. Aquí el tanino utilizado fue el proveniente del mirabolano.

Los escritores sánscritos describen este fruto como aquel que tiene efecto sobre el estómago, se lo utilizaba y aún se lo utiliza para tratar la fiebre, tos, asma, diarrea, enfermedades del corazón, trastornos urinarios, hígado y bazo.



Secas y pulverizadas también sirve como pasta de dientes.

Incluso en Europa, a pesar del uso frecuente de agallas, el mirabolano fue utilizado como purgante y como tónico.

Muchos siglos después de Hipócrates, en Hortus Sanitatis, John von Cube, 1499 (considerado el más completo herbario de ese siglo) a menudo menciona a las agallas, incluyendo el primer dibujo de una agalla de roble (Nierenstein, 1932).

Con el advenimiento de la química en el siglo pasado comenzaron a incorporar taninos en muchas recetas. El Dekker en 1913 cita más de cincuenta las cuales algunas provienen de grandes casas farmacéuticas (Dekker, 1913).

Desde entonces el número de recetas disminuyó drásticamente porque la industria farmacéutica progresó en la preparación de nuevos medicamentos para las enfermedades que el ácido tánico trataba.

Sin embargo, en 1933, en los volúmenes Medicamenta siguen notificadas diferentes recetas en donde se incluye al ácido tánico directamente (Cannizzaro y Luzzatti, 1933) y otros dieciséis compuestos en los que el ácido tánico se encuentra combinado.

#### 5.1.6.2.

#### *Ácido gálico y pirogalol*

El “ácido tánico”, por lo general extraído de las agallas de zumaque y de Tara, tiene varias aplicaciones, no solo es importante en su aplicación tal cual, sino también como materia prima, ya que esta se utiliza para la producción de ácido gálico y pirogalol.

El ácido gálico se puede formar desde el ácido tánico mediante tres métodos diferentes:

1. fermentación espontánea o acelerada con *Aspergillus Níger* (Schwyzer, 1975)

2. hidrólisis ácida (patentes U.S.A. , 2,723.992. VII)

Estos dos métodos se sustituyeron por:

3. saponificación con soda cáustica y el consiguiente desplazamiento de sodio mediante ácido sulfúrico (Schwyzer, 1975)

El ácido gálico se utilizó para la preparación de tintas, colorantes, drogas, pero el consumo en los últimos años se ha reducido considerablemente.

Hoy en día, el ácido gálico se utiliza en pequeñas cantidades, por los



fabricantes de fuegos artificiales para la iluminación verde, conferidos por la combustión. Pero fundamentalmente hoy en día el ácido gálico se utiliza para producir el pirogalol (también llamado inapropiadamente ácido pirogálico). Este proceso consiste en calentar en autoclave a 220 ° C, el pirogalol en presencia de agua (Schwyzer, 1975)

El pirogalol tiene aplicaciones diversas, pero dos son especialmente importantes: la primera, en el análisis de gases, para la determinación del oxígeno, de echo la solución basificada lo absorbe rápidamente. La segunda, como revelador en la fotografía. Ha sido utilizado desde los primeros tiempos y se utiliza en algunos tono especiales que da a la imagen , a pesar de ser tóxico.

### 5.I.6.3. *Purificación de vinos y cervezas*

Los taninos en la enología desarrollaron el papel de clarificadores, tanto de vinos como de cervezas.

La claridad es una de las características más importantes que subyacen en la comercialización de productos enológicos. Hay procesos espontáneos de clarificación de los mostos, pero en algunos casos, se debe utilizar la clarificación artificial para hacer flocular sustancias en suspensión en un tiempo relativamente corto.

En este último caso, un pequeño porcentaje de ácido tánico puro es capaz de formar un precipitado en grandes copos con la proteína (que se encuentra en el vino y la cerveza), con las cuales entra en contacto. Los copos de floculación actúan como un precipitante, que puede arrastrar hasta el fondo todos los sólidos en suspensión dejando el líquido con la claridad necesaria (Dumensny y Noyer, 1925).

También parece que este proceso está a punto de ser abandonado o sustituido en el caso del vino, mientras que la cerveza se sigue utilizando.

Por otro lado, el ácido tánico se sigue utilizando y cada vez más en los vinos, especialmente en los tintos, para preservar la oxidación y el mantenimiento del color.

### 5.I.6.4. *Tinta para escribir*

El período comprendido entre finales de la edad media hasta los primeros decenios del siglo XX se puede definir como el período de los manuscritos y la tinta para escribir sobre base de taninos.



Filón de Bizancio en el siglo II a.C. primero se dio cuenta de la posible aplicación como tinta del derivado negro de la reacción del tanino con un alambre de hierro. Y al parecer le sugirió la fórmula para crear una escritura secreta, utilizando una solución de nuez de agalla que no dejaba escritura visible, pero que al pasarle encima una solución de hierro, aparecía el escrito (Hinrichsen, 1909).

Plinio también conocía la reacción de taninos y hierro, pero ni en esa época ni por muchos siglos más, se pensó en utilizar esta reacción para la preparación de tintas aptas para la escritura (Nierenstein, 1932).

En el siglo XI el monje Teophilius reveló una receta en “*Diversarium Artium Schedala*”. A tal propósito y al mismo tiempo, en Europa surgieron las tintas a base de nuez de agalla y hierro (Nierenstein, 1932).

Algunos escritos, como el *De Rebus Metallicis* de Alberto Magno (1193-1280) y numerosos artículos reproducidos en el *Incunable of tannin chemistry* M. Nierenstein contenían las recetas para las tintas derivadas del taninos.

Una receta del Renacimiento de Caneparius, médico veneciano, que informó en *De Atrementis* publicada en la edición Londinense en 1660 fueron:

- 1 parte de caucho
- 2 partes de vitriolo (sulfato de hierro)
- 3 partes de polvo agalla seca
- 30 partes de agua.

La receta en ese momento se reveló también en un proverbio que decía: uno, dos, tres, treinta para hacer la buena tinta (Mitchell, Griffin & Co, 1924)

Ciertamente, las agallas que se utilizaban tenían diferente cantidad de ácido tánico, debido al tipo de árbol del cual se recogían y del lugar de procedencia: con lo cual, las recetas a menudo cambian las proporciones en función del contenido del de ácido tánico taninos que tenía la agalla.

Por último, se encontró que la mejor relación entre agallas de buena calidad y el sulfato de hierro era de 3:1.

A raíz de varios estudios, se ha identificado como debería ser la composición química para obtener la mejor tinta, la receta es la siguiente:



COMPOSICIÓN	Gr
SOLFATO FERROSO	30
ACIDO TANICO	23,4
GOMA ARABICA	10
ACIDO GALICO	7,7
ACIDO CLORIDRICO ( u otro acido en dosis correspondiente)	2,5
BLUE ANILINA	2
FENOL (para impedir la formación de mufla [pelusa] )	1

Tabla 2.- Composición química de la tinta de escribir (Battaglia, 2008)

#### 5.I.6.5.

#### Curtido

En resumen, el curtido es el proceso mediante el cual la piel del animal se vuelve cuero.

Este proceso, vuelve a la fibra resistente al agua y a la putrefacción, mediante la transformación de las proteínas de la dermis (colágeno) en un material estable que puede ser utilizado para múltiples propósitos.

De hecho, combinando los taninos con la proteína de colágeno son capaces de modificar la bioquímica y cambiar la estructura de las proteínas de la piel, de ahí derivan varias ventajas: La piel se torna más suave, mucho menos sujeta a la putrefacción y más fuerte.

Desde tiempos prehistóricos había tres sistemas diferentes para el curtido de la piel:

- 1) el curtido de la grasa, que todavía se practica en la fabricación de gamuza;
- 2) curtido a la sal de sulfato de aluminio, todavía se utiliza para la piel con pelo;
- 3) curtido con taninos que tenía el mayor desarrollo y ha llegado a ser el más utilizado en la actualidad.

La primera información sobre el uso de este sistema se remonta a 5 mil años atrás, cuando se conoció a un curtidor Egipcio, que curtía con las vainas de



Acacia arábica (Bravo, 1949).

Por otra parte, es posible, dado el arraigo de las plantas taníferas, que en otras partes se hayan desarrollado alrededor de la época centros de tratamiento de pieles con los taninos.

Hace unos 4 mil años, ya se producía en los países más avanzados, un curtido de cuero satisfactorio (Bravo, 1949) a través del sistema de curtido en fosa. Esta técnica ha seguido utilizándose hasta la primera mitad del siglo XX.

A partir de ese momento se desarrollaron procedimientos que permitan disminuir el tiempo de curtido del cuero y se llegó a producir un cuero a un precio altamente competitivo (de hecho la operación de curtir en fosa podía llegar a durar de 1 a 3 años, por lo que requería de gran tiempo y capital.)

Esto sucedió durante la revolución industrial debido a varios factores concomitantes:

- 1) la producción de extractos curtientes con alta concentración de taninos;
- 2) la invención de un procedimiento destinado a acelerar la fijación del tanino en la piel tratada en grandes barriles giratorios con la función de mezclar. Esto se convirtió rápidamente en Europa el tipo de curtido adoptado universalmente.
- 3) El ingreso de químicos en las fábricas de extractos y en la curtiembres favoreció el estudio científico (no empírico) de los procedimientos y la utilización de mezclas de distintos taninos.

Las fábricas más importantes de taninos construyeron curtiembres experimentales, a las cuales se le sumaban laboratorios de investigación.

Se llegó así a reducir el tiempo de curtido de años a meses y, finalmente, de meses a semanas, mientras que la calidad de los cueros permanecían constantes (Battaglia, 2008).

## 5.II.

## TANINOS EN LA NATURALEZA

A los taninos se los considera como “compuestos secundarios” de las plantas. Como describe Frutos *et al.* (2001) «El término “compuesto secundario” engloba sustancias químicas muy diversas y se establece como contraposición a los productos del metabolismo primario de las plantas, que aparecen en el citoplasma de todas las células vegetales y cuyas diferencias entre plantas son únicamente de índole cuantitativa (aunque pueden existir excepciones, como los oxalatos, que aparecen en todas las células; en este caso, sólo se consideran como “compuestos



secundarios” cuando aparecen en concentraciones muy elevadas).

El término “secundario” proviene de la idea, (errónea) de que se trataba de productos de desecho del metabolismo vegetal, como un posible mecanismo excretorio (Swain, 1977). Sin embargo, es difícil definir estos compuestos como estrictamente “secundarios”, ya que muchos de ellos intervienen en el metabolismo primario y a lo largo de la evolución han sido indispensables en la defensa de las plantas frente a competidores, predadores y patógenos (Harborne, 1993).»

Los taninos se hallan distribuidos en todo el reino vegetal (McLeod, 1974; Haslam, 1988) y principalmente se los encuentra, en árboles, en arbustos y en leguminosas herbáceas (McLeod, 1974; Perevolotsky, 1994; McMahan *et al.*, 2000). Pero como se mencionó más arriba específicamente se encuentran en frutos inmaduros, flores, hojas corteza y corazón de troncos (Thache, 1921).

Generalmente se piensa que los taninos únicamente aparecen en especies vegetales de zonas tropicales, áridas o semi-áridas (Balogun *et al.*, 1998; Topps, 1992; Cano *et al.*, 1994; Giner-Chavez, 1996; McSweeney *et al.*, 1999; 2001a), pero éstos se encuentran también distribuidos en otras regiones, como ser en aquellos ambientes con influencia atlántica o mediterránea, en donde encontramos numerosas especies con altos contenidos de taninos (pudiendo ser condensados como hidrolizables, aunque los primeros son mucho más comunes) (Kumar y D’Mello, 1995; Garín *et al.*, 1996; Jackson *et al.*, 1996; Silanikove *et al.*, 1996a; Leng, 1997; González- Hernández *et al.*, 1999; Gilboa *et al.*, 2000; Silanikove, 2000; Frutos *et al.*, en prensa).

Se podría decir que las altas temperaturas, el estrés hídrico, la intensidad de la luz o la baja calidad de los suelos, aumentan el contenido de taninos de las especies vegetales (Swain, 1977; Rhoades, 1979; Van Soest, 1994; McMahan *et al.*, 2000).

No solo los factores ambientales intervienen en las variaciones de taninos en las especies vegetales, sino que también varían según el desarrollo fenológico de las mismas. Se pueden encontrar variados trabajos en los que se observan diferencias en el contenido de taninos dependientes de la edad de la planta, entre hojas nuevas y viejas, entre tejidos, y entre frutos maduros y verdes. (Rhoades, 1979; Álvarez del Pino *et al.*, 2001).

## 5.II.1

## El sorgo

### 5.II.1.1.

### Constitución y composición del grano de sorgo

El sorgo (*Sorghum bicolor*) representa la tercera cosecha de cereales en los Estados Unidos y la quinta en el mercado mundial (arroz, trigo, maíz, cebada y sorgo), utilizándose principalmente para consumo animal en este país como en Argentina, sin embargo en algunos países de África, China e India, se los suele incluir en la dieta de los humanos (López Coello, 2001)

A los granos del sorgo se los clasifica como granos desnudos ya que a la cosecha pierden sus envolturas. Los mismos están constituidos por: el pericarpio (capa protectora que lo recubre), embrión o germen y el endosperma (tejido de almacenamiento) (Figura 8). De estos tres componentes el que se encuentra en mayor proporción es el endosperma, el cual puede variar entre un 80 a 85%, el germen varía entre un 7 y 12% y el tegumento no supera el 8% (Hubbard, Hall y Earle, 1950).

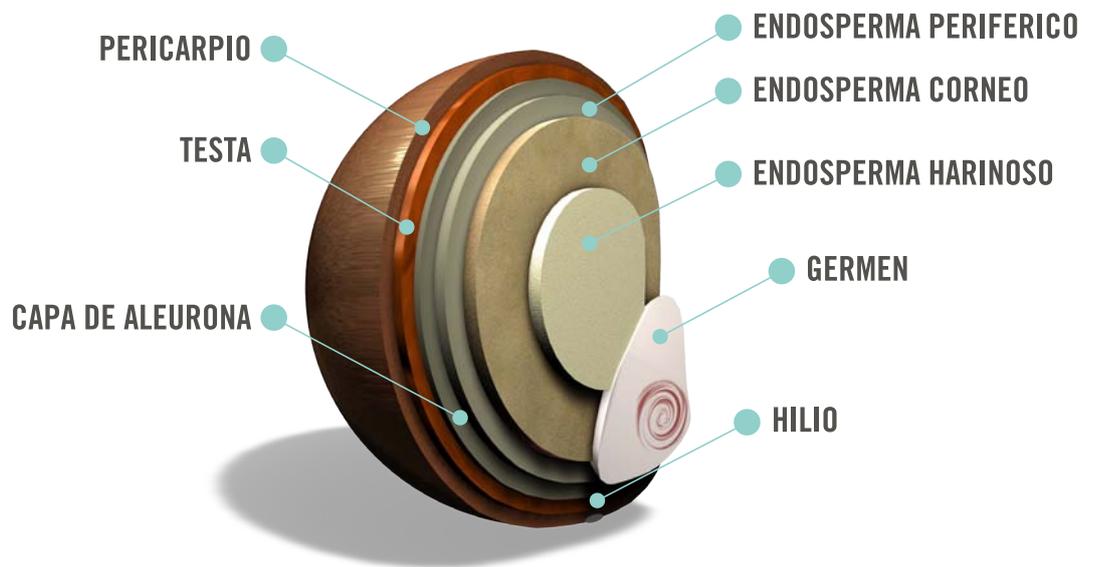


Figura 8.- Corte del grano de sorgo (Adaptado de Waniska, 2000)



El endosperma está constituido por dos áreas bien diferenciadas: una córnea o vítrea y otra harinosa, las que a su vez están rodeadas por una zona periférica o subaleurona (Kotarski, *et al.*, 1992). La proporción en la que se encuentran cada una de las áreas varía con el híbrido (Chandrashekar y Mazhar, 1999, citado por Montiel, 2003). El endosperma periférico es de gran dureza, denso y muy resistente a la entrada de agua, esta característica es la que permite observar una respuesta al procesamiento (Waniska, 2000) y por lo tanto el consecuente aumento en la digestión de los nutrientes (Rooney y Pflugfelder, 1986). Generalmente la zona periférica en el sorgo se encuentra en proporciones mayores que en otros cereales como ser el maíz (Waniska, 2000).

El endosperma, tanto vítreo como harinoso, está compuesto por gránulos de almidón, una matriz proteica y cuerpos proteicos, y la proporción de cada uno de ellos como así también su tamaño depende del lugar en donde se ubiquen (porción vítrea o harinosa) (Montiel, 2003). La naturaleza y la composición química de la matriz proteica tienen un gran efecto sobre las características físicas del endosperma y la exposición de los gránulos de almidón a la digestión enzimática (Rowe, Choct y Pethick, 1999).

El endosperma periférico está compuesto de varias capas de células que contienen mayor cantidad de cuerpos proteicos (prolaminas) y gránulos de almidón más pequeños que el endosperma córneo. Y debido a la alta concentración de cuerpos proteicos en el área periférica, el almidón es de difícil disponibilidad para la degradación enzimática (Sullins y Rooney, 1975). Las diferencias en la estructura del endosperma periférico del grano es lo que puede afectar la digestibilidad en mayor proporción que cualquier otro factor (Sullins y Rooney, 1974, Sullins y Rooney, 1975).

El almidón (cadena carbonada) es compuesto químico fundamental del grano de sorgo, y sus proporciones pueden variar entre 70 a 80 %, en materia seca (Rooney y Pflugfelder, 1986). Los gránulos de almidón en los endospermas periférico y córneo están rodeados por cuerpos proteicos y se encuentran embebidos en una densa y continua matriz proteica. Los granos poseen bajas cantidades de pectinas y azúcares simples, los cuales junto con el almidón, componen los carbohidratos no estructurales del grano (Nocek y Tamminga, 1991). El endosperma harinoso, ubicado en el centro del grano, presenta gránulos de almidón más grandes y en mayor proporción que los otros endospermas, y la matriz proteica que los recubre es discontinua y con menor cantidad de cuerpos proteicos (Sullins y Rooney, 1974; Rooney y Pflugfelder, 1986; Kotarski, *et al.*, 1992; citados por Montiel, 2003). Por otro lado, el endosperma harinoso, posee espacios de aire por el menor empaquetado de los gránulos de almidón (Waniska, 2000), y como consecuencia de esto son más susceptibles a acciones externas como el procesamiento de los granos o la digestión (Huntington, 1997).

Dos moléculas fundamentales son las que componen al gránulo de almidón, amilosa y amilopectina. El tiempo y la tasa de digestión, están vinculadas a la



proporción en que se encuentran dichos compuestos en el gránulo de almidón (Rowe *et al.*, 1999); las proporciones de ambas también varían entre los tipos de granos y que se encuentra determinada genéticamente (Van Soest, 1982).

El tamaño y la forma de los gránulos de almidón difieren entre los tipos de endosperma. En el endosperma córneo los gránulos de almidón poseen una forma angular, diferente al endosperma harinoso que presenta formas más redondeadas (Waniska, 2000). Por otro lado, los cuerpos proteicos a su vez se diferencian en el tamaño y la ubicación de acuerdo al endosperma en el que se hallen. En el endosperma córneo poseen un diámetro de unos 2mm aproximadamente y están dispuestos en forma comprimida dentro de la matriz proteica. Por otra parte, en el endosperma harinoso los gránulos poseen un diámetro menor y se hallan más dispersos (Seckinger y Wolf, 1973).

La amilosa es un polímero lineal compuesto de unidades de D-glucosa unidas por enlaces tipo  $\alpha$ -1,4 (Rooney y Pflugfelder, 1986; Kotarski, *et al.*, 1992; Evers, Blakeney y Brien, 1999). La amilosa puede presentar una pequeña proporción de ramificaciones, éstas no suelen ser mayores al 1-2% de la molécula (Curá y Krisman, 1990; Krisman y Curá, 1991). La proporción en que aparece la amilosa en el almidón puede variar entre un 0 a 30%, y depende casi exclusivamente de la especie y de la variación genética dentro de la especie (Rooney y Pflugfelder, 1986; Kotarski, *et al.*, 1992). Normalmente la amilosa aparece en proporciones de entre un 20 a 30% en los cereales, aunque existen los granos que poseen una cantidad de amilasa tan pequeña que puede llegar a ser inexistente (Rooney y Pflugfelder, 1986).

El 70 a 80% del almidón es un polímero ramificado llamado amilopectina. Su conformación corresponde a una cadena lineal de unidades  $\alpha$ -1,4-Dglucosa y ramificaciones  $\alpha$ -1,6 que son alrededor del 4 a 5% del total de la amilopectina y que se encuentran cada 20 o 30 moléculas de glucosa. Las ramificaciones tienen una longitud de 20 unidades de glucosa aproximadamente (French, 1973), y la cantidad en que aparecen varía entre genotipos de una misma especie (Curá y Krisman, 1990). Los gránulos de almidón poseen áreas organizadas o cristalinas, y áreas amorfas o no organizadas (Rooney y Pflugfelder 1986). El área cristalina se compone fundamentalmente por amilopectina, y el área amorfa o no organizada presenta mayor cantidad de unidades de amilosa, menos densa que la cristalina. Ambas moléculas (amilosa y amilopectina) se encuentran unidas por uniones puente hidrógeno (Montiel, 2003).

Las variaciones entre las proporciones de amilosa y amilopectina pueden afectar no solo a la digestibilidad del almidón, sino que también, afectar a las propiedades de procesamiento de los granos. La amilosa es difícil de disolver en agua y precipita en butanol, y por otro lado, la amilopectina es la fracción más soluble del almidón tanto en agua o en solución acuosa de butanol (Wall y Blessin, 1970; Curá y Krisma, 1990). Por esta razón, la variación en la proporción de amilosa y amilopectina que hay entre híbridos podría ser la causa de las



diferencias en la fracción soluble de los granos. La digestibilidad del almidón es inversamente proporcional al contenido de amilosa (Lichtenwalner, Ellis y Rooney, 1978; Rooney y Pflugfelder, 1986), podría decirse, que es por esto que los granos con mayor porcentaje de amilosa son menos digestibles.

Las proteínas en el endosperma aumenta su concentración desde el centro hacia fuera, y por esto es que la zona que rodea toda la periferia del endosperma posee una alta concentración de proteínas. Las proteínas, le siguen al almidón en importancia con respecto a las proporciones en que aparecen en el grano del sorgo (Sullins y Rooney, 1975). El endosperma harinoso contiene alrededor de la mitad de proteínas que el córneo (Seckinger ; Wolf ,1973)

Las globulinas son solubles en soluciones salinas y la albuminas son solubles en agua. Aparecen en menor cantidad, y en el grano de sorgo constituyen parte de sustancias biológicamente activas, como enzimas; fundamentalmente en la capa de aleurona (Wall y Blessin, 1970).

Las prolaminas o también llamadas kafirinas, solubles en alcohol, son las proteínas que más abundan en el grano de sorgo y se ubican fundamentalmente en el endosperma. <<Las kafirinas son deficientes en aminoácidos esenciales como lisina (Seckinger y Wolf, 1973), metionina y triptófano (Wall y Blessin, 1970; Evers *et al.*, 1999), lo que determina la baja calidad nutricional de la proteína del grano de sorgo. Existe una estrecha asociación entre la cantidad total de proteína del grano y el de kafirinas (Virupaksha y Sastry, 1968; Seckinger y Wolf, 1973). Por esto, a pesar de que el nivel de proteína aumenta, la calidad nutricional del grano disminuye. De igual forma, Taylor, Schuler y van der Walt (1984) encontraron que al aumentar la cantidad total de proteínas en el grano, la principal fracción que se incrementó fueron las kafirinas. Eso no coincide con lo presentado por Chandrashekar y Kirleis (1988), quienes no hallaron una relación consistente entre el contenido de proteínas totales y la presencia de kafirinas ( $r=-0.069$ ) >> (Montiel, 2003)

Por último y segundas en el nivel de importancia se encuentran las glutelinas, solubles en diluyentes alcalinos, estas cuando se conjugan con las prolaminas pasan a formar parte de las proteínas de reserva del grano. Las glutelinas forman fundamentalmente la matriz proteica, así como las kafirinas forman lo que denominamos cuerpos proteicos (Wall y Blesin, 1970; Seckinger y Wolf, 1973).

En el rumen, el almidón disponible, esta principalmente ligado a la solubilidad y fermentación de las proteínas. La cantidad y el tipo de proteínas de almacenamiento en el grano determinan su solubilidad (van Barneveld, 1999). Se puede decir que al ser las prolaminas, insolubles en el licor ruminal modificaran en forma negativa, la degradación bacteriana del almidón en el rumen. El endosperma periférico, abundante en cuerpos proteicos y por lo tanto de prolaminas, es el principal obstáculo que deben atravesar las bacterias ruminales y se manifiesta con mayor intensidad cuando el grano de sorgo no ha sido procesado (Montiel, 2003)

El color genético del pericarpio define la presencia del color café en el mismo (blanco, amarillo limón o rojo), esto se debe a que el gen manifestado, le otorga al sorgo los pigmentos y taninos en el pericarpio. Si el gen S es el dominante, mayor cantidad de fenoles y taninos poseerá el pericarpio y las capas de la testa. Es por esto que los colores rojo, amarillo, blanco, rosa y demás variaciones, pueden presentarse en el sorgo amarillo, pero el color que presente el pericarpio no afectará el valor nutritivo del mismo. Como el color del sorgo café puede parecer blanco o rojo, hay que detectarlo por la testa pigmentada. Lo cual nos lleva a clasificarlos en:

Sorgo tipo II: aquellos con testa pigmentada por el gen manifiesto (B1-B2-S). En el marco científico se sugirió que los sorgos tipo II presentan taninos durante la maduración, que le otorga resistencia a los pájaros, pero que los mismos desaparecen luego de alcanzar la madurez del grano y por lo tanto no se ve modificado su valor nutritivo cuando es consumido.

Sorgos tipo III: poseen una mayor resistencia a pájaros y también presentan un mayor contenido de taninos, aunque estos conceptos no son del todo aceptados. Las normas del sorgo en el Servicio Federal de Inspección, clasifican a:

Sorgos amarillos, blancos, cafés y clases mezcladas; los sorgos amarillos solo pueden contener sorgo con algún color en el pericarpio mientras que estos no superen el 10% de semillas con testa pigmentada. A su vez las clases mezcladas de sorgo pueden presentar entre un 10 y menos del 90% de sorgo café).

El grano de sorgo contiene compuestos fenólicos que pueden modificar su color, apariencia, y calidad nutricional. Dichos compuestos pueden ser clasificados en tres grupos: ácidos fenólicos, flavonoides y taninos (Hahn, Rooney y Earp, 1984). Los sorgos pueden ser altos en contenido de taninos que tienen menor valor nutricional que aquellos con valores bajos (sorgos amarillos).

Los ácidos fenólicos están presentes en todos los tipos de sorgos, no así los flavonoides. Los taninos se encuentran en la testa de la semilla, esta es el tejido más pigmentado del sorgo (Magalhães, Rodríguez y Durães, 2001); aunque también se han encontrado pero en menor medida en el endosperma del grano (Saba, Hale y Theurer, 1972).

Los ácidos fenólicos no tienen efecto adverso sobre la calidad nutricional del grano, solo pueden causar un color indeseable en los alimentos cuando son procesados bajo condiciones de alcalinización, en los cereales los ácidos fenólicos son ácidos libres, ésteres solubles e insolubles que están concentrados en las capas exteriores de la semilla (pericarpio, testa y aleurona) (López Coello, 2000). Los flavonoides, es el grupo con mayor presencia en las plantas, los



principales grupos flavonoides son: flavonones, flavones y flavanes; este último es el que se encuentra con mayor presencia en el sorgo; al igual que los ácidos fenólicos, cuando se hallan presentes, parecen no tener efectos negativos sobre la digestibilidad ni la palatabilidad de los granos (Magalhães, *et al.*, 2001).

Como ya hemos mencionado con anterioridad los taninos tienen un alto peso molecular (500- 20000 Da), y poseen la capacidad de formar complejos reversibles o irreversibles con las proteínas, fundamentalmente, pero también con otras sustancias, tales como polisacáridos (celulosa, hemicelulosa, pectina, etc.), alcaloides, ácidos nucleicos, minerales, etc. (McLeod, 1974; Jansman, 1993; Haslam, 1994; Schofield *et al.*, 2001). Solo los sorgos cafés, tienen una alta cantidad de taninos del tipo condensados, y no así del tipo de los hidrolizables, estos sorgos cafés, también son denominados, sorgos antipájaros (Magalhães, *et al.*, 2001).

Las ventajas agronómicas que poseen los taninos color café, son la protección al ataque por pájaros, mohos e insectos y la germinación en cosecha. Sin contar que también le permiten conservar la calidad al grano por períodos más largos de almacenamiento, y una mayor resistencia al deterioro ambiental. Esto se debe a que cuando el grano madura, se hace astringente, por la precipitación y unión de las proteínas con los taninos condensados. Los taninos poseen un efecto antinutricional, que le confieren al grano de sorgo el aspecto negativo para ser utilizado en la alimentación. El efecto antinutricional en los sorgos es muy estable, ya que la unión de las kafirinas (proteínas mayoritarias del sorgo) con los taninos del sorgo es intrínseca al grano y difícil de romper por la gran estabilidad de las uniones puente hidrógeno e hidrófobas entre moléculas (Hagerman y Butler, 1981; Hahn *et al.*, 1984, Kumar y Singh, 1984; Magalhães, *et al.*, 2001), lo que provoca una disminución de la digestibilidad del grano por los animales. Van Barneveld (1999a) por este motivo clasificó a los taninos como los componentes del alimento que también reducen la eficiencia de utilización del almidón como de otros nutrientes.

<<La cantidad de taninos puede disminuir, comprobándose mediante análisis, pero las respuestas obtenidas mediante pruebas in vivo no siempre demuestran que los efectos antinutricionales hayan sido completamente eliminados, a pesar de que el nivel de taninos haya sido reducido. Esto se debe a que los taninos se adhieren a las proteínas del grano durante el proceso, lo que ocasiona la insolubilidad de los mismos, por lo que no pueden extraerse, y por lo tanto medirse; por ello los procesos de detoxificación necesitan acompañarse de pruebas biológicas, para poder evaluar el valor nutritivo del grano con alto contenido de taninos. Aún cuando los procesos de detoxificación (formaldehidos, amoníaco, álcalis o combinaciones) tienen éxito (Butler, 1982; Hulse, 1980; Mitaru *et al.*, 1983), al añadir los costos de este proceso, se encarece el grano.>> (López Coello, 2000)

Los sorgos cuando presentan taninos, ven afectada en un 3 a un 15% su



digestibilidad y por lo tanto la eficiencia de utilización de los nutrientes (Waniska, 2000). Pero los taninos no solo impactan negativamente sobre la digestibilidad, sino que también se unen a las proteínas endógenas. Los polifenoles pueden reaccionar con la pared celular de las bacterias y las enzimas secretadas por estas; es por ello que se los considera inhibidores del crecimiento bacteriano (Butler, citado por McSweeney *et al.*, 2001).

Armstrong *et al.* (citados por Kumar y Singh, 1984) verificaron un aumento de la digestibilidad de la proteína del grano desde 4.4% a un 18% al separar los taninos por medio de un tratamiento con un álcali.

Hibberd *et al.* (1982a), observaron que los taninos en el grano pueden alterar la degradabilidad del almidón, vieron además por medio de la producción de gas *in vitro*, una disminución en la disponibilidad del almidón en los genotipos con alta concentración de taninos. Saba *et al.* (1972), obtuvieron resultados similares, una disminución del 50% de la producción de gas y desaparición *in vitro* de la materia seca en un híbrido resistente a pájaros.

La degradación *in situ* de la materia seca de granos molidos se ve afectada por la presencia de taninos en más de un 70%, en comparación con genotipos sin taninos. Por esto es que se puede afirmar que ciertos tipos de taninos tiene una performance animal similar o algo menor a la de los maíces, pero otros como los sorgos cafés no poseen esa capacidad (Hibberd *et al.* 1982a). Autores como Maxson *et al.* (1973) observaron que al alimentar animales con sorgo con taninos, estos consumieron 2,38 kg de grano, más que otros animales que consumieron sorgo sin tanino, para obtener la misma ganancia de peso.

Sin embargo, hay autores como Streeter *et al.* (1990) que obtuvieron en sorgos con y sin taninos similar degradabilidad tanto del almidón como de la materia orgánica en un ensayo realizados con vaquillonas, donde sorgos con taninos obtuvieron mayor aprovechamiento del almidón a nivel ruminal. Hibberd *et al.* (1985) no obtuvieron menor digestibilidad ruminal del almidón y de la materia orgánica de los sorgos con taninos en comparación con sorgos sin taninos.

Cuando hablamos de taninos del sorgo, hablamos de taninos endógenos que se producen en la planta y que por esto están unidos de manera muy estable a las proteínas. Por esta razón no pueden compararse con los extractos vegetales a base de taninos utilizados en la alimentación animal. Estos forman complejos menos estables, pH dependientes y no reaccionan con la kafirinas por estar estas unidas con el tanino endógeno.



## 5.II.2. *La agricultura y los taninos*

Existen publicaciones acerca de los efectos beneficiosos de los taninos condensados y del uso de estos en la agricultura. Algunos autores se han interesado en obtener efectos favorables de los contenidos moderados de taninos condensados (disminución de la degradación de la proteína en el rumen y aumento del aporte de aminoácidos al intestino delgado, prevención del timpanismo y control de los parásitos internos) que se hayan presentes en los forrajes utilizados en la alimentación de rumiantes (*Lotus corniculatus*, *L. pedunculatus*, *Onobrychis viciifolia*, etc.) (Waghorn *et al.*, 1990; Aerst *et al.*, 1999; McMahon, *et al.*, 2000), o los incorporados a la dieta como los taninos comerciales que se adicionan en bajos porcentajes. Debido a la poca información con que hoy se cuenta sobre la incorporación de extractos vegetales a la dieta y medición de sus efectos sobre la producción, es que se realizó este trabajo de investigación.

Hess (2000) propuso una alternativa al agregado de taninos a la dieta que sirve para animales en pastoreo y es el desarrollo de variedades comerciales de alfalfa con cierto contenido de taninos en las hojas, por lo que al ser pastoreadas por los rumiantes estas reduzcan la incidencia del timpanismo.

## 5.III. *TANINOS EN LA NUTRICIÓN ANIMAL*

Por mucho tiempo, los taninos fueron vistos como sustancias antinutricionales para los rumiantes, debido al desconocimiento de los mismos. Sin embargo los conocidos efectos de los taninos como complejante de proteínas y otras moléculas, hicieron que se prestara especial interés por estos compuestos fenolicos y se comenzara a estudiarlos y utilizarlos en la nutrición de animales. Podemos decir hoy que su efecto sobre la nutrición de los rumiantes puede ser beneficioso o perjudicial, dependiendo del tipo de tanino que se estudie, su concentración, estructura y peso molecular, del resto de componentes de la dieta y de la especie y fisiología del animal que los consuma (Hagerman y Butler, 1991).

Podríamos decir que entre los efectos negativos vinculados al consumo de taninos que se han estudiado, se centraron principalmente en la disminución de la ingestión voluntaria (McLeod, 1974; McSweeney *et al.*, 1988; Leinmuller *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1992; Waghorn *et al.*, 1994a; Reed, 1995; Silanikove, 2000) y en la digestibilidad del alimento (Hagerman y Butler, 1991; Wang *et al.*, 1994; Narjisse *et al.*, 1995; Perez-Maldonado y Norton, 1996; Silanikove, 2000).



Entre los efectos favorables, se han destacado, el mayor aprovechamiento de la proteína en el tracto digestivo (reducción de la degradabilidad de la proteína en el rumen y por lo tanto, una mayor cantidad de aminoácidos disponibles en el intestino) y mejora de los índices productivos de los animales (Driedger y Hartfield, 1972; Barry y Manley, 1984; Mangan, 1988; Wang *et al.*, 1996a; Waghorn y Shelton, 1997; Butter *et al.*, 1998; Aerst *et al.*, 1999; Barry y McNabb, 1999; Foley *et al.*, 1999).

### 5.III.1 *Los taninos y su efecto en la ingestión voluntaria*

Hemos mencionado con anterioridad que el efecto de los taninos difiere, en función del tipo, concentración, estructura y peso molecular, del resto de los componentes de la dieta; de la especie y fisiología del animal que los consuma (Hagerman y Butler, 1991). Por lo tanto los resultados que se encuentran en la literatura disponible sobre su efecto en el consumo voluntario son muy diversos e inclusive pueden parecer contradictorios.

Si hacemos un recuento, son muchos más los trabajos en los que se observan los efectos de concentraciones moderadas de taninos (< 50 g/kg MS; tanto condensados como hidrolizables) y muchos menos los que se ensayan con concentraciones altas (> 50 g/kg MS).

Algunos autores observaron que la ingestión de un elevado contenido de taninos condensados (> 50 g por kg de materia seca), reduce significativamente la ingestión de energía metabolizable, debido a una reducción del consumo voluntario y de la degradación de la materia orgánica (Barry y Duncan, 1984; Leinmuller *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 1992; Makkar, 1993; Silanikove *et al.*, 1994).

En la actualidad, y debido a una progresiva investigación sobre los efectos de estos compuestos fenólicos, es que se posee una mayor información de cómo actúan sobre la ingestión voluntaria y de los efectos influenciados por el tipo, dosis, especie que los consumen, etc., tienen sobre esta.

Barry *et al.* (1986b) y Waghorn y Shelton (1995) señalaron al consumir 55g de taninos condensados por kg de materia seca se veía reducido el consumo de alimento en ovejas pastoreando *Lotus pedunculatus*. Waghorn *et al.* (1994a) observaron, que en ovejas consumiendo *L. pedunculatus*, se produjo una reducción del 12% de la ingestión voluntaria, si se los comparaba con animales que recibían una suplementación de polietilenglicol (PEG) (posee una gran afinidad por los taninos y se utiliza para bloquear los efectos negativos de los mismos). Por debajo de esos contenidos ( $\approx$  50 g/kg MS) la ingestión voluntaria no se veía afectada (Barry y Manley, 1984; Barry y Manley, 1986).

En un ensayo realizado en ovinos, consumiendo *Lotus pedunculatus* se



observó la reducción del consumo de alimento, aunque no se vio afectado el peso vivo final de los animales (Lee *et al.*, 1992). Así mismo Barry y McNabb (1999), en otro trabajo en donde también ovejas consumían *L. pedunculatus*, con alta concentración de taninos condensados (> 50 g/kg MS), observaron que los efectos negativos sobre el consumo voluntario, no se vieron manifestados cuando los mismos se encontraban consumiendo *L. corniculatus*, que posee un contenido de taninos entre el 34 y 44 g TC/kg MS.

En ensayos realizados con taninos hidrolizables, se han observado también diferencias en el comportamiento que se relacionan con el contenido de los mismos en el alimento. McSweeney *et al.* (1988) reportó que no hayo variaciones significativas en la ingestión voluntaria en ovejas consumiendo *Terminalia oblongata*, especie con bajo contenido de taninos hidrolizables (34 g/kg MS), pero que por el contrario, las ovejas al consumir *Clidemia hirta*, especie con alto contenido de TH (> 50 g/kg MS), vieron disminuido la ingesta del alimento. Raso *et al.* (2001) no observaron una reducción significativa en el consumo voluntario de corderos consumiendo una ración que contenía torta de soja tratada con taninos hidrolizables (20 g TH/kg MS).

### 5.III.2. *Los taninos y su efecto en la digestibilidad de la dieta*

Varios autores han publicado trabajos sobre de la capacidad que tienen los taninos para disminuir la digestibilidad de las proteínas principalmente, pero también de otras sustancias, como polisacáridos, alcaloides, ácidos nucleicos etc. (Barry *et al.*, 1986b; Waghorn *et al.*, 1990; 1994b; Waghorn y Shelton, 1995; Komolong *et al.*, 2001; McSweeney *et al.*, 2001b).

No podemos dejar de mencionar que, los taninos no modifican la digestibilidad de todos los componentes de la dieta por igual (Kumar y Singh, 1984; Kumar y D'Mello, 1995). Horigone *et al.* (1988) hicieron la observación de que los taninos reducían la digestibilidad de la hemicelulosa, pero no así la de la celulosa. Y podemos decir que lo mismo sucede con el efecto sobre la digestibilidad de diversos aminoácidos, esenciales o no (Barry y Manley, 1984; Waghorn *et al.*, 1987a; 1994b; Lee *et al.*, 1992; Schwab, 1995; Wang *et al.*, 1996c; McMahan *et al.*, 2000).

Los cambios en la digestibilidad que se originan por el agregado de taninos a la dieta, se relacionan fundamentalmente con cambios en la fermentación ruminal (Waghorn *et al.*, 1994b; Waghorn y Shelton, 1995; Waghorn, 1996; Kobeisy *et al.*, 1999), y posteriormente con cambios en la digestibilidad intestinal.

Algunos autores comentan que “las pruebas más evidentes de que los taninos reducen la digestibilidad de los alimentos, es el incremento en la



excreción fecal de nitrógeno a medida que aumenta el contenido de taninos en la dieta” (Mitjavila *et al.*, 1977; Barry y Duncan, 1984; Mitaru *et al.*, 1984; Bernays *et al.*, 1989; Dawson *et al.*, 1999; Komolong *et al.*, 2001). Esto puede explicarse ya que, los taninos al ser incorporados mediante la dieta, aumentan la secreción de proteínas endógenas (glicoproteínas salivares, moco, enzimas digestivas y células del intestino, (Mehansho *et al.*, 1987; Waghorn, 1996). Por lo tanto, el aumento del nitrógeno fecal podría corresponder a un aumento del nitrógeno metabólico fecal, de origen microbiano, más que a una menor cantidad de proteína de la dieta absorbida a nivel intestinal (Mitjavila *et al.*, 1977; Mitaru *et al.*, 1984; Silanikove *et al.*, 1994; Dawson *et al.*, 1999; Hervás; 2001).

### 5.III.3. *Los taninos y su efecto en la fermentación ruminal*

La menor degradación proteica en el rumen, tal vez sea la acción de mayor significancia de los taninos, en animales rumiantes (Driedger y Hartfield, 1972; Mangan, 1988; Leinmüller *et al.*, 1991; Hagerman *et al.*, 1992; Mueller-Harvey y McAllan, 1992; Gonzalez *et al.*, 1998; Butter *et al.*, 1999; Mueller-Harvey, 1999) ya que, su afinidad por las proteínas es muy alta y las condiciones de pH del medio ruminal permiten formar complejos tanino-proteína y permanecer estables (McLeod, 1974).

Normalmente, la menor degradación ruminal de la proteína proveniente de la ración se corresponde con una menor producción de nitrógeno amoniacal (Waghorn *et al.*, 1994b; Waghorn, 1996; Kobeisy *et al.*, 1999; Min *et al.*, 2001) y, de acuerdo con varios autores (Barry y Manley, 1984; Beever y Siddons, 1986; Barry *et al.*, 1986b; Min ., 2001), con un mayor porcentaje de nitrógeno no amoniacal (NNA) al duodeno. Barry *et al.*, 1986b observó, que el flujo de NNA en el ganado ovino alimentado con *Lotus pedunculatus* ( $\approx 100$  g TC/kg MS) aumentó de acuerdo al aumento de la ingestión de taninos condensados. Por lo tanto podemos decir en primera instancia es que los TC podrían utilizarse para mejorar la utilización del nitrógeno (McMahon *et al.*, 2000; Min *et al.*, 2001).

Los taninos (tanto hidrolizables como condensados) tienen el efecto de reducir la fracción inmediatamente disponible de la proteína y, principalmente, una disminución del ritmo de degradación (Waghorn *et al.*, 1994b; Nsahlai *et al.*, 1995; Reed, 1995; Aharoni *et al.*, 1998; Foley *et al.*, 1999; Kobeisy *et al.*, 1999; Hervás *et al.*, 2000b).

Aunque su acción en el rumen es fundamentalmente sobre las proteínas, también se han observado efectos de los taninos sobre los carbohidratos, específicamente sobre la hemicelulosa, la celulosa, el almidón y las pectinas (Barry y Manley, 1984; Chiquette *et al.*, 1988; Leinmuller *et al.*, 1991; Jansman,



1993; McMahon *et al.*, 2000; Schofield *et al.*, 2001).

Es conocido y aceptado que los taninos reducen la degradación ruminal de diferentes componentes de la dieta. A pesar de esto, los mecanismos de acción a través los cuales se llevan a cabo, no están del todo claros. Dentro de los más reconocidos encontramos los siguientes: privación de sustrato (Scalbert, 1991; McAllister *et al.*, 1994b; McMahon *et al.*, 2000), inhibición enzimática (Barry y Manley, 1984; Makkar *et al.*, 1988; Bae *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1994) y acción directa sobre los microorganismos ruminales (Leinmuller *et al.*, 1991; Scalbert, 1991).

#### ● Privación de sustrato

Los taninos pueden bloquear o atenuar la habilidad de las bacterias ruminales para adherirse a las proteínas, acción fundamental para que luego estas puedan ser degradadas (Chiquette *et al.*, 1988; McAllister *et al.*, 1994; Aharoni *et al.*, 1999). Los taninos puede originar la precipitación de las enzimas extracelulares de los microorganismos ruminales, imposibilitando la fijación a los alimentos (Barry y Manley, 1984).

Varios autores hicieron mención a que la presencia de estos compuestos en el rumen, disminuyen la actividad fermentativa y la multiplicación celular, ya que los taninos forman complejos con las proteínas y los carbohidratos, disuadiendo el ataque de los microorganismos ruminales (Driedger y Hatfield, 1972; Mangan, 1988; Mueller-Harvey y McAllan, 1992).

Scalbert (1991), determinó que los taninos oxidados poseían un efecto tóxico sobre las bacterias metanogénicas.

#### ● Inhibición enzimática

A los taninos se los considera inhibidores del crecimiento de los microorganismos, aunque en la actualidad no se han determinado con exactitud los mecanismos implicados (McSweeney *et al.*, 2001b).

Se ha visto que la reacción de los taninos frente algunas de las enzimas microbianas (bacterianas y fúngicas) es de privación o reducción de su actividad, bloqueando el transporte de nutrientes, dilatando el crecimiento microbiano (Kumar y Singh, 1984; Makkar *et al.*, 1988; McAllister *et al.*, 1994b; Molan *et al.*, 1998; McSweeney *et al.*, 2001b) y así alterando la proporción de la población microbiana en el rumen (Mueller-Harvey y McAllan, 1992; McSweeney *et al.*, 2001b), de forma tal que afecta a los componentes finales de la fermentación. Nelson *et al.* (1997) determinaron que las diversas respuesta a la presencia de taninos obedecen a cada microorganismo ruminal, lo que pone de manifiesto la susceptibilidad entre cepas bacterianas. Vale decir que el complejo formado entre los taninos y las enzimas, ya sean bacterianas o endógenas, no involucra necesariamente una disminución de su actividad (Makkar *et al.*, 1988).



### ● Acción sobre los microorganismos ruminales

Algunos autores observaron la posibilidad de que los taninos infieran sobre los microorganismos ruminales, provocando directamente modificaciones en la permeabilidad de las membranas, o produciendo deficiencias nutritivas. Esto acarrearía como consecuencia la reducción del ritmo de crecimiento y de reproducción de los microorganismos y, por lo tanto, se vería afectada la fermentación en el rumen (Leinmüller *et al.*, 1991; Scalbert, 1991). Podemos decir que hay una selección de los taninos a favor de la flora benéfica de rumiantes. Miyakawa *et al.*, 2010, concluyeron mediante un trabajo realizado *in vitro* con diferentes cepas de *clostridium* sp. que las mezclas de taninos de quebracho y castaño, no solo tuvieron un efecto antibacteriano, sino que también actuaron contra diferentes toxinas producidas por las bacterias.

Los mecanismos de acción que hasta ahora hemos descrito, son comunes para ambos tipos de taninos, pero sería interesante destacar las diferencias entre TH y TC.

Los tanino hidrolizables, como su nombre lo indica, son (a diferencia de los condensados) rápidamente hidrolizados y degradados en el rumen a glucosa y compuestos fenólicos de menor tamaño (McSweeney *et al.*, 2001b; Singh *et al.*, 2001). Por esto, se ha sugerido que los TH pueden no tener una acción en la reducción de la degradación de los alimentos en el rumen (Hagerman *et al.*, 1992; Foley *et al.*, 1999). Por otro lado, ciertos autores sí han observado un efecto reductor en la tasa de degradación (Driedger y Hartfield, 1972; Pace *et al.*, 1993; González *et al.*, 1998; Hervás *et al.*, 2000; Hervás *et al.*, 2001).

Sin embargo, en el caso de los taninos condensados, no se ha podido determinar en condiciones *in vitro*, la degradación ruminal de estos compuestos por medio la ruptura de las uniones carbono-carbono. Así pues, se cree, puede no ser posible que la ruptura ocurra en el rumen, debido a que este se encuentra en condiciones de anaerobiosis (McSweeney *et al.*, 2001b), los taninos condensados, por esto mismo, son eliminados una vez que atraviesan el tracto gastrointestinal.

Como se ha dicho en otras oportunidades, los taninos condensados tienen un claro efecto en la degradación ruminal y dicho efecto, en la actualidad, se encuentra aceptado por la comunidad científica (Driedger y Halfield, 1972; McLeod, 1974; Mueller-Harvey y McAllan, 1992; Pace *et al.*, 1993; Loyola *et al.*, 1999; McSweeney *et al.*, 2001b; Hervás *et al.*, 2001).



#### 5.III.4. *Los taninos y su efecto en la digestibilidad intestinal*

Se ha sugerido, que la conocida reducción de la degradación ruminal de la proteína se puede ver compensada con un aumento de la digestibilidad intestinal de esta proteína (McSweeney *et al.*, 1988). Debido a que a  $\text{pH} > 8,0$  ( $\text{pH}$  intestinal) el complejo tanino - proteína se ve disociado (Frutos *et al.*, 2001).

Aquí deberíamos hacer una diferencia en el comportamiento de los taninos condensados vs. los hidrolizables, sobre la digestibilidad intestinal. Ya que como se dijo con anterioridad, algunos autores (Hagerman *et al.*, 1992; Foley *et al.*, 1999; Singh *et al.*, 2001) señalan que los TH no llegan al intestino, sino que son degradados en el rumen. Por otro lado los TC al no ser degradados en rumen como los TH, llegan, los que no se des-acomplejaron en abomaso, hasta el intestino unidos a las proteínas donde se des-acomplejan.

Recordemos que en todos los casos las consecuencias biológicas de los taninos dependerán de su composición química y estructura, del resto de los componentes de la dieta y de la especie animal que los consuma (Hagerman y Butler, 1991). Veigas, *et al.*, 2010 ensayaron con novillos en engorde estabulado, el uso de una mezcla de TC y TH como aditivo en el alimento y concluyeron que la degradación ruminal se vio disminuida, pero a su vez la digestibilidad intestinal no presentó diferencias con respecto al control, por lo que hubo un mayor aprovechamiento del N proteico dietario.

#### 5.IV. *EFEECTO SOBRE EL RENDIMIENTO PRODUCTIVO*

Los taninos que se encuentran presentes en forrajes o aquellos que son suministrados junto con la dieta como componente aditivo de la misma (McLeod, 1974; Barry y Blaney, 1987; Hanley *et al.*, 1992; Kumar y D'Mello, 1995; Reed, 1995; Giner-Chavez, 1996; Leng, 1997; Aerst *et al.*, 1999) pueden brindar resultados positivos cuando se los utiliza en proporciones y cantidades adecuadas en rumiantes (Barry y McNabb, 1999).

Se ha observado que la incorporación en concentraciones por debajo de 50 g de taninos condensados, por kg de materia seca (10-40 g/kg MS) optimiza la digestibilidad de los alimentos en rumiantes, a consecuencia de una disminución de la degradación proteica en el rumen, que acarrea un aumento del flujo de aminoácidos disponibles de ser absorbidos en el intestino delgado (Waghorn *et al.*, 1987b; Barry y Blaney, 1987; Schwab, 1995; Barry y McNabb, 1999).

Algunos autores como, Kobeisy *et al.* (2000) señalaron que alimentando



a vacas lecheras con 27 g de taninos hidrolizables por kg/MS, se observaba un aumento en la producción de leche de un 9% (25 vs. 23 kg/día). Estos cambios pueden ser atribuidos a una mayor absorción de aminoácidos esenciales en el intestino (Barry y Manley, 1984; Waghorn, 1996), principalmente de los aminoácidos azufrados (Wang *et al.*, 1996c).

Otros autores, en este caso como, Wang *et al.* (1996b) señalaron el incremento de la producción de leche, en ovejas consumiendo una pradera de *Lotus corniculatus* (44,5 g TC/kg MS). Además de los aumentos en la producción observados, de alrededor del 21% en las etapas media y final de producción, también se obtuvieron incrementos en la eficiencia de producción, aumentos en la proteína de la leche y lactosa; y una reducción de la grasa de la leche. A la hora de interpretar los resultados, podría decirse que el incremento de la proteína podría deberse a un aumento en el flujo de aminoácidos (principalmente metionina y lisina). Luego, la responsable del incremento de la concentración de lactosa, sería la mayor síntesis de glucosa, que deriva de la gluconeogénesis a partir de ácido propiónico y aminoácidos. Y la mayor disponibilidad de aminoácidos nos permitiría obtener mayor síntesis de glucosa. Por último, se explicaría la disminución del porcentaje de grasa en la leche, por el efecto de dilución, al verse aumentadas las concentraciones de lactosa y proteína (Hervás, 2001)

Se observaron efectos positivos basados en la retención de Nitrógeno cuando corderos se encontraban consumiendo *Lotus corniculatus* (< 50 g/kg MS de taninos condensados) (Egan *et al.*, 1980 Barry *et al.*, 1984 y Waghorn *et al.*, 1997). Similares resultados obtuvieron Driedger y Hartfield (1972), cuando alimentando también a corderos con torta de soja tratada con taninos hidrolizables determinaron una mayor retención de nitrógeno.

Montossi *et al.* (1996), señalaron que la ganancia de peso vivo era un 23% mayor en aquellos animales que se encontraban consumiendo *Holcus lanatus* (4,2 g TC/kg MS). A su vez, Wang *et al.* (1994; 1996a) determinaron que animales consumiendo *Lotus corniculatus* (34 g TC/kg MS), si bien se veía disminuida en un porcentaje muy pequeño la ingestión de alimento, se incrementaba el peso, la ganancia de peso vivo y el rendimiento de la canal.

Si nos referimos a los TC y los evaluemos en base a la eficiencia reproductiva en animales, encontramos trabajos en los cuales, ovejas en pastoreo de *Lotus corniculatus* (posee alrededor de 17g TC/kg MS), veían incrementada la producción de corderos un 25%, esto como consecuencia de elevar la tasa ovulatoria de los animales, (Min *et al.*, 1999)

Sucede que, las demostraciones efectuadas para evaluar el uso de los TH como aditivos con el fin de disminuir la degradación de la proteína dietaria, fueron realizadas mediante ensayos in vitro (Driedger y Halfield, 1972; Hervás *et al.*, 2000b). Esto podría ser motivo de discusión si tenemos en cuenta la idea generalizada que se tiene de los TH como tóxicos para los animales (Spier *et al.*, 1987; Zhu y Filippich, 1995). Sin embargo, un trabajo efectuado, utilizando una



cantidad igual a 20g/kg MS, en corderos consumiendo una ración compuesta por torta de soja tratada con TH; y con el fin de probar si la misma podría ser tóxica o tener resultados negativos en la productividad de los mismos. Este argumento resulto invalido (Raso *et al.*, 2001).

## 5.V.

## TANINOS EN LA ALIMENTACIÓN

### 5.V.1. *Protector de la proteína frente a la degradación ruminal.*

En la actualidad, y en gran medida debido a los costos de las raciones y la necesidad de producir más en menos espacio y con menores costos es que la producción, se basa en la eficiencia. Así pues, a la hora de hablar de alimentación proteica eficiente, se habla de proteína “Bypass”, esta permite una mejor utilización de la proteína dietaria y maximizar la producción tanto en carne como en leche, por cada unidad de proteína consumida (Van Straalen y Tamminga, 1990; AFRC, 1993; Schwab, 1995; NRC, 2001).

Es claro, como comentamos más arriba, que en hoy en día, hay mayores presiones en lo que se refiere a producción. Sin embargo cuando la producción de carne y leche aumenta, también lo hacen las excreciones de nitrógeno, con lo cual aumentan los niveles de contaminación del medio ambiente. Por tal razón es necesario ser eficientes y precisos a la hora de formular las raciones en rumiantes y más aún, si estos animales son de alta producción. Ya que requieren de un mayor aporte de PNDR (Proteína No degradable Rumen) y la proteína microbiana que se sintetiza en el rumen, como sabemos, no alcanza a cubrir los proteicos de dichos animales (AFRC, 1993).

En 1994, la Unión Europea prohíbe el uso de proteínas derivadas de mamíferos en la alimentación de rumiantes (Decisión 94/381/CE de la Comisión), que rectifica y amplía en el reglamento (CE) n° 999/2001 ([www.ec.europa.eu/food/fs/bse/bse47\\_es.pdf](http://www.ec.europa.eu/food/fs/bse/bse47_es.pdf)). Previamente a esto, los suplementos proteicos utilizados en alimentación animal podían ser tanto de origen animal como vegetal. En la actualidad, solo es posible utilizar los de origen vegetal, los mismos tienen la característica de ser más degradables en rumen, y es por esto que se ve reducida la disponibilidad de proteína dietaria para cubrir las necesidades animales. De allí surge la necesidad de proteger la proteína dietaria de la degradación ruminal, lo que permite tener un mayor espectro de alimentos con alta proporción de proteína no degradable en rumen (Schwab, 1995).



### 5.V.1.1. *Tratamientos para la protección de la proteína*

Podemos agrupar a los principales métodos para proteger a las proteínas de la dieta en dos grupos: físicos y químicos.

Entre los métodos físicos, el más común es el calor, su efecto puede ser positivo o contraproducente dependiendo de la temperatura y del tiempo al que se exponga la proteína a tratar (Kaufmann y Luppig, 1982; Broderick *et al.*, 1991; Loyola *et al.*, 1999).

Los métodos químicos, básicamente consisten en la adición de ciertas sustancias:

- Aldehídos, el formaldehído (Crooker *et al.*, 1983).
- Azúcares reductores, como la dextrosa (Serrano *et al.*, 1997).
- Alcalis, como el hidróxido sódico (Waltz y Loerch, 1986).
- Ácidos, como el acético y los lignosulfitos (Waltz y Loerch, 1986; Von Keyserlingk *et al.*, 2000).
- Alcoholes, como el etanol, el propanol y el isopropanol (Van der Aar *et al.*, 1984).
- Taninos (Zimmer y Cordesse, 1996b; González *et al.*, 1998; Loyola *et al.*, 1999; Hervás *et al.*, 2000b).

Estos compuestos se unen a la proteína dietaria y la protegen, ante la degradación ruminal. Las uniones que aquí actúan, son pH dependientes y permanecen estables entre pH 3,5 y 8.

### 5.V.1.2. *Agregado de taninos a la dieta*

Hay ensayos que se han publicado en los últimos tiempos, que van en contra de la creencia generalizada de que los taninos son factores antinutritivos. Estos trabajos nos muestran que los efectos de los taninos no son para nada negativos, sino que tienen efectos beneficiosos que los productores pueden aprovechar, un de estos efectos es la utilización de los taninos para disminuir la degradación ruminal de la proteína dietaria, lo que llevaría a aumentar los niveles de aminoácidos disponibles en el intestino (Delort-Laval *et al.*, 1992; Mathieu y Jounay, 1993; Pace *et al.*, 1993; Atwal, 1994; Schwab, 1995; Robinson, 1996; Gonzalez *et al.*, 1998; Aerts *et al.*, 1999; Barry y McNabb, 1999; Foley *et al.*, 1999; Loyola *et al.*, 1999; Hervás *et al.*, 2000b; McMahan *et al.*, 2000).

En un ensayo realizado *in vitro* con torta de soja, se pudo conseguir una reducción de la degradabilidad de la proteína en un 55, 77 y 82%, cuando se



utilizaron dosis del 5, 9 y 17% respectivamente. Pero cuando se realizaba la determinación de la digestibilidad intestinal, se veía que; si se utilizaba un medio alcalino con pancreatina, esta se reducía, y cuando la determinación se realizaba en medio ácido con pepsina, no se observaban diferencias (Driedger et. Al., 1972).

Sin embargo, hay publicaciones en las que se observa que los taninos condensados de quebracho poseen mayor poder reductor de la digestibilidad de la torta de soja que el ácido tánico (taninos hidrolizables) (Pace *et al.*, 1993).

A su vez, González *et al.* (1998) señalaron por el contrario, que los taninos hidrolizables de castaño (*Castanea dentata*), resultaron ser más eficientes para reducir la degradación ruminal de la proteína de la torta de soja, que los extraídos de la acacia (*Acacia sp.*) o del quebracho (*Schinopsis balansae*) (taninos condensados) y que no se vio afectada la digestibilidad intestinal (determinación *in vitro* por medio de la adición de pepsina).

Hervás *et al.* (2000b) en un trabajo donde se trató a la torta de soja con varias dosis de ácido tánico, observaron la disminución estadísticamente significativa de la degradabilidad de la proteína bruta en el rumen. La disminución se debió a la reducción de la fracción inmediatamente disponible de la proteína que había sido tratada previamente, por la formación del complejo tanino – proteína. Luego al evaluar la digestibilidad intestinal de la proteína, no se observó modificación alguna hasta llegar a 13% de ácido tánico. Veigas *et al.* (2010) llegó a una conclusión similar con respecto a la digestibilidad intestinal de la proteína, al usar una mezcla conocida de taninos (condensados e hidrolizables), en donde no observó diferencias en la digestibilidad en el intestino, pero sí vio disminuida la degradabilidad en el rumen.

En un ensayo realizado con harina de maní tratada con ácido tánico y con otros taninos extraídos de subproductos de semilla de *Shorea robusta*, se observó que ambos redujeron la degradabilidad ruminal de la proteína (Pan; 1991 y Maitra; 1992). Los mecanismos por lo que se podría explicar la disminución en la degradabilidad ruminal son, la interacción de los taninos con los microorganismos del rumen; la inhibición de la actividad enzimática (Bae *et al.*, 1993; Jones *et al.*, 1994; McMahan *et al.*, 2000; McSweeney *et al.*, 2001b) y el crecimiento de cepas de bacterias ruminales (Nelson *et al.*, 1997; Brooker *et al.*, 2000; Molan *et al.*, 2001).

## 5.V.2.

## Otros usos en la nutrición

Los taninos no solo son utilizados con el objetivo de proteger la proteína dietaria del ataque microbiológico en el rumen, sino que también son utilizados con otros fines, como mejorar la productividad animal.

Los animales, pastoreando leguminosas fundamentalmente en primavera cuando las pasturas se encuentran en desbalance proteico, tienen altas



posibilidades de sufrir timpanismo, acumulación de gas en forma de espuma en el retículo – rumen, al producirse una fermentación rápida de los carbohidratos. Se sabe que algunas leguminosas tienen aunque no tan altos, ciertos contenido de taninos condensados, los que permiten en cierta medida atenuar los efectos de este tipo de hinchazón del rumen (Mangan, 1988; Jean-Blain, 1998; Aerts *et al.*, 1999; Barry y McNabb, 1999; McMahon *et al.*, 2000).

Otro beneficio de los taninos, cuando hablamos de producción animal es que ayudan al control de algunos parásitos internos, un ejemplo de esto, es aportado por Butter *et al.*, 1999; 2000, donde observaron efectos negativos del tanino sobre el desarrollo del nematodo *Trichostrongylus colubriformis*. Podemos decir, aunque no a ciencia cierta, que los taninos actúan directamente sobre los parásitos internos, además de actuar indirectamente en la salud animal al tener mayor cantidad de proteína disponible (Niezen *et al.*, 1995; Butter *et al.*, 1998).

En un ensayo (no publicado) a campo realizado por Indunor S.A., en la provincia de Buenos Aires, se observó una disminución significativa de los HPG en los potreros donde permanecían los corderos tratados con mezclas de taninos hidrolizables y condensados. Evaluaciones realizadas en el tiempo, mostraron que la reinfección fue disminuyendo hasta casi desaparecer. En esta línea, Robertson *et al.* (1995) señalaron que la cantidad de huevos de parásitos en heces se veía reducida significativamente en los corderos que se encontraban pastoreando *Lotus corniculatus* o *Hedysarum coronarium*, ambas especies presentan contenidos de taninos condensados.

Por otro lado, se ha observado que el contenido de taninos condensados posee una correlación lineal y positiva con la hormona de crecimiento, (Barry *et al.*, 1986a). Cuando aumenta la concentración de la hormona se ve aumentada la retención de nitrógeno y lipólisis (Muir *et al.*, 1983). Se señaló que los taninos podrían actuar con las proteínas de la pared intestinal y afectar positivamente a la secreción de la hormona de crecimiento (Mangan; 1988).

Ensayos como los realizados por Max *et al.* (2001), concluyen que los extractos de taninos probados (taninos de quebracho y taninos wattle) producen un claro efecto antihelmíntico en rumiantes pequeños, donde se vio reducido en un 91% los HPG. A su vez el Dr. Bertrand observó, a fines de sexta semana (período de duración del ensayo) en animales Jersey y Holstein, consumiendo 0,71kg/cab/día, redujeron significativamente los HPG utilizando taninos condensados y concluyó que son una alternativa a los químicos antihelmínticos.



## 6 Materiales y métodos

### 6.I. ANIMALES

Se utilizaron 24 vacas (8 canuladas en el rumen), raza Holstein multíparas en lactación, con peso promedio de 546 +/- 38 kg de peso vivo, pertenecientes a la University of Wisconsin- Madison, *Department of Dairy Science* .

Los implantes de las cánulas no fueron realizados para el presente ensayo, pero los animales canulados como los otros 16 fueron seleccionados por ser lo más homogéneos posibles tanto en número de pariciones como en producción de leche.

### 6.II. DIETA

Se ofrecieron dos niveles proteicos diferentes, y a su vez cuatro tratamientos distintos ya que hubo 4 porcentajes crecientes de una mezcla de taninos comercial (ByPro<sup>®</sup>) de quebracho y castaño. La formulación de la dieta base se encuentra descripta en la *tabla 3*.

## COMPOSICIÓN DE INGREDIENTES Y NUTRIENTES DE LAS DIETAS EXPERIMENTALES

ITEM	16,5% PB				18% PB			
	CONTENIDO DE TANINO EN MS %				CONTENIDO DE TANINO EN MS %			
	0	0.45	0.9	1.8	0	0.45	0.9	1.8
SILO DE ALFALFA	21	21	21	21	21	21	21	21
SILO DE MAIZ	29	29	29	29	29	29	29	29
MAIZ MOLIDO	25.8	25.8	25.8	25.8	23	23	23	23
HARINA DE SOJA E.S. <sup>1</sup>	5.2	5.2	5.2	5.2	11.5	11.5	11.5	11.5
EXPELLER DE HARINA DE SOJA	3.6	3.6	3.6	3.6	--	--	--	--
SOJA TOSTADA	3.9	3.9	3.9	3.9	4	4	4	4
CASCARA DE SOJA	4	4	4	4	4	4	4	4
SEMILLA DE ALGODÓN	3	3	3	3	3	3	3	3
CASCARA DE ARROZ	1.8	1.35	0.9	0	1.8	1.35	0.9	0
TANINO	0	0.45	0.9	1.8	0	0.45	0.9	1.8
MEZCLA DE VITAMINAS	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9	2.9
<b>COMPOSICIÓN QUIMICA</b>								
PB (% EN MS)	16.5	16.5	16.5	16.5	18	18	18	18
FDN (% EN MS)	30.1	30.1	30.1	30.1	30.2	30.2	30.2	30.2
ALMIDON % EN MS	26.5	26.5	26.5	26.5	28.1	28.1	28.1	28.1
CNF <sup>2</sup> (% EN MS)	40.9	41.2	41.6	42.2	42.7	43.1	43.4	44
PDR <sup>3</sup> (% EN MS)	11.9	11.9	11.9	11.9	10.5	10.5	10.5	10.5
PNDR <sup>4</sup> (% EN MS)	6.1	6.1	6.1	6.1	6	6	6	6

ESTIMADO USANDO VALORES DE TABLA (NRC 2001)

<sup>1</sup>HARINA DE SOJA EXTRAIDA CON SOLVENTES

<sup>2</sup>CARBOHIDRATOS NO FIBROSOS

<sup>3</sup>PROTEINA DEGRADABLE EN RUMEN

<sup>4</sup>PROTEINA NO DEGRADABLE EN RUMEN

Tabla 3.- Composición de ingredientes y nutrientes de las dietas experimentales



## 6.III. *TRATAMIENTO EXPERIMENTAL*

Para este ensayo se utilizaron veinticuatro vacas raza Holstein (8 de ellas canuladas en el rumen), todas multíparas en lactación. El peso promedio de las mismas fue de unos 546 +/- 38 Kg. Las mismas fueron asignadas al azar a los tratamientos con 15,5 o 16,8% de PB. A su vez las vacas con cada nivel de proteína, fueron asignadas aleatoriamente a las cuatro dietas de cada tratamiento y que tuvieron 6 repeticiones. Un 4 x 4 cuadrado Latino (2 vacas canuladas por tratamiento).

La mezcla de taninos de quebracho (*Schinopsis spp.*) y castaño (*Castanea sativa*) se incluyeron en las dietas en niveles escalonados crecientes de 0 a 1,8% en base a materia seca (0, 0.45, 0.90 y 1.8% en base a material seco). La cáscara de arroz se utilizó para reemplazar proporcionalmente a la mezcla de taninos en los tratamientos en los que no están incluidos.

### 6.III.1. *Muestreo*

#### ● Alimentación y Composición Raciones

Los forrajes y concentrados se muestrearon semanalmente, la composición varió por período; se analizó materia seca, (AOAC, 1990), nitrógeno total (LECO FP-2000 Analizador de nitrógeno, Leco Instruments, Inc., San Jose, MI), fibra detergente neutro (FDN) (Mertens, 1999).

La proteína bruta (PB) se calculó como  $N \text{ total} \times 6,25$ . Los carbohidratos no fibrosos se calcularon como  $100 - ((\text{FDN} - \text{NDICP}) + \text{extracto etéreo CP} + \text{cenizas} +)$ . El contenido de extracto etéreo se estimó a partir de ácidos grasos (AG) como el análisis de  $AG + 1$  (NRC, 2001).

#### ● Consumo de alimento y producción de leche

Las dietas se ofrecieron una vez al día como ración totalmente mezclada. La cantidad de oferta de alimento, debió exceder en un 5-10% la cantidad prevista, la mezcla de los ingredientes de la dieta se modificó semanalmente por si se producía alguno cambio en la materia seca del forraje. Las cantidades ofrecidas y rechazadas por los animales se registraron individualmente y diariamente para obtener el consumo de materia seca. La producción de leche se registró en cada uno de tres ordeños diarios. Las muestras de leche se recogieron en los ordeños de la mañana y de la tarde en los días, 20 y 21 de cada periodo experimental.



En las muestras se analizó grasa, proteína, lactosa, sólidos no grasos (SNG), y el contenido de nitrógeno ureico en la leche con un espectrofotómetro de infrarrojo cercano (Foss-milkoScan-6000, Foss Tecnología, Eden Prairie, MN). Además, para mayor precisión, el nitrógeno ureico en leche se midió también con un método enzimático en laboratorio (Chaney y Marbach, 1962).

#### ● Fermentación ruminal

El licor ruminal se recogió de todas las vacas fistuladas en 0 (pre-alimentación), 1, 2, 3, 6, 9, 12 y 18 h después de la alimentación, al día 18 de cada período. Una muestra de 60 ml de líquido ruminal se tomó de cinco zonas diferentes del rumen con una sonda de filtro de metal y se dividió en dos sub-muestras. El pH del rumen se determinó inmediatamente después de la toma de muestras.

#### ● Eliminación individual de heces y pérdida de N

Durante los días 19, 20 y 21 de cada período, 12 muestras fecales se tomaron del recto de cada vaca. Se tomaron cuatro muestras por día, la toma de muestras se distribuyó a lo largo de un período de 3 días para obtener una muestra por cada hora, de un día de 24 horas. Las muestras fecales fueron mezcladas y compusieron una única muestra por vaca. Se analizó como se describe más arriba materia seca (Cochran *et al.*, 1986). Además, en los días de 19 a 21 se realizó la recolección total de heces en las vacas canuladas (n = 8). Las heces fueron recogidas en recipientes instalados en las cunetas del galpón. El peso de las heces se registró dos veces al día, y también se recolectaron muestras dos veces al día, estas se mezclaron para cada vaca individual y por cada período; las mismas se almacenaron a -20C°.

#### ● Volumen de orina y eliminación de N de cada vaca

Las muestras de orina fueron recogidas mediante estimulación de vulva, la misma se hizo aproximadamente 6 hs. pre- alimentación y 6 hs. post- alimentación durante el día 21 de cada período. Inmediatamente después de la recolección de orina, se midió el pH para cada muestra individual, las muestras de orina se acidificaron y se congelaron a -20 C°. Sobre estas muestras se analizó, N total por micro Kjeldahl (AOAC, 1990), N ureico (Chaney y Marbach, 1962), y creatinina (Oser, 1965). El volumen diario de orina y la excreción de N total y N-ureico se determinó a partir de la concentración urinaria de creatinina y el peso corporal, según Valadares *et al.* (1999).

El peso corporal de las vacas se midió durante 3 días consecutivos al inicio de la prueba y al final de cada período. Además, en los días de 19 a 21 se realizó la recolección total de orina en las vacas canuladas (n = 8).

La orina se recogió mediante catéteres en tachos de recolección que contenían 50% de H<sup>2</sup>SO<sup>4</sup>. El volumen de orina se registró dos veces al día y las muestras de orina fueron tomadas también dos veces al día, se mezclaron



ambas muestras (individualmente por vaca) y por período y se almacenaron a  $-20\text{C}^{\circ}$ . En las muestras de orina se analizó, N total y N ureico en orina como se describió anteriormente.

#### ● Nitrógeno Ureico en Plasma (NUP) en cada vaca

Las muestras de sangre se recolectaron en tubos heparinizados, las recolecciones se hicieron 4 hs después de ser alimentadas. Las mismas se obtuvieron de la arteria o vena coccígea de cada vaca en el día 19 de cada período y se almacenaron a  $-20\text{C}^{\circ}$ , hasta que se realizó el análisis de Nitrógeno Ureico en sangre en los laboratorios (Chaney y Marbach, 1962).

### 6.III.2. *Análisis estadístico*

Los datos fueron analizados con el procedimiento MIXED de SAS (2001). Para las mediciones realizadas en cada vaca (n=96 observaciones de consumo de MS, producción de leche, composición de la leche, y n=32 observaciones del volumen de orina, eliminación de N en orina y en material fecal) el modelo incluyó los efectos del período, los niveles de PB dietaria, taninos dietarios, vaca (dentro de los niveles de PB dietaria), interacción de los niveles PB dietaria x los de taninos, e interacción del período x la PB dietaria. Todos los términos se consideraron fijos, a excepción de la vaca (dentro de los niveles de PB dietaria) y el error residual, que se consideraron aleatorios. Para las mediciones repetidas en cada vaca (n=256 observaciones para las variables ruminales: pH, y  $\text{NH}_3\text{-N}$ ) el modelo estadístico incluyó los efectos del período, los niveles de PB dietaria (16,5 y 18,0% PB), tanino de la dieta, la vaca (dentro de los niveles de PB) tiempo, interacción entre tiempo x los niveles de PB dietaria y la interacción tiempo x tanino dietario. Todos los términos se consideraron fijos, a excepción de la vaca (dentro de los niveles de PB dietaria), y el error del conjunto de parcelas (utilizado para probar los efectos del tratamiento) y el error de subtrama (se usa para probar los efectos del tiempo) que se consideraron aleatorios. La significancia se declaró en  $P \leq 0,05$  y el 0,06 tendencia  $<P < 0,10$ . Este informe se centra en las respuestas obtenidas, debido a la suplementación de taninos y la interacción entre el nivel de tanino y el nivel de la PB dietaria.

# 7 Resultados

*La significancia estadística de la interacción varió de  $P = 0,11$  a  $P = 0,95$ .*

**EFFECTOS DE CONTENIDO DE TANINOS Y EL NIVEL DE PB EN LA DIETA SOBRE LA CONCENTRACIÓN DE LOS METABOLITOS RUMINALES**

ITEM	CONTENIDO DE TANINOS (% MS)								PB DIETARIA (%MS)		
	0	0.4	0.9	1.8	SEM	Dieta	L	Q	16.5	18.0	SEM
<b>RUMEN</b>											
pH	6.46	6.42	6.41	6.41	0.03	0.68	0.32	0.55	6.44	6.42	0.03
NH3-N, MG/DL	11.3 <sup>a</sup>	10.3 <sup>a</sup>	10.1 <sup>a</sup>	8.1 <sup>b</sup>	0.6	0.05	<0,01	0.81	9.3 <sup>B</sup>	11.0 <sup>A</sup>	0.51
<b>RECOLECCION TOTAL</b>											
HECES HUMEDAS Kg/ d	53 <sup>b</sup>	57 <sup>a</sup>	60 <sup>a</sup>	57 <sup>a</sup>	2.6	0.02	0.02	0.04	63	50	3.4
ORINA Kg/d	30.8 <sup>a</sup>	30.5 <sup>a</sup>	30.9 <sup>a</sup>	27.5 <sup>b</sup>	1.3	0.05	0,01	0.04	29.5	30.4	1.7
N URINARIO	211 <sup>a</sup>	203 <sup>a</sup>	210 <sup>a</sup>	174 <sup>b</sup>	7.5	<0.01	<0.01	0.04	166 <sup>B</sup>	233 <sup>A</sup>	7.8

a-c Medidas con diferentes letras indican diferencias estadísticas al nivel de probabilidad ( $P < 0,05$ )

A-B Medidas con diferentes letras indican diferencias estadísticas al nivel de probabilidad ( $P < 0,05$ )

Tabla 4.-

## EFFECTO DEL CONTENIDO DE TANINOS Y EL NIVEL DE PB DIETARIO EN LA PRODUCCIÓN Y COMPOSICIÓN DE LECHE

ITEM	CONTENIDO DE TANINO (% MS)								PB DIETARIA (%MS)		
	0	0.4	0.9	1.8	SEM	Diet	L	Q	16.5	18	SEM
CONSUMO DE MS, KG/D	25.6	24.3	24.1	23.7	0.76	0.17	0.07	0.25	24.3	24.7	0.76
CAMBIO DE PESO CORPORAL, KG/D	0.13	0.62	0.52	0.58	0.16	0.11	0.11	0.15	0.35	0.57	0.11
PRODUCCIÓN DE LECHE, KG/D	40.6	40.8	40.1	40.2	1.22	0.77	0.43	0.97	40.2	40.7	1.6
EFICACIA DEL ALIMENTO	1.61	1.71	1.67	1.73	0.07	0.31	0.15	0.67	1.69	1.66	0.07
3,5% GC, KG/D	40.7	40.8	39.8	39.8	1.37	0.42	0.17	0.74	40.3	40.2	1.8
EFICIENCIA DE 3,5% GC, KG/D	1.6	1.7	1.65	1.71	0.07	0.34	0.22	0.66	1.68	1.68	0.07
<b>COMPOSICIÓN Y PRODUCCIÓN DE LECHE</b>											
GRASA %	3.6	3.62	3.56	3.54	0.09	0.78	0.36	0.94	3.64	3.52	0.11
PRODUCCIÓN DE GRASA, KG/D	1.45	1.45	1.4	1.4	0.06	0.39	0.14	0.74	1.44	1.41	0.07
PROTEÍNA VERDADERA %	2,87 <sup>b</sup>	2,91 <sup>a</sup>	2,86 <sup>bc</sup>	2,83 <sup>c</sup>	0.04	<0,01	<0,01	0.1	2,86	2,88	0.06
PRODUCCIÓN DE PROTEÍNA VERDADERA, KG/D	1,14 <sup>ab</sup>	1,16 <sup>a</sup>	1,12 <sup>b</sup>	1,11 <sup>b</sup>	0.33	0.03	0.02	0.39	1.12	1.14	0.45
LACTOSA %	4.86	4.85	4.87	4.89	0.05	0.47	0.17	0.52	4.94	4.8	0.07
PRODUCCIÓN DE LACTOSA, KG/D	1.95	1.95	1.92	1.94	0.07	0.9	0.73	0.73	1.95	1.93	0.09
SNG %	8.62	8.65	8.61	8.58	0.06	0.07	0.05	0.33	8.67	8.53	0.08
PRODUCCIÓN DE SNG, KG/D	3.43	3.47	3.39	3.39	0.11	0.54	0.3	0.97	3.42	3.42	0.14
NUL , MG/DL	13,9 <sup>a</sup>	13,9 <sup>a</sup>	13,6 <sup>a</sup>	12,9 <sup>b</sup>	0.36	<0,01	<0,01	0.21	11,8 <sup>B</sup>	15,6 <sup>A</sup>	0.36
NUS, MG/DL	15.4	15,2 <sup>a</sup>	14,6 <sup>a</sup>	13,5 <sup>b</sup>	0.43	<0,01	<0,01	0.52	12,8 <sup>B</sup>	16,5 <sup>A</sup>	0.42

a-c Medidas con diferentes letras indican diferencias estadísticas al nivel de probabilidad (P < 0.05)

A-B Medidas con diferentes letras indican diferencias estadísticas al nivel de probabilidad (P < 0.05)

1 Eficiencia del alimento o eficiencia del 3,5%GC= Kg de leche o 3,5% Grasa Corregida / kg de MS

2 3,5% GC kg / D = (0,4255 x producción de leche) + [ 16,425 x (grasa de leche % / 100) x producción de leche]

Tabla 5.-

## EFFECTO DEL CONTENIDO DE TANINOS Y EL NIVEL DE PB DIETARIA SOBRE LA APARENTE DIGESTIBILIDAD EN EL TRACTO

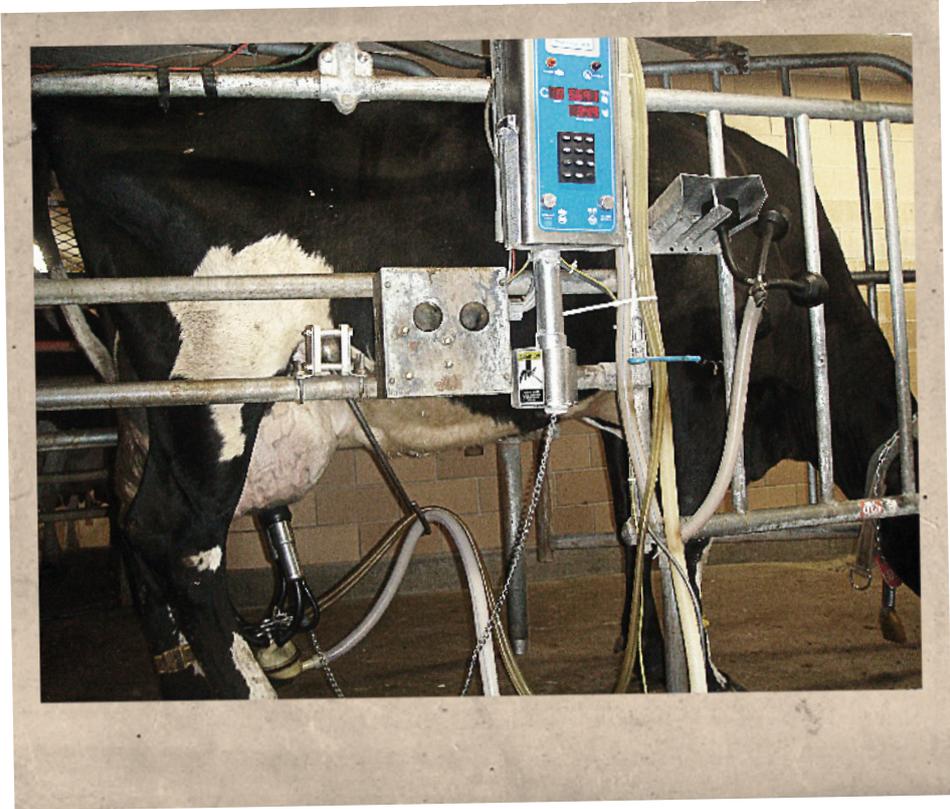
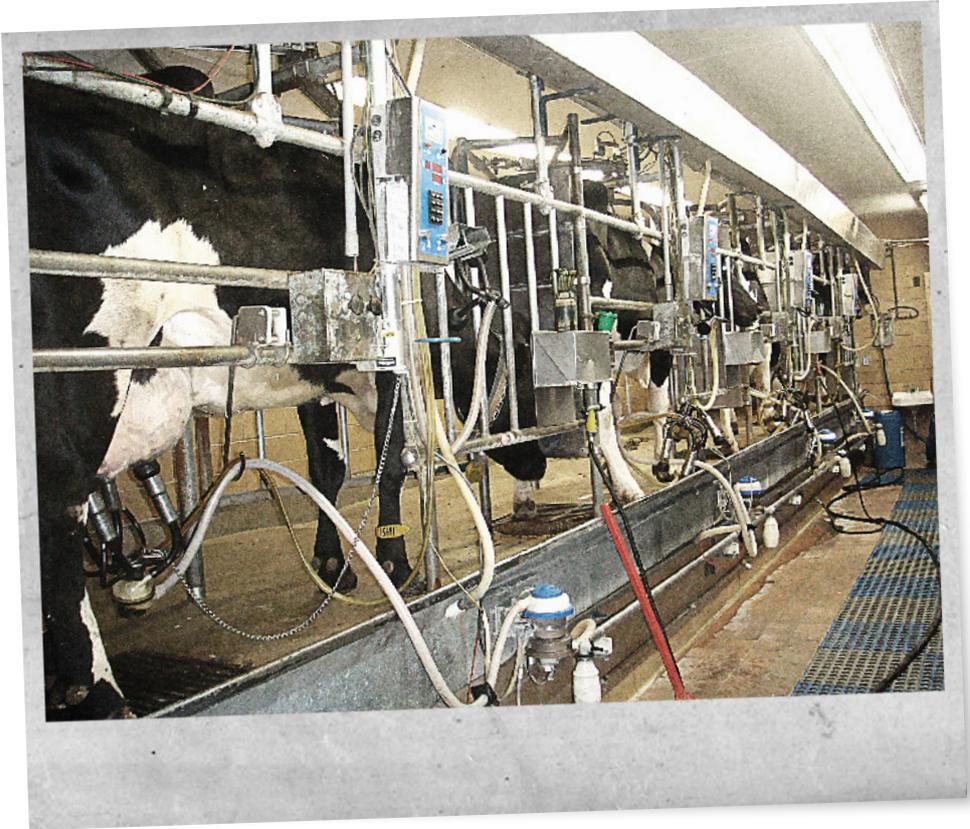
ITEM	NIVEL DE TANINOS (% MS)								PB DIETARIA (%MS)		
	0	0.4	0.9	1.8	SEM	Diet	L	Q	16.5	18.0	SEM
MS %	66.2	64.3	62.3	63.1	1.7	0.31	0.16	0.22	61.5	66.5	1.5
MO %	68.2	66.4	64.2	64.9	1.6	0.23	0.11	0.22	63.2 <sup>B</sup>	68.5 <sup>A</sup>	1.5
N %	65.5 <sup>a</sup>	61.4 <sup>ab</sup>	59.5 <sup>b</sup>	58.7 <sup>b</sup>	1.9	0.05	0.02	0.16	57.2 <sup>B</sup>	65.4 <sup>A</sup>	1.9

a-b Medidas con diferentes letras indican diferencias estadísticas al nivel de probabilidad (P < 0.05)

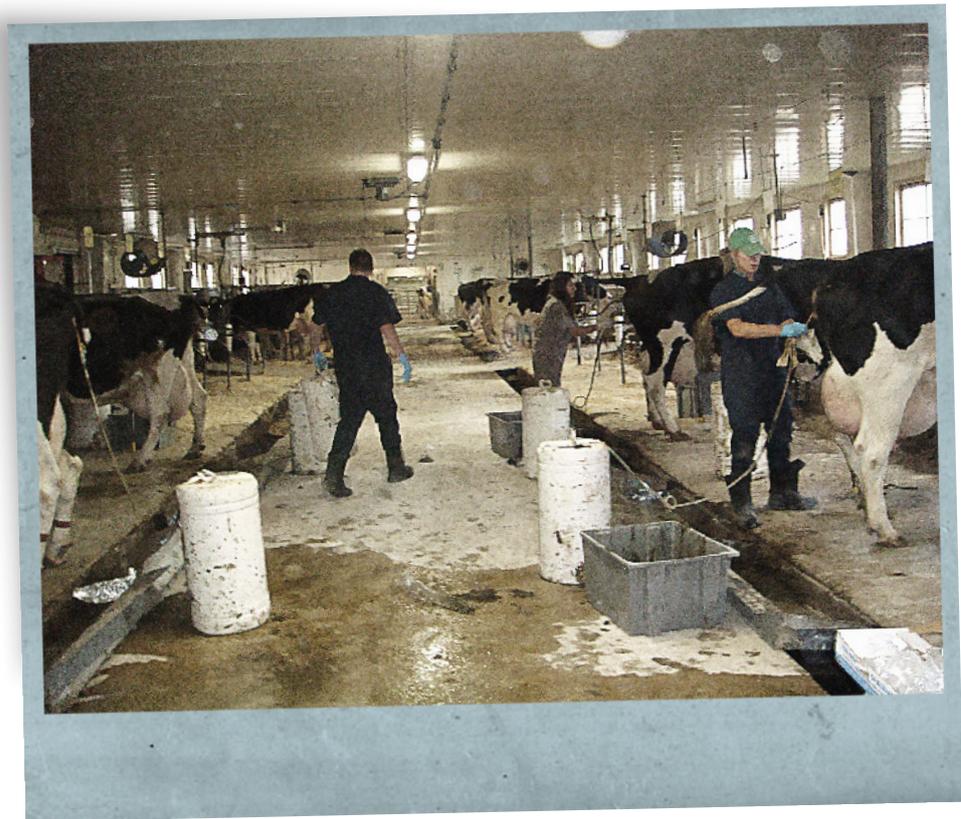
A-B Medidas con diferentes letras indican diferencias estadísticas al nivel de probabilidad (P < 0.05)

Tabla 6.-

# Anexo







## 8 Discusión

### ● *Rendimiento.*

Se comprobó un significativo decrecimiento lineal en el consumo de materia seca en relación a la dosis de taninos ingerida ( $P = 0,04$ ), y a la vez una tendencia lineal de aumento en la ganancia de peso vivo de los animales en respuesta a la suplementación con taninos ( $P = 0,08$ ) (Tabla 5).

El contenido de grasas y lactosa en leche no fueron significativamente influidos por la suplementación con taninos.

Respuestas lineales y cuadráticas se encontraron al evaluar las respuestas de proteína en leche. El valor máximo para proteína se encontró empleando una dosis de 0,45% de taninos en la dieta. El contenido de Urea en leche decreció linealmente cuando el contenido de taninos fue aumentado desde 0 a 1,8%.

En general, producción de leche, 3,5% GC (grasa de la leche corregida), eficiencia alimenticia (Kg. de leche / Kg. de MS) y el 3,5% GC la eficiencia (Kg. de 3,5% GC/ Kg. de MS) no se vieron afectados por los aumentos en contenido de tanino la dieta (Tabla 5).

Con la inclusión de niveles más altos de tanino (0,9 y 1,8% en la dieta), el contenido de proteína (%) y el rendimiento (Kg./d) no fueron esencialmente diferentes al testigo (sin taninos en la dieta), a excepción de una depresión en el contenido de proteína de la leche (%) en el nivel de 1,8% de taninos en la dieta.

Aunque hubo una tendencia lineal ( $P = 0,07$ ) para el contenido de SNG (Sólidos no grasos), el rendimiento de los SNG no fue diferente entre los niveles de taninos en la dieta.



El nitrógeno ureico de la leche (NUL) y el nitrógeno ureico en plasma (NUP) se redujeron linealmente cuando el contenido de taninos en la dieta se incrementó de 0 a 1,8% en MS.

● ***Parámetros ruminales y digestibilidad del tracto.***

El aumento en el contenido de taninos no afectó al pH ruminal (Tabla 4). Aunque, existió una disminución lineal ( $P < 0,01$ ) en la concentración de amonio con el aumento en la concentración de taninos.

● ***Recolección total de heces y de orina.***

Los taninos disminuyeron hasta un 17% la excreta de Nitrógeno vía urinaria, respecto del control.

Por otra parte, el N urinario fue menor cuando el nivel de inclusión de taninos fue de 1.8% en MS de la dieta, en comparación con 0, 0.45 y 0.9% de índices de inclusión (211 vs. 174 g. /d,  $P < 0,05$ ).

Los resultados aquí obtenidos, se correlacionan y sustentan con otros tantos ensayos realizados en base a estas líneas de investigación, donde se intenta encontrar y desarrollar los efectos beneficiosos de los taninos en la producción animal.

Los efectos de los taninos condensados en la nutrición de rumiantes han sido extensamente estudiados (Barry y McNabb, 1999).

Las concentraciones de taninos condensados en forrajes de temperaturas templadas, disminuyen la digestión de la proteína dietaria y aumenta la absorción de los amino ácidos esenciales en el intestino delgado en proporciones de 30 a 40 g /kg MS (alrededor de 100 a 150 g. /Kg. PB). Pequeñas dosis de taninos condensados (1 a 2g. /Kg. MS) son aparentemente ineficientes en modificar los parámetros de la digestión de N; sin embargo desde 5g. /Kg. MS, los taninos condensados pueden prevenir el timpanismo en rumiantes pastoreando forrajes (Barry y McNabb, 1999).

En el uso de taninos hidrolizables para reducir la degradabilidad de las proteínas en el rumen, no hay demasiada documentación disponible. Con el Ácido tánico, Driedger y Hartfield, observaron in vitro un decrecimiento lineal en el desglose de proteínas cuando a la harina de poroto de soja se le agregó hasta por encima de 100 g.kg-1 (alrededor de 200g. Kg.-1 PB) más allá de este nivel los efectos de los taninos se volvieron insignificantes. Algo similar sucedió, usando la técnica in situ, Hervás et. al., observaron un decrecimiento lineal en la degradabilidad del N en el rumen de la harina del poroto de soja, agregando tanino hasta 130 g. Kg.-1, encabezando, este nivel, un decrecimiento del 40% de la degradabilidad del N. En concordancia con Driedger y Hartfield, más allá de este nivel, el efecto de la adición de taninos fue menos efectiva. Sin embargo, cerca de las dosis de 100g. de tanino por Kg. de harina de poroto de soja, la digestión intestinal fue decreciente.



La habilidad de los taninos de castaño (taninos hidrolizables) para proteger la proteína dietaria contra la degradación ruminal, fue estudiada por primera vez por Zelter et. al., (1970) La información muestra que, in vitro, 80g. de taninos por Kg. de harina de poroto de soja, bloquea la degradación microbiana de la proteína, y la eficacia de los taninos se relacionó con la naturaleza proteica del alimento. Mathieu y Jouany investigaron bajas dosis de taninos (<80g. x Kg.-1) in vitro, y observaron que la fermentabilidad del nitrógeno de la harina de poroto de soja decreció exponencialmente a medida que el nivel de proteína se incrementaba desde 0 a 53g. de tanino por Kg. de harina de poroto de soja. Niveles óptimos parecen ser entre 10g. /Kg. MS (20g /Kg. PB). En cambio, en la técnica in situ, se mostró que la degradación ruminal de la torta de maní molido, no se vio afectada por el agregado de los taninos hasta 25g /Kg. MS (50g. /Kg. PB), y se observó un decrecimiento lineal entre 25g y 100g. /Kg. MS. Como se informó para el ácido tánico, a una inclusión de 100g. /Kg. MS la digestibilidad intestinal del nitrógeno alimenticio fue reducido significativamente. La discrepancia observada in vivo e in situ, entre la dosis óptima de taninos que tuvo que ser usada para proteger las proteínas contra la degradación pudo deberse a las características de cada técnica. Sin embargo, la eficacia de los taninos de acuerdo a la fuente de proteína puede también explicar la diferencia en la dosis óptima informada. En efecto, Zelter et. al., (1970) mostraron que el nivel mínimo de taninos de castaño que bloquea la descomposición de la proteína de torta de maní molido fue el doble de la que se utiliza para la proteína de la harina de poroto de soja.

## 9 Conclusión

**Podemos inferir a partir de los resultados que se obtuvieron de este trabajo que:**

- *La respuesta de los animales a los taninos no fue afectada por el nivel de proteína cruda de la dieta, sugiriendo que los taninos dietarios, en el nivel empleado en este ensayo, no alteran el metabolismo del Nitrógeno en forma sustancial.*
- *El aumento en el nivel de taninos en la dieta reduce la ingesta de materia seca, sin afectar la producción de leche.*
- *La eficiencia alimenticia (la producción de leche por unidad de materia seca ingerida) fue numéricamente mayor cuando se adicionaron taninos en la ración.*
- *El agregado de taninos a la ración incrementa el contenido de proteína verdadera en leche, respecto del control sin taninos.*
- *El rendimiento en proteína (Kg. /día) fue numéricamente superior para el caso de animales suplementados con taninos, y sobre todo al nivel del 0,45%.*
- *La suplementación con taninos resultó efectiva en la reducción de Amonio ruminal, sin ser afectada la respuesta por el nivel de proteína cruda, podemos sugerir que este efecto se debió a que los taninos ejercieron sobre las proteínas dietarias cierta acción de protección, resultados que se observaron al comparar los tratamientos con el control.*
- *La suplementación con taninos resultó efectiva también en la reducción del urea en leche y la excreción de nitrógeno en la orina, sugiriendo la alteración*



*de la fracción nitrogenada en la sangre de las vacas lecheras, situación que se acentuó, con el aumento de los niveles de taninos.*

● *A niveles superiores de taninos no se encontraron diferencias entre ellos, y con respecto al testigo. Mi conclusión en base a éste ensayo y a toda la bibliografía investigada, es que este resultado se debió, a que el ensayo se proyectó con dosis de por sí altas respecto de las dosis comercialmente utilizadas .Dosis altas de taninos producirían efectos aleatorios sobre los parámetros evaluados, y hasta en algún caso podrían ser negativos.*

---

***Por todo lo mencionado es que podemos concluir que la incorporación de una cierta cantidad de un mix de taninos hidrolizables y condensados en proporciones adecuadas, permiten obtener mejores resultados no solo en la performance productiva de vacas Holstein, sino que también nos permite tener un mejor y más eficiente balance de nitrógeno en el animal.***

---





## 10 Bibliografía

**AERTS, R.J.; BARRY, T.N. and McNABB, W.C. 1999.** Polyphenols and agriculture: beneficial effects of proanthocyanidins in forages. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 75, 1-12.

**AFRC. 1993.** *Energy and protein requirements of ruminants*. An advisory manual prepared by the AFRC Technical Committee on responses to nutrients. CAB International, Wallingford (Reino Unido).

**AHARONI, Y.; GILBOA, N. and SILANIKOVE, N. 1998.** Models of suppressive effect of tannins. Analysis of the suppressive effect of tannins on ruminal degradation by compartmental models. *Animal Feed Science and Technology*, 71, 251-267.

**AIELLO, E. (Ed.) 2000.** *El manual Merck de veterinaria* (5ª Edn.). Océano Grupo Editorial, Barcelona (España).

**ÁLVAREZ DEL PINO, M.C.; FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; GÓMEZ, A.; GIRÁLDEZ, F.J. y MANTECÓN, A.R. 2001.** Efecto del contenido de taninos en la degradación ruminal in vitro de varios órganos de especies arbustivas. *ITEA, Producción Animal*, 22, 355-357.

**AOAC. 1990.** *Official methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists* 15th ed., Arlington. 16th Edn. (5th revision). AOAC International, Gaithersburg, MD (Estados Unidos).

*Atti della prima settimana del castagno organizzata dalla camera di commercio di Cuneo*, Cuneo, 1922,

**ATWAL, A.S. 1994.** Protected proteins in dairy cattle nutrition. In: *Livestock production in the 21st Century. Priorities and research needs*. P.A. Thacker (Ed.), pp. 59-70. University of Saskatchewan (Canadá).



**BAE, H.D.; McALLISTER, T.A.; YANKE, J.; CHENG, K.-J. and MUIR, A.D. 1993.** Effects of condensed tannins on endoglucanase activity and filter paper digestion by *Fibrobacter succinogenes* S85. *Applied and Environmental Microbiology*, 59, 2132-2138.

**BALOGUN, R.O.; JONES, R.J. and HOLMES, J.H.G. 1998.** Digestibility of some tropical browse species varying in tannin content. *Animal Feed Science and Technology*, 76, 77- 88.

**BARRY, T.N. and BLANEY, B.J. 1987.** Secondary compounds of forages. In: *The nutrition of herbivores*. J.B. Hacker and J.H. Ternouth (Eds.), pp. 91-119. University of Queensland. Academic Press (Australia).

**BARRY, T.N. and DUNCAN, S.J. 1984.** The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 1. Voluntary intake. *British Journal of Nutrition*, 51, 485-491.

**BARRY, T.N. and MANLEY, T.R. 1984.** The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 2. Quantitative digestion of carbohydrates and proteins. *British Journal of Nutrition*, 51, 493-504.

**BARRY, T.N. and MANLEY, T.R. 1986.** Interrelationships between the concentrations of total condensed tannin, free condensed tannin and lignin in *Lotus* spp., their possible consequences in ruminant nutrition. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 37, 248-254.

**BARRY, T.N. and McNABB, W.C. 1999.** The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition*, 81, 263-272.

**BARRY, T.N.; ALLSOP, T.F. and REDEKOPP, C. 1986a.** The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 5. Effects on the endocrine system and on adipose tissue metabolism. *British Journal of Nutrition*, 56, 607-614.

**BARRY, T.N.; MANLEY, T.R. and DUNCAN, S.J. 1986b.** The role of condensed tannins in the nutritional value of *Lotus pedunculatus* for sheep. 4. Sites of carbohydrate and protein digestion as influenced by dietary reactive tannin concentration. *British Journal of Nutrition*, 55, 123-137.

**BATTAGLIA, L.** Ottimizzazione del processo industriale di estrazione di tannino al fine di ottenere preparati destinati all'uso enologico (tesi farmaceutica), Università degli studi di Pavia (2008).

**BEEVER, D.E. and SIDDON, R.C. 1986.** Digestion and metabolism in the grazing ruminant. In: *Control of digestion and metabolism in ruminants*. L.P. Milligan, W.L. Grovum and A. Dobson (Ed.), pp. 479-497. Prentice-Hall, Englewood Cliffs, NJ (Estados Unidos).

**BERNAYS, E.A.; COOPER DRIVER, G. and BILGENER, M. 1989.** Herbivores and plant tannins. In: *Advances in ecological research*. M. Begon, A.H. Fitter, E.D. Ford and A. MacFadyen (Eds.), pp. 263-302. Academic Press (Reino Unido).

**BIGNAMI, G.R.- SALSOTTO, A.** *La civiltà del castagno*, Cuneo, 1983.



**BRODERICK, G.A.; WALLACE, R.J. and ORSKOV, E.R. 1991.** Control of rate and extent of protein degradation. In: *Physiological aspects of digestion and metabolism in ruminants. Proceedings of the Seventh International Symposium on Ruminant Physiology*. T. Tsuda, Y. Sasaki and R. Kawashima (Eds.), pp. 541-592. Academic Press. Elsevier (Reino Unido).

**BROOKER, J.D.; O'DONOVAN, L.; SKENE, I. and SELICK, G. 2000.** Mechanisms of tannin resistance and detoxification in the rumen. In: *Tannins in livestock and human nutrition*. J.D. Brooker (Ed.), pp. 117-122. ACIAR Proceedings No. 92 (Australia).

**BUTTER, N.L.; DAWSON, J.M. and BUTTERY, P.J. 1999.** Effects of dietary tannins on ruminants. In: *Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding*. J.C. Caygill and I. Mueller-Harvey (Eds.), pp. 51-70. Nottingham University Press (Reino Unido).

**BUTTER, N.L.; DAWSON, J.M.; WAKELIN, D. and BUTTERY, P.J. 1998.** Effect of dietary tannin and protein level on the susceptibility of sheep to parasitic infection. In: *Proceedings of the British Society of Animal Science*, p. 97. British Society of Animal Science (BSAS), Edimburgo (Reino Unido).

**BUTTER, N.L.; DAWSON, J.M.; WAKELIN, D. and BUTTERY, P.J. 2000.** Effect of dietary tannin and protein concentration on nematode infection (*Trichostrongylus colubriformis*) in lambs. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 134, 89-99.

**CALLERI, L.** *Le fabbriche italiane di estratti di castagno. Appunti di storia dalle origini agli anni '80 del Novecento*, San Michele Mondovì, 1989.

**CANNIZZARO-LUZZATTI**, Medicamenta, IV ed., *Cooperativa Farmaceutica, Milano* 1933, 1269 ss.

**CANO, R.; CARULLA, J. and LASCANO C.E. 1994.** Métodos de conservación de muestras de forraje de leguminosas tropicales y su efecto en el nivel y en la actividad biológica de los taninos. *Pasturas Tropicales*, 16, 2-7.

**CHANEY, A.L. and MARBACH E.P. 1962.** Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin. Chem.* 8, 130-132.

**CHANDRASHEKAR, A., KIRLEI S, A. W. 1988.** Influence of protein on starch gelatinization in sorghum. *Cereal Chem.* 65:457-462.

**CHANDRASHEKAR, A.; MAZHAR, H. 1999.** The biochemical basis and implications of grain strength in sorghum and maize. *Journal of Cereal Science* 30:193-207.

**CHANEY, A. L.; MARBACH, E. P. 1962.** Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin Chem.* 8: 130-132

**CHIQUETTE, J.; CHENG, K. J.; COSTERTON, J.W. and MILLIGAN, L.P. 1988.** Effect of tannins on the digestibility of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus L.*) using *in vitro* and *in sacco* techniques. *Canadian Journal of Animal Science*, 68, 751-760.



**CLAUSEN, T.P.; PROVENZA, F.D.; BURRITT, E.A; REICHARDT, P.B. and BRYANT, J.P. 1990.** Ecological implications of condensed tannin structure: a case study. *Journal of Chemical Ecology*, 16, 2381-2392.

**COCHRAN, R.C.; ADAMS, D.C.; WALLACE, J.D. and GALYEAN M.L. 1986.** Predicting digestibility of different diets with internal markers: Evaluation of four potential markers. *J. Anim. Sci.* 63, 1476-1487.

**CROOKER, B.A.; CLARK, J.H. and SHANCS, R.D. 1983.** Effects of formaldehyde treated soybean meal on milk yield, milk composition and nutrient digestibility in the dairy cow. *Journal of Dairy Science*, 66, 492-504.

**CURÁ, J. A.; KRISMAN, C. R. 1990.** Cereal grains: a study of their  $\alpha$ -1,4 -  $\alpha$ -1,6 glucopolysaccharide composition. *Starch/Stärke* 5:171-175.

**DAWSON, J.M.; BUTTERY, P.J.; JENKINS, D.; WOOD, C.D. and GILL, M. 1999.** Effects of dietary quebracho tannin on nutrient utilisation and tissue metabolism in sheep and rats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79, 1423-1430.

**DELORT-LAVAL, J.; LEROY, F. and ZELTER, S.-Z. 1992.** Protection des protéines alimentaires contre la désamination bactérienne au niveau du rumen. III. Effect du tannage de la protéine du lait sur son devenir dans le rumen et son efficacité métabolique chez le mouton adulte a l'entretien. *Annales de Biologie Animale, Biochimie, Biophysique*, 12, 179-185.

**DEKKER, J.** *Die gerbstoffe*, Berlin, 1913.

**DRIEDGER, A. and HATFIELD. 1972.** Influence of tannins on the nutritive value of soybean meal for ruminants. *Journal of Animal Science*, 34, 465-468.

**DUMENSNY, NOYER.** *L'industrie chimique du bois*, Gauthiers-Villars, Paris, 1925.

**EGAN, A.R. and ULYATT M.J. 1980.** Quantitative digestion of fresh herbage by sheep. VI. Utilisation of nitrogen in five herbages. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 94, 47-56.

**EVERS, A. D.; BLAKENEY, A. B.; O'BRIEN, L. 1999.** Cereal structure and composition. *Aust. Journal Agriculture Res.* 50:629-650.

**FOLEY, W.J.; IASON, G.R. and McARTHUR, C. 1999.** Role of secondary metabolites in the nutritional ecology of mammalian herbivores: how far have we come in 25 years?. In: *Nutritional ecology of herbivores*. H-J.G. Jung and G.C. Fahey, Jr. (Eds.), pp. 130-209. American Society of Animal Science, Illinois (Estados Unidos).

**FRENCH, D. 1973.** Chemical and physical properties of starch. *Journal of Animal Science* 37: 1049-1061.

**FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; RAMOS, G.; GIRÁLDEZ, F.J. and MANTECÓN, A.R.** Condensed tannin content of several shrub species from a mountain area in northern Spain, and its relationship to various indicators of nutritive value. *Animal Feed Science and Technology* (en prensa).



**FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; RAMOS, G.; MANTECÓN, A.R. y GIRÁLDEZ, F.J. 2001.** La selección de la dieta: papel de los compuestos secundarios de las plantas. *Ovis*, 74, 81-101.

**GARÍN, I.; AZORÍN, J.; ALDEZÁBAL, A. y GARCÍA-GONZÁLEZ, R. 1996.** Implicaciones nutritivas del contenido en taninos en varias especies leñosas. Actas de la XXXVI Reunión Científica de la Sociedad Española para el Estudio de los Pastos, 293- 297. La Rioja (España).

**GILBOA, N.; PEREVOLOTSKY, A.; LANDAU, S.; NITSAN, Z. and SILANIKOVE, N. 2000.** Increasing productivity in goats grazing Mediterranean woodland and scrubland by supplementation of polyethylene glycol. *Small Ruminant Research*, 38, 183-190.

**GINER-CHAVEZ, B.I. 1996.** *Condensed tannins in tropical forages*. Ph.D. Thesis. Cornell University. Ithaca, NY (Estados Unidos).

**GONZALEZ, S.; CARULLA, J. and PABSN, M. 1998.** Effect of tannins on *in vitro* ruminal protein and dry matter degradation of soybean meal and ryegrass. *Journal of Animal Science*, 76, Suppl. 1, 346A / *Journal of Dairy Science*, 81, Suppl. 1, 346A.

**GONZÁLEZ-HERNÁNDEZ, M.P.; STARKEY, E.E. y KARCHESY, J. 1999.** Variación del contenido de taninos en plantas del monte gallego. *Pastos*, XXIX, 61-77.

**GRASSO, P., SANTOPRETE, G., DEL PEZZO, A.** *L'industria della concia e del cuoio*, Torino, 1992.

**HAGERMAN, A. E.; BUTLER, L. G. 1981.** The specificity of proanthocyanidin protein interactions. *J. Biol. Chem.* 256:4494-4497.

**HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. 1991.** Tannins and lignins. In: *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites. Vol I: The chemical participants*. G.A. Rosenthal and M.R. Berenbaum (Eds.), pp. 355-388. Academic Press, NY (Estados Unidos).

**HAGERMAN, A.E.; ROBBINS, C.T.; WEERASURIYA, Y.; WILSON, T.C. and McARTHUR, C. 1992.** Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45, 57-62.

**HAHN, D. H.; ROONEY, L. W.; EARP, C. F. 1984.** Tannins and phenols of sorghum. *Cereal Foods World*. 26:776-779.

**HANLEY, T.A.; ROBBINS, C.T.; HAGERMAN, A.E. and McARTHUR, C. 1992.** Predicting digestible protein and digestible dry matter in tannin-containing forages consumed by ruminants. *Ecology*, 73, 537-541.

**HARBORNE, J.B. 1993.** Feeding preferences of vertebrates, including man. In: *Introduction to ecological biochemistry* (4th Edn.). J.B. Harborne (Ed.), pp. 162-210. Academic Press (Reino Unido).

**HASLAM, E. 1994.** Complexation and oxidative transformation of polyphenols. *Polyphenols*, 94, Palma de Mallorca (España), May 23-27. Ed. INRA, Paris 1995 (*Les Colloques*, nº 69).



- HERVÁS, G.; ÁLVAREZ DEL PINO, M.C.; GIRÁLDEZ, F.J.; MANTECÓN, A.R. and FRUTOS, P. 2001.** Effect of two types of tannin, in the presence or absence of PEG, on *in vitro* rumen fermentation in goats. In: *9th Seminar of the FAO-CIHEAM sub-network on sheep & goat nutrition. Nutrition and feeding strategies of sheep and goats under harsh climates*, 8-10 November 2001. Hammamet (Tunissia), pp. 57. Institut National de la Recherche Agronomique de Tunisia (Túnez).
- HERVÁS, G.; FRUTOS, P. Y MANTECÓN, A.R. (2001).** Protección de suplementos proteicos frente a la degradación ruminal: Utilización de taninos. *Estación Agrícola Experimental (CSIC)*. APDO 788. 24080- León.
- HERVÁS, G.; FRUTOS, P.; SERRANO, E.; MANTECÓN, A.R. and GIRÁLDEZ, F.J. 2000b.** Effect of tannic acid on rumen degradation and intestinal digestion of treated soya bean meals in sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 135, 305-310.
- HIBBERD, C. A.; WAGNER, D. G.; SCHEMM, R. L.; MI TCHELL, E. D. Jr.; WEIBEL, D. E.; HINT Z, R. L. 1982a.** Digestibility characteristics of isolated starch from sorghum and corn grain. *Journal of Animal Science* 55(6): 1490-1497.
- HIBBERD, C. A., WAGNER, D. G., SCHEMM, R. L., MI TCHELL, E. D. Jr., HINT Z, R. L., WEI BEL, D. E. 1982b.** Nutritive characteristics of different varieties of sorghum and corn grain. *Journal Animal Science* 55:665-672.
- HIBBERD, C. A.; WAGNER, D. G.; HINT Z, R. L.; GRI FFIN, D. D. 1985.** Effect of sorghum grain variety and reconstitution on site and extent of starch and protein digestion in steers. *Journal Animal Science* 61:702-712.
- HINRICHSEN, Eisengallrtinte, Stoccarda, 1909.**
- HORIGONE, T.; KUMAR, R. and OKAMOTO, K. 1988.** Effects of condensed tannins prepared from leaves of fodder plants on digestive enzymes *in vitro* and in the intestine of rats. *British Journal of Nutrition*, 60, 275-285.
- HORVARTH, P.J. 1981.** The nutritional and ecological significance of acer-tannins and related polyphenols. Ms. Thesis, Cornell University, Ithaca, NY (Estados Unidos).
- HOWES, J. Vegetable tanning materials, Londres, 1953.**
- HUBBARD, J. E.; HALL, H. H.; EARLE, F. R. 1950.** Composition of the component parts of the sorghum kernel. *Cereal Chem.* 27:415-420.
- HUNTINGTON, G. B. 1997.** Starch utilization by ruminants: from basics to the bunk. *Journal Animal Science* 75:852-867.
- JACKSON, F.S.; McNABB, W.C.; BARRY, T.N.; FOO, Y.L. and PETERS, J.S. 1996.** The condensed tannin content of a range of subtropical and temperate forages and the reactivity of condensed tannin with ribulose-1,5-bis-phosphate carboxylase (Rubisco) protein. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 72, 483-492.
- JANSMAN, A.J.M. 1993.** Tannins in feedstuffs for simple stomached animals. *Nutrition Research Reviews*, 6, 209-236.



**JEAN-BLAIN, C. 1998.** Aspects nutritionnels et toxicologiques des tanins. *Revue Médecine Vétérinaire*, 149, 911-920.

**JONES, G.A.; McALLISTER, T.A.; MUIR, A.D. and CHENG, K.-J. 1994.** Effects of sainfoin (*Onobrychis viciifolia* Scop.) condensed tannins on growth and proteolysis by four strains of ruminal bacteria. *Applied and Environmental Microbiology*, 60, 1374-1378.

**JONES, W.T. and MANGAN, J.L. 1977.** Complexes of the condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis viciifolia*) with fraction 1 leaf protein and with submaxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 28, 126-136.

**KAUFMANN, W. and LÜPPING, W. 1982.** Protected proteins and protected amino acids for ruminants. In: *Studies in the agricultural and food sciences: protein contribution of feedstuffs for ruminants*. E.L. Miller, I.H. Pike and A.J.H. Van Es (Eds.), pp. 36-75. Butterworths. Londres (Reino Unido).

**KOBEISY, M.A.; BOECHM, J.; DIRL, G.; HOLTERSHINKEN, M. and LEIBETSEDER, J. 1999.** The influence of tannin on rumen metabolism using RUSITEC. *Journal of Animal Science*, 77, Suppl. 1, 87.

**KOBEISY, M.A.; BOEHM, J.; BUCHNER, A. and LEIBETSEDER, J. 2000.** The effect of tannin on milk yield and some blood constituents in dairy cattle. *Assiut Veterinary Medical Journal*, 43, 86-94.

**KOMOLONG, M.K.; BARBER, D.G. and McNEILL, D.M. 2001.** Post-ruminal protein supply and N retention of weaner sheep fed on a basal diet of lucerne hay (*Medicago sativa*) with increasing levels of quebracho tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 92, 59-72.

**KOTARSKI, S. F.; WANI SKA, R. D.; THURN, K. K. 1992.** Starch hydrolysis by the ruminal microflora. *Journal of Nutrition*. 122: 178-190.

**KRISMAN, C. R.; CURÁ, J. A. 1991.** Corn starch ( $\alpha 1,4-\alpha 1,6$ ) glucopolysaccharides – Correlation between amylose:amylopectin ratios and physical properties of the grains. *Starch/Stärke* .43:291-294.

**KUMAR, R. and D'MELLO, J.P.F. 1995.** Anti-nutritional factors in forage legumes. In: *Tropical legumes in animal nutrition*. J.P.F. D'Mello and C. Devendra (Eds.), pp. 95-133. CAB International, Wallingford (Reino Unido).

**KUMAR, R. and SINGH, M. 1984.** Tannins: their adverse role in ruminant nutrition. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 32, 447-453.

**LEE, J.; HARRIS, P.M.; SINCLAIR, B.R. and TREOLAR, B.P. 1992.** The effect of condensed tannin containing diets on whole body amino acid utilisation in Romney sheep: consequences on wool growth. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 52, 243-245.

**LEINMÜLLER, E.; STEINGASS, H. and MENKE, K.H. 1991.** Tannins in ruminant feedstuffs. *Biannual Collection of Recent German Contributions Concerning Development through Animal Research*, 33, 9-62.

**LENG, R.A. (Ed.) 1997.** *Tree foliage in ruminant nutrition*. FAO, Roma (Italia).



- LICHT ENWALNER, R. C.; ELLI S, E. B.; ROONEY, L. W. 1978.** Effect of incremental dosages of the waxy gene of sorghum on digestibility. *Journal Animal Science*. 46:1113-1119.
- LOPEZ COELLO, C. 2000.** Los taninos en la alimentación. *Ciência Animal Brasileira*, Jan/ jun, 1(1): 5-22.
- LOYOLA, V.R.; DOS SANTOS, G.T.; ZEOULA, L.M.; BETT, V. e TABORIANSKI, A.L. 1999.** Degradabilidade *in situ* do farelo de Canola tratado com calor e/ou tanino. *Revista Brasileira de Zootecnia*, 28, 598-604.
- MAGALHÃES, P. C. ; RODRIGUES, W. A. ; DURÃES, F. O. M. 2001.** Tanino no grão de sorgo. Bases fisiológicas e métodos de determinação.
- MAKKAR, H.P.S. 1993.** Antinutritional factors in foods for livestock. In: *Animal production in developing countries*. BSAS Occasional Publication No. 16. M. Gill, E. Owen, G.E. Pollot and T.L.J. Lawrence (Eds.), pp. 69-85. British Society of Animal Science (BSAS), Edimburgo (Reino Unido).
- MAKKAR, H.P.S.; SINGH, B. and DAWRA, R.K. 1988.** Effect of tannin-rich of oak (*Quercys incana*) on various microbial enzyme activities of the bovine rumen. *British Journal of Nutrition*, 60, 287-296.
- MANGAN, J.L. 1988.** Nutritional effects of tannins in animal feeds. *Nutrition Research Reviews*, 1, 209-231.
- MARTIN, M.M.; ROCKHOLM, D.C. and MARTIN, J.S. 1985.** Effects of surfactants, pH, and certain cations on precipitation of protein by tannins. *Journal of Chemical Ecology*, 4, 485-493.
- MARTÍNEZ, T.F.; BARROSO, F.G.; ALARCÓN, F.J.; MOYANO, F.J. y BARROS, A. 2002.** Mecanismo protector de los taninos frente a la digestion ruminal de la semilla de soja, 173-177.
- MATHIEU, F. and JOUNAY, J.P. 1993.** Effect of chestnut on the fermentability of soya bean meal nitrogen in the rumen. *Annales de Zootechnie*, 42, 127.
- MAXSON, E. D.; FRYAR, W. B.; ROONEY, L. W.; KRI SHNAPRASAD, M. N. 1971.** Milling properties of sorghum grain with different proportions of corneous to floury endosperm. *Cereal Chem.* 48:478-490.
- McALLISTER, T.A.; BAE, H.D.; YANKE, L.J.; CHENG, K.-J. and MUIR, A. 1994b.** Effect of condensed tannins from birdsfoot trefoil on the endoglucanase activity and the digestion of cellulose filter paper by ruminal fungi. *Canadian Journal of Microbiology*, 40, 298-305.
- McLEOD, M.N. 1974.** Plant tannins - Their role in forage quality. *Nutrition Abstracts and Reviews*, 44, 803-812.
- McMAHON, L.R.; McALLISTER, T.A.; BERG, B.P.; MAJAK, W.; ACHARYA, S.N.; POPP, J.D.; COULMAN, B.E.; WANG, Y. and CHENG, K.-J. 2000.** A review of the effects of forage condensed tannins on ruminal fermentation and bloat in grazing cattle. *Canadian Journal of Plant Science*, 80, 469-485.
- McNABB, W.C.; PETERS, J.S.; FOO, L.Y.; WAGHORN, G.C. and JACKSON,**



**S.J. 1998.** Effect of condensed tannins prepared from several forages on the in vitro precipitation of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase (rubisco) protein and its digestion by trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 77, 201-212.

**McSWEENEY, C.S.; KENNEDY, P.M. and JOHN, A. 1988.** Effect of ingestion of hydrolysable tannins in *Terminalia oblongata* on digestion in sheep fed *Stylosanthes hamata*. *Australian Journal of Animal Science*, 39, 235-244.

**McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; BUNCH, R. and KRAUSE, D.O. 1999b.** Isolation and characterization of proteolytic ruminal bacteria from sheep and goats fed tannin-containing shrub legume *Calliandra calothyrsus*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 3075-3083.

**McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; BUNCH, R. and KRAUSE, D.O. 2001a.** Effect of the tropical forage calliandra on microbial protein synthesis and ecology in the rumen. *Journal of Applied Microbiology*, 90, 78-88.

**McSWEENEY, C.S.; PALMER, B.; McNEILL, D.M. and KRAUSE, D.O. 2001b.** Microbial interactions with tannins: nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 83-93.

**MEHANSHO, H.; BUTLER, L.G. and CARLSON, D.M. 1987.** Dietary tannins and salivary proline-rich proteins: interactions, induction and defence mechanisms. *Annual Review of Nutrition*, 7, 423-440.

**MERTENS, D.R. 1999.** Variation of NDF results with modifications on the filter bag method. *National Forage Testing Association, Technical Session Papers and Committee Reports to the Board and Membership, June, Topeka, KS.*

**MEUNIER, L., Vaney, C.** La tannerie: étude, préparation et essai des matières premières. Théorie et pratique des différentes méthodes actuelles de tannage. *Examen des produits fabriqués, Paris, 1951.*

**MIN, B.R.; ATTWOOD, G.T.; McNABB, W.C. and BARRY, T.N. 2001.** Effect of condensed tannins on proteolytic bacterial populations in the rumen and on nitrogen flow to the abomasum of sheep. *Journal of Animal Science*, 79, Suppl. 1, 163.

**MITARU, B.N.; REICHERT, R.D. and BLAIR, R. 1984.** The binding of dietary protein by sorghum tannins in the digestive tract of pigs. *Journal of Nutrition*, 114, 1787-1796.

**MITCHELL.** *Griffin & Co., Londra, 1924.*

**MITJAVILA, S.; LACOMBE, C.; CARRERA, G. and DERACHE, R. 1977.** Tannic acid and oxidized tannic acid on the functional state of rat intestinal epithelium. *Journal of Nutrition*, 107, 2113-2121.

**MOLAN, A.L.; ATTWOOD, G.T.; MIN, B.R. and McNABB, W.C. 2001.** The effect of condensed tannins from *Lotus pedunculatus* and *Lotus corniculatus* on the growth of proteolytic rumen bacteria in vitro and their possible mode of action. *Canadian Journal of Microbiology*, 47, 626-633.



- MOLAN, A.L.; McNABB, W.C.; WAGHORN, G.C. and MIN, B.R. 1998.** The effect of condensed tannins from two *Lotus pedunculatus* on *in vitro* protein degradation, bacterial growth and nematode laval migration. In: *The 8th World Conference on Animal Production*. Proceedings, Contributed papers - Vol. I, 2-3.
- MOLE, S. and WATERMAN, P.G. 1987.** Tannic acid and proteolytic enzymes: enzyme inhibition or substrate deprivation?. *Phytochemistry*, 26, 99-102.
- MONTIEL, D.** Digestion ruminal del grano de sorgo en vacunos. Efectos del genotipo y procesamiento (tesis de Magister Scientiae) Universidad Nacional de Mar del Plata (2003).
- MONTOSSI, F.M.; HODGSON, J.; MORRIS, S.T. and RISSO, D.F. 1996.** Effects of the condensed tannins on animal performance in lambs grazing Yorkshire fog (*Holcus lanatus*) and annual ryegrass (*Lolium multiflorum*) dominant swards. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 56, 118-121.
- MUELLER-HARVEY, I. 1999.** Tannins: their nature and biological significance. In: *Secondary plants products. Antinutritional and beneficial actions in animal feeding*. J.C. Caygill and I. Mueller-Harvey (Eds.), pp. 17-70. Nottingham University Press (Reino Unido).
- MUELLER-HARVEY, I. and McALLAN, A.B. 1992.** Tannins. Their biochemistry and nutritional properties. In: *Advances in plant cell biochemistry and biotechnology*. Vol. 1. I.M. Morrison (Ed.), pp. 151-217. JAI Press Ltd., Londres (Reino Unido).
- MUIR, L.A.; WIEN, S.; DUQUETTE, P.F.; RICKES, E.L. and CORDES, E.H. 1983.** Effect of exogenous growth hormone and diethylstilbestrol on growth and carcass composition of growing lambs. *Journal of Animal Science*, 56, 1315-1323.
- NARJISSE, H.; ELHONSALI, M.A. and OLSEN, J.D. 1995.** Effects of oak (*Quercus ilex*) tannins on digestion and nitrogen balance in sheep and goats. *Small Ruminant Research*, 18, 201-206.
- NELSON, K.E. 1996.** *Tannins and ruminal bacteria*. Ph.D. Thesis. Cornell University, Ithaca, NY (Estados Unidos).
- NELSON, K.E.; PELL, A.N.; DOANE, P.H.; GINER-CHAVEZ, B.I. and SCHOFIELD, P. 1997.** Chemical and biological assays to evaluate bacterial inhibition by tannins. *Journal of Chemical Ecology*, 23, 1175-1194.
- NIERENSTEIN, M.** *Incunable of tannin chemistry*, Londres, 1932.
- NIEZEN, J.H.; WAGHORN, T.S.; CHARLESTON, W.A.G. and WAGHORN, G.C. 1995.** Growth and gastrointestinal nematode parasitism in lambs grazing either lucerne (*Medicago sativa*) or sulla (*Hedysarum coronarium*) with contains condensed tannins. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 125, 281-289.
- NOCEK, J. E.; TAMMINGA, S. 1991.** Site of digestion of starch in the gastrointestinal tract of dairy cows and its effect on milk and composition. *Journal of Dairy Science* 74:3598-3629.
- NRC. 2001.** *Nutrient Requirements of Dairy Cattle* (7th Revised Edn.).



Subcommittee on Dairy Cattle Nutrition. Committee on Animal Nutrition. National Research Council (Estados Unidos).

**NSAHLAI, I.V.; SIAW, D.E.K.A. and UMUNNA, N.N. 1995.** Inter-relationships between chemical constituents, rumens dry matter and nitrogen degradability in fresh leaves of multipurpose trees. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69, 235-246.

**OH, H.I. and HOFF, J.E. 1986.** Effect of condensed grape tannins on the *in vitro* activity of digestive proteases and activation of their zimogenes. *Journal of Food Science*, 51, 577-580.

**OSER, B.L. 1965.** Hawk's Physiological Chemistry. 14th ed. McGraw-Hill, New York, NY.

**PACE, V.; SETTINERI, D. e CATILLO, G. 1993.** Influencia di trattamenti con tannini sulla digestibilità *in vitro* della farina di soia. *Zootecnia i Nutricion Animali*, 19, 73-79.

**PAN, S. and MAITRA, D.N. 1991.** Comparative efficiency of tannic acid and salseed tannin treatment in reducing solubility of groundnut-cake protein. *Indian Journal of Animal Science*, 61, 563-566.

**PAN, S. and MAITRA, D.N. 1992.** Rumen metabolism of protein treated with salseed tannins or tannic acid. *Indian Veterinarian Journal*, 69, 224-227.

**PEREVOLOTSKY, A. 1994.** Tannins in Mediterranean woodlands species: lack of response to browsing and thinning. *Oikos*, 71, 333-340.

**PEREZ-MALDONADO, R.; NORTON, B.W. and KERVEN, G.L. 1995.** Factors affecting *in vitro* formation of tannin-protein complexes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69, 291-298.

**PEREZ-MALDONADO, R.A. and NORTON, B.W. 1996b.** The effects of condensed tannins from *Desmonium intortum* and *Calliandra calothyrsus* on protein and carbohydrate digestion in sheep and goats. *British Journal of Nutrition*, 76, 515-533.

**RASO, M.; FRUTOS, P.; HERVÁS, G.; GIRÁLDEZ, F.J. y MANTECÓN, A.R. 2001.** ¿Existe algún efecto negativo en el cebo de corderos cuando se incluyen taninos hidrolizables, como aditivos, en el pienso?. *ITEA, Producción Animal*, 22, 268-370.

**REED, J.D. 1995.** Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *Journal of Animal Science*, 73, 1516-1528.

**RHOADES, D.F. 1979.** Evolution of plant chemical defence against herbivores. In: *Herbivores: their interactions with secondary plant metabolites*. G.A. Rosenthal and D.H. Janzen (Eds.), pp. 3-54. Academic Press, Nueva York (Estados Unidos).

**ROBERTSON, H.A.; NIEZEN, J.H.; WAGHORN, G.C.; CHARLESTON, W.A.G. and JINLONG, M. 1995.** The effect of six herbage on liveweight gain, wool growth and faecal egg count of parasitised ewe lambs. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 55, 199-201.



- ROBINSON, P.H. 1996.** Rumen protected amino acids for dairy cattle: what is the future? *Animal Feed Science and Technology*, 59, 81-86.
- ROONEY, L. W.; PFULGFELDER, R. L. 1986.** Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *Journal Animal Science* 63:1067-1623.
- ROWE, J. B.; CHOCT, M., PETHICK, D. W. 1999.** Processing cereal grains for animal feeding. *Aust. J. Agric. Res.* 50:721-736.
- SABA, W. J. ; HALE, W. H. ; THEURER, B. 1972.** *In vitro* rumen fermentation studies with a bird resistant sorghum grain. *Journal Animal Science.* 35:1076-1082.
- SCALBERT, A. 1991.** Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30, 3875-3883.
- SCHOFIELD, P.; MBUGUA, D.M. and PELL, A.N. 2001.** Analysis of condensed tannins: a review. *Animal Feed Science and Technology*, 91, 21-40.
- SCHWAB, C.G. 1995.** Protected proteins and amino acids for ruminants. In: *Biotechnology in animal feeds and animal feeding.* R.J. Wallace and A. Chesson (Eds.), pp. 115-141. V.C.H. Press, Weinheim (Alemania).
- SCHWYZER, 1975.** *Die fabrication pharmazeutischer*, Springer, .
- SECKINGER, H. L.; WOLF, M. J. 1973.** Sorghum protein ultrastructure as it relates to composition. *Cereal Chem.* 50: 455-465.
- SERRANO, E.; GIRÁLDEZ, F.J.; FRUTOS, P.; MANTECÓN, A.R. y CADÓRNIGA, C. 1997.** Efecto del tratamiento térmico y de la adición de dextrosa sobre la utilización digestiva de la harina de soja. *ITEA, Producción Animal*, 18, 148-150.
- SILANIKOVE, N. 2000.** The physiological basis of adaptation in goats to harsh environments. *Small Ruminant Research*, 35, 181-193.
- SILANIKOVE, N.; GILBOA, N.; NIR, I.; PEREVOLOTSKY, A. and NITSAN, Z. 1996a.** Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Quercus calliprinos*, *Pistacia lentiscus*, and *Ceratonia siliqua*) by goats. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 44, 199-205.
- SILANIKOVE, N.; NITSAN, Z. and PEREVOLOTSKY, A. 1994.** Effect of a daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Ceratonia siliqua*) by sheep. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 42, 2844-2847.
- SINGH, B.; BHAT, T.K. and SHARMA, O.P. 2001.** Biodegradation of tannic acid in an in vitro ruminal system. *Livestock Production Science*, 68, 259-262.
- SPIER, S.J.; SMITH, B.P.; SEAWRIGHT, A.A.; NORMAN, B.B.; OSTROWSKI, S.R. and OLIVER, M.N. 1987.** Oak toxicosis in cattle in northern California: clinical and pathologic findings. *Journal American Veterinary Medical Association*, 191, 958 964.



- STREETER, M. N.; WAGNER, D. G.; HIBBERD, C. A.; OWENS, F. N. 1990.** The effect of sorghum grain variety on site and extent of digestion in beef heifers. *Journal Animal Science* 68:1121-1132.
- SULLINS, R. D.; ROONEY, L. W. 1974.** Microscopic evaluation of the digestibility of sorghum lines that differ in endosperm characteristics. *Cereal Chem.* 51:134-142.
- SULLINS, R. D.; ROONEY, L. W. 1975.** Light and scanning electron microscopic studies of waxy and nonwaxy endosperm sorghum varieties. *Cereal Chem.* 52:361-366.
- SWAIN, T. 1977.** Secondary compounds as protective agents. *Annual Review of Plant Physiology* 28, 479-501.
- TAYLOR, J. R. N.; SCHÜSSLER, L.; van der WALT, H. 1984.** Fractionation of proteins from low-tannin sorghum grain. *J. Agric. Food Chem.* 32: 149-154.
- THATCHER, J. 1921.** *The Chemistry of Plant Life*, NY-Londres, 1921.
- TOPPS, J.H. 1992.** Potential, composition and use of legume shrubs and trees as fodders for livestock in the tropics. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 118, 1-8.
- VALADARES, R.F.D.; BRODERICK, G.A.; VALADARES FILHO S.C. and CLAYTON M.K. 1999.** Effect of replacing alfalfa silage with high moisture corn on ruminal protein synthesis estimated from excretion of total purine derivatives. *Journal of Dairy Science*, 82, 2686-2696.
- VAN BARNEVELD, S. L. 1999.** Chemical and physical characteristics of grains related to variability in energy and amino acid availability in ruminants: a review. *Aust. J. Agric. Res.* 50:651-666.
- VAN DER AAR, P.J.; BERGER, L. L.; FAHEY, G.C. and MERCHEN, W. E. 1984.** Effect of alcohol treatments of soyabean meal on ruminal escape of soyabean meal protein. *Journal of Animal Science*, 59, 483-489.
- VAN SOEST, P. J. 1982.** *Nutritional ecology of the ruminant*. O & B Books, Cornallis, Oregon, USA
- VAN SOEST, P.J. 1994.** *Nutritional Ecology of the ruminant* (2nd Edn.). Cornell University Press. Ithaca, NY (Estados Unidos).
- VAN STRAALLEN, W.M. and TAMMINGA, S. 1990.** Protein degradation of ruminant diets. In: *Feedstuff evaluation*. J. Wiseman and D.J.A. Cole (Eds.), pp. 55-72. Butterworths. Londres (Reino Unido). Vocabolario della lingua italiana, vol. IV, ed. Treccani, Milano, 1996, 730 ss.
- VIRUPAKSHA, T. K.; SASTRY, L. V. S. 1968.** Studies on the protein content and amino acid composition of sorghum grain. *J. Agr. Food Chem.* 16:199-203.
- VON KEYSERLINGK, M.A.G.; WEURDING, E.; SWIFT, M.L.; WRIGHT, C.F.; SHELFORD, J.A. and FISHER, L.J. 2000.** Effect of adding lignosulfonate and heat to canola screenings on ruminal and intestinal disappearance of dry matter and crude protein. *Canadian Journal of Animal Science*, 80, 215-219.
- WAGHORN, G. 1996.** Condensed tannins and nutrient absorption from the small



intestine. In: *Proceedings of the Canadian Society of Animal Science*, 175-194.

**WAGHORN, G.C. and SHELTON, I.D. 1995.** Effect of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* value of ryegrass (*Lolium perenne*) fed to sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 125, 291-297.

**WAGHORN, G.C. and SHELTON, I.D. 1997.** Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* on the nutritive value of pasture for sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 128, 365-372.

**WAGHORN, G.C.; JOHN, A.; JONES, W.T. and SHELTON, I.D. 1987a.** Nutritive value of *Lotus corniculatus* L. containing low and medium concentrations of condensed tannins for sheep. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 47, 25-30.

**WAGHORN, G.C.; JONES, W.T.; SHELTON, I.D. and McNABB, W.C. 1990.** Condensed tannins and the nutritive value of herbage. *Proceedings of the New Zealand Grassland Association*, 51, 171-176.

**WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D. and McNABB, W.C. 1994a.** Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* its nutritive value for sheep. 1. Non-nitrogenous aspects. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 123, 99-107.

**WAGHORN, G.C.; SHELTON, I.D.; McNABB, W.C. and McCUTCHEON, S.N. 1994b.** Effects of condensed tannins in *Lotus pedunculatus* its nutritive value for sheep. 2. Nitrogenous aspects. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 123, 109-119.

**WAGHORN, G.C.; ULYATT, M.J.; JOHN, A. and FISHER, M.T. 1987b.** The effect of condensed tannins on the site of digestion of amino acids and other nutrients in sheep fed on *Lotus corniculatus* L. *British Journal of Nutrition*, 57, 115-126.

**WALL, J. S.; BLESSIN, C. W. 1970.** Composition of sorghum plant and grain. In: WALL, J. S. y ROSS, W. M. (eds). *Sorghum production and utilization*. AVI Publishing Co, W, Conn. Westport. 702pp.

**WALLACE, R.J., 1994.** Amino acid and protein synthesis, turnover, and breakdown by rumen, micro-organisms. En: *Protein Metabolism in Ruminants*. Asplund, J.M. (ed.) CRC Press, Boca Raton, florida, págs. 71-111.

**WALTZ, D.M. and LOERCH, S.C. 1986.** Effect of acid and alkali treatment of soyabean meal on nitrogen utilisation by ruminants. *Journal of Animal Science*, 63, 879-887.

**WANG, Y.; DOUGLAS, G.B.; EAGHORN, G.C.; BARRY, T.N.; FOOTE, A.G. and PURCHAS, R.W. 1996a.** Effect of condensed tannins upon the performance of lambs grazing *Lotus corniculatus* and lucerne (*Medicago sativa*). *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 126, 87-98.

**WANG, Y.; DOUGLAS, G.B.; WAGHORN, G.C.; BARRY, T.N. and FOOTE, A.G. 1996b.** Effect of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon lactation performance in ewes. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 126, 353-362.

**WANG, Y.; WAGHORN, G.C.; DOUGLAS, G.B.; BARRY, T.N. and WILSON,**



**G.F. 1994.** The effects of the condensed tannin in *Lotus corniculatus* upon nutrient metabolism and upon body and wool growth in grazing sheep. *Proceeding of the New Zealand Society of Animal Production*, 54, 219-222.

**WANG, Y.; WAGHORN, G.C.; McNABB, W.C.; BARRY, T.N.; HEDLEY, M.J. and SHELTON, I.D. 1996c.** Effects of condensed tannins in *Lotus corniculatus* upon the digestion of methionine and cysteine in the small intestine of sheep. *Journal of Agricultural Science, Cambridge*, 127, 413-421.

**WANISKA, R. D. 2000.** Structure, phenolic compounds, and antifungal proteins of sorghum caryopses. Pág. 72-106. In: Technical and Institutional Options for Sorghum Grain Mold Management: Proceeding of an International Consultation, 18-19 May 2000, ICRISAT, Patancheru, India (Chandrashekar, A., Bandyopadhyay, R., and Hall, A. J., eds.). 299 pp.

**WONG, E. 1973.** *Plant phenolics*. In: G.W. Butler and R.W. Bailey (Ed.) *Chemistry and Biochemistry of Herbage*. Vol. 1 pp: 265-322. Academic Press. Londres.

**WWW.EC.EUROPA.EU/FOOD.** Octubre, 2010.

**ZELTER S.Z., LEROY F. TISSIER J.P. 1970.** Protection des protéines alimentaires contre la désamination bactérienne dans le rumen, *Ann. Biol. Anim. Biochem. Biophys.* 10, 111-122.

**ZHU, J. and FILIPPICH, L.J. 1995.** Acute intra-abomasal toxicity of tannic acid in sheep. *Veterinary and Human Toxicology*, 37, 50-54.

**ZIMMER, N. and CORDESSE, R. 1996b.** Digestibility and ruminal digestion of nonnitrogenous compounds in adult sheep and goats: effects of chestnut tannins. *Animal Feed Science and Technology*, 61, 259-273.

**ZIMMER, N.; CORDESSE, R. 1996a.** Influence des tanins sur la valeur nutritive des aliments chez les ruminants. *INRA Productions Animales*, 9, 167-179.

**ZUCKER, W.V. 1983.** Tannins: does structure determine function? An ecological perspective. *The American Naturalist*, 121, 335-365.

