

# DESACTIVACIÓN DE TANINOS EN GRANO HÚMEDO DE SORGO CON POLIETILENGLICOL O UREA#

## DEACTIVATION OF TANNIN IN HIGH-MOISTURE SORGHUM GRAIN WITH POLYETHYLENE GLYCOL OR UREA

Montiel, M.D.<sup>1\*</sup>, Elizalde, J.C.<sup>1A</sup>, Santini, F.<sup>1B</sup> y Giorda, L.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Unidad Integrada EEA INTA Balcarce. Facultad de Ciencias Agrarias. UNMdP. Balcarce. Buenos Aires. Argentina. \*dmontiel@balcarce.inta.gov.ar; <sup>A</sup>jelizalde@arnet.com.ar; <sup>B</sup>fsantini@balcarce.inta.gov.ar  
<sup>2</sup>EEA INTA Manfredi. Manfredi. Córdoba. Argentina. sorgosmanfredi@gmail.com

### PALABRAS CLAVES ADICIONALES

Inactivación de taninos. Digestibilidad aparente. AGV. N amoniacal.

### ADDITIONAL KEYWORDS

Tannins inactivation. Apparent digestibility. VFA. Ammonia N.

### RESUMEN

Se realizó un ensayo *in vivo* para estudiar el efecto del polietilenglicol 4000 (PEG-4000) o la urea sobre la digestibilidad aparente y las características de la fermentación ruminal de bovinos alimentados con grano húmedo de sorgo con alto contenido de taninos. Los tratamientos quedaron generados de la siguiente manera: sorgo no tratado o testigo (T), sorgo tratado con 1 g PEG/g PB del grano (P) y sorgo tratado con 2% urea en base a la materia seca (U). Se utilizaron tres novillos ( $312 \pm 38$  kg PV) fistulados de rumen en un diseño cuadrado latino con 3 animales y 3 períodos experimentales donde consumieron una dieta con 70% de grano de sorgo de acuerdo a los tratamientos. Se estimó la digestibilidad aparente *in vivo* de la dieta y se caracterizó el ambiente ruminal y metabólico de los animales. Los tratamientos P y U generaron respuestas positivas, aumentando ( $p < 0,05$ ) la digestión total *in vivo* de la dieta. Además, produjeron una disminución ( $p < 0,05$ ) del pH ruminal y aumentaron las concentraciones de nitrógeno amoniacal ( $\text{NH}_3\text{-N}$ ) y de urea en plasma ( $p < 0,05$ ). La adición de PEG-4000 incrementó ( $p < 0,05$ ) la concentración de AGV totales; la relación acético/propiónico fue menor ( $p < 0,05$ ) en

los tratamientos P y U. Las dietas que contenían granos con PEG-4000 y urea modificaron las proporciones molares de propiónico y valérico, sin alterar las de acético, butírico e isovalérico. La utilización de PEG-4000 y urea es efectiva para disminuir los efectos detrimentales de los taninos condensados del grano de sorgo, aumentando la digestión de la dieta y modificando los parámetros ruminales y plasmáticos de los animales.

### SUMMARY

An *in vivo* experiment was carried out to study the effect of polyethylene glycol-4000 (PEG-4000) or urea on apparent digestibility and ruminal fermentation characteristics in bovine fed high tannin high moisture sorghum grain. The treatments were generated as follows: sorghum untreated or control (T), sorghum treated with 1 g PEG/g CP of grain (P) and sorghum treated with 2% urea based on dry matter (U). Three ruminally fistulated steers ( $312 \pm 38$  kg BW) which consumed a diet with 70% sorghum grain were assigned according to treatment to a Latin square design (three animals and three experimental periods). *In vivo* apparent digestibility of the diet and ruminal and blood parameters were measured. The grain treatments with PEG-4000 or urea generated positive responses, increasing ( $p < 0.05$ ) *in vivo* total digestion of the diet. In addition, they decreased ( $p < 0.05$ ) ruminal pH and increased the concen-

#Esta publicación es un requisito parcial para la obtención del grado académico de Doctor en Ciencias Agrarias de M.D. Montiel en el Programa de Posgrado de la Unidad Integrada Balcarce, Buenos Aires, Argentina.

Recibido: 6-9-10. Aceptado: 7-11-11.

Arch. Zootec. 61 (234): 235-244. 2012.

tration of  $\text{NH}_3\text{-N}$  in the rumen in accordance with a higher concentration of urea in plasma ( $p < 0.05$ ). The PEG-4000 increased ( $p < 0.05$ ) total VFA concentration; acetate/propionate ratio was lower ( $p < 0.05$ ) in animals under P and U treatments. The diets containing grains with PEG-4000 or urea modified molar ratios of propionic and valeric, without altering those of acetic, butyric and isovaleric. The use of substances such as PEG-4000 and urea is effective in reducing the detrimental effects of condensed tannins in sorghum grain, increasing the digestibility of the diet and changing ruminal and blood parameters of the animals.

## INTRODUCCIÓN

El grano de sorgo presenta un importante potencial para los sistemas de alimentación de bovinos, pero existen en el mercado varios cultivares con altos niveles de compuestos secundarios como los taninos condensados (Hahn y Rooney, 1986). Los taninos condensados son sustancias polifenólicas que poseen la capacidad de formar complejos insolubles con las proteínas, lo cual provoca una disminución de su digestibilidad (Cabral Filho, 2004). Altos niveles de taninos en un alimento pueden disminuir el consumo voluntario (Landau *et al.*, 2000), la digestibilidad de los nutrientes y la retención del N (Silanikove *et al.*, 1994).

Se han estudiado sustancias como el polietilenglicol y la urea, con el objeto de disminuir el efecto detrimental de los taninos a través de la desactivación de los mismos. El polietilenglicol con un peso molecular de 4000 (PEG-4000), es un detergente no iónico, soluble en agua, que forma complejos insolubles con los taninos condensados en un amplio rango de pH (2-8,5) (Jones y Mangan, 1977; Silanikove *et al.*, 1996). Dicha sustancia puede evitar la formación o desplazar a la proteína del complejo proteína-tanino (Silanikove *et al.*, 2001). La utilización de PEG-4000 para secuestrar taninos en granos de sorgos secos ha sido probada con éxito en ensayos de alimentación realizados en ratas y pollos, y también en pruebas *in*

*vitro*, aumentando la digestibilidad de la fracción proteica en sorgos con alto contenido de taninos (Ford y Hewitt, 1979; Sandoval Castro *et al.*, 2003).

La urea también ha sido utilizada para disminuir el efecto negativo de los taninos. Varios autores indicaron que el tratamiento con urea sobre un grano húmedo de sorgo con alto contenido de taninos, proporciona una adecuada conservación en aerobiosis y además inactiva rápidamente los taninos mejorando la digestibilidad *in vitro* (Russell *et al.*, 1988; Russell y Lolley, 1989).

El objetivo del presente trabajo fue comparar el efecto sobre la digestibilidad aparente *in vivo* de las materias seca y orgánica, proteína bruta y almidón de las dietas suministradas a bovinos cuando se tratan con PEG-4000 o urea los silajes de grano húmedo de sorgo con alto contenido de taninos.

## MATERIAL Y MÉTODOS

El experimento se realizó en el Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), Estación Experimental Agropecuaria Balcarce (provincia de Buenos Aires, Argentina; 37°45' latitud sur, 50°18' longitud oeste).

Se ha llevado a cabo un ensayo diseñado en cuadrado latino con 3 animales, que consumieron una dieta basada en grano de sorgo ensilado, modificado de acuerdo a los tratamientos, y 3 periodos experimentales.

Para confeccionar los silajes de grano húmedo se utilizó el híbrido de sorgo alto en taninos DA49®, sembrando a 50 cm entre hileras con una densidad de 6 semillas por metro lineal de surco. Cuando los granos alcanzaron el 35% de humedad fueron cosechados, molidos con una máquina embutidora de granos y colocados dentro de tanques de cemento de 1 m<sup>3</sup> donde se produjo el proceso de ensilado, la incorporación o no de polietilenglicol y urea, según tratamiento, y su conservación.

En el momento de la confección de los silajes quedaron definidos los tres tratamientos:

## DIGESTIÓN TOTAL APARENTE Y METABOLISMO RUMINAL EN BOVINOS

1. Testigo (T): grano ensilado.
2. Tratamiento con PEG-4000 (P): grano ensilado con la adición de 1g de PEG-4000/g de proteína bruta (PB) del grano.
3. Tratamiento con urea (U): grano ensilado con la adición de 2% de urea en base a la materia seca (MS) del grano.

Los tratamientos entre períodos se distribuyeron en forma aleatoria de manera tal que en cada período estaban presentes los tres tratamientos. A cada animal se le asignó al azar cada tratamiento (T, P y U) en los diferentes períodos.

Para determinar la digestibilidad aparente *in vivo* se utilizaron tres novillos Aberdeen Angus de  $312 \pm 38$  kg de peso vivo, provistos de una cánula ruminal (11 cm de diámetro interno). Los animales fueron operados bajo anestesia total para la colocación de las cánulas. Durante el experimento, se alojaron en corrales individuales con piso de cemento y libre acceso al agua fresca. Diariamente se higienizaban los corrales para sacar restos de orina y materia fecal, y se reciclaba completamente el agua de bebida.

La dieta estuvo compuesta (base MS) por: 70% de grano húmedo de sorgo (adicionado o no de PEG-4000 o de urea, de acuerdo al tratamiento), 14% de afrechillo de trigo, 6% de harina de soja, 9% de heno de alfalfa y 1% núcleo vitamínico-mineral con monensina. Para que las raciones resultasen isoproteicas los tratamientos P y T fueron corregidos con urea al momento del suministro de la ración, alcanzando todas las dietas un valor de PB total del 13,4%.

Al principio de cada período experimental se tomaron muestras representativas de cada uno de los granos para realizar las siguientes determinaciones: materia orgánica (MO, AOAC, 1995), almidón (AOAC, 1995), digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS, usando el sistema de incubación Daisy II (Ankom Technology, Macedon, NY)), pH (Baron *et al.*, 1986),  $N-NH_3/N$  total (Chaney y Marbach, 1962) y taninos por el método de Folin-Denis

(Magalhães *et al.*, 2001). La PB se determinó por combustión total de la muestra en atmósfera de oxígeno ultrapuro en un equipo LECO FP528; posteriormente se multiplica el valor obtenido de la combustión (N) por el factor 6,25 (Horneck y Miller, 1998).

Cada período experimental constó de 20 días, divididos en dos fases. La primera fase (fase pre-experimental) tuvo una duración de 16 días, durante los cuales los animales fueron acostumbrados a cada uno de los tratamientos ofreciéndoles la ración en partes iguales a las 8:00 y 20:00 horas. En este período se evaluó el consumo potencial (*ad libitum*) de cada animal durante cuatro días consecutivos (días 13, 14, 15 y 16 del período), estimándose por diferencia entre oferta y rechazo. A partir de dicho registro se fijó el consumo al 95% del consumo potencial para asegurar la ingesta total de todos los componentes de la dieta. En la segunda fase (fase experimental), cuya duración fue de 4 días, se efectuó el correspondiente registro de las variables en estudio.

Para estimar la producción total de heces se utilizó óxido crómico ( $Cr_2O_3$ ) como marcador externo, suministrándose 10 g de  $Cr_2O_3$ /animal/día y utilizando como vehículo el afrechillo de trigo que fue granulado junto con el marcador. Se recolectaron 4 muestras de heces por día cada 6 horas durante tres días consecutivos, desplazando en 2 horas el inicio del muestreo entre días a fin de obtener una muestra compuesta cada dos horas durante un período de 24 horas. Sobre las muestras de heces se determinó la MS, MO, PB, almidón y la concentración de Cr usando el método de López *et al.* (1988), citado y descrito por Vicente *et al.* (2004). Las muestras de heces fueron incineradas a  $500^\circ C$  y posteriormente tratadas con  $HNO_3$ , hirviendo dicha mezcla durante tres minutos. Luego fueron diluidas con agua, filtradas y almacenadas hasta su posterior análisis. La curva de calibración se realizó generando soluciones con concentraciones conocidas de Cr a las que se les agregaban heces que no lo contenían. Las

determinaciones de Cr se realizaron mediante espectrofotometría de absorción atómica.

La producción total de heces se estimó mediante la siguiente relación  $\text{g Cr}_2\text{O}_3$  suministrado por día/concentración  $\text{Cr}_2\text{O}_3$  en heces. A partir de dichos resultados se determinaron los coeficientes de digestibilidad aparente *in vivo* de la MS, MO, PB y almidón de las dietas con la fórmula propuesta por Schneider y Flatt (1975).

donde:

Coeficiente de digestibilidad y (%) =  $[(\text{g y consumido} - \text{g y en heces})/\text{g y consumido}] * 100$

donde:

y: es el nutriente a evaluar (MS, MO, PB o almidón).

Debido a que el PEG-4000 es indigestible y no absorbible, previo al cálculo de la digestibilidad de la MS se restó a la producción de heces el consumo de PEG-4000.

Durante el último día de la fase experimental se extrajeron muestras de líquido ruminal cada 4 horas durante un período de 24 horas para determinar inmediatamente el pH (Orion pH-metro portátil 250<sup>a</sup>, Orion Research Inc., Boston, MA). Una muestra de 4 mL de ese líquido fue acidificada con 4 mL de HCL 0,2N, posteriormente fue centrifugada para determinar en el sobrenadante la concentración de nitrógeno amoniacal (N-NH<sub>3</sub>) por espectrofotometría (Chaney y Marbach, 1962). Las muestras de líquido ruminal destinadas a la estimación de AGV fueron acidificadas con SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub> (100 mL líquido ruminal con 1 mL de SO<sub>4</sub>H<sub>2</sub>). La determinación de ácidos grasos volátiles se realizó en un cromatógrafo de gases (Shimadzu modelo GC-14) con N<sub>2</sub> como transportador (Friggens *et al.*, 1998).

Se extrajeron muestras de sangre de cada animal de la vena yugular instantes antes del suministro de cada comida durante el último día de cada período experimental. La sangre fue recogida en tubos que contenían heparina y posteriormente centrifugada a 3000 x g durante 15 min. Con kits enzimáticos

se cuantificaron los niveles de nitrógeno ureico y glucosa en el plasma sanguíneo (Laboratorios Wiener, Rosario, Argentina).

Los datos se analizaron según un diseño en Cuadrado Latino. Se utilizó el procedimiento MIXED de SAS (1999) para analizar las variables: consumo de alimento, digestibilidad aparente total, pH, N-NH<sub>3</sub>, AGV, uremia y glucemia. Las medias se compararon utilizando el test de Tukey-Kramer a un nivel de probabilidad del 5%. Los resultados de parámetros de calidad de los silos de sorgos se analizaron con un diseño completamente al azar utilizando el procedimiento GLM de SAS (1999).

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los parámetros de calidad de los silos de grano húmedo variaron entre los diferentes tratamientos (**tabla I**). El grano tratado con urea presentó un mayor porcentaje de PB, elevado pH y una mayor concentración de NH<sub>3</sub>/N total. La urea en presencia de humedad se hidroliza generando NH<sub>3</sub> y elevando el pH. Russell *et al.* (1988) hallaron que granos de sorgo reconstituídos y tratados con 2% de urea incrementaron el pH desde 6,4 a 8,9. Además la presencia de urea aumentó el contenido de PB (N x 6,25) y de NH<sub>3</sub> de los granos (Russell *et al.*, 1988).

La DIVMS aumentó (p<0,05) con la incorporación de PEG-4000 o urea (**tabla I**) y los aumentos respecto al tratamiento testigo fueron de 11,6 y 4,2 unidades porcentuales para los tratamientos P y U, respectivamente. Cabral Filho *et al.* (2005) y Reina *et al.* (2007) observaron un aumento en la producción de gas *in vitro* en granos de sorgo con taninos cuando les agregaron PEG como inactivador de taninos. Además, los granos cuando se tratan con urea presentan una mayor digestibilidad *in vitro* y tasa de desaparición de la MS (Russell *et al.*, 1988). Los porcentajes de MO y almidón de los granos no fueron modificados por los tratamientos con PEG-4000 o urea (**tabla I**).

La adición de urea al grano de sorgo

## DIGESTIÓN TOTAL APARENTE Y METABOLISMO RUMINAL EN BOVINOS

produjo una disminución del 70% de la concentración de taninos respecto al testigo (grano no tratado). Russell y Lolley (1989) observaron una inactivación del 86% de los taninos de granos de sorgo reconstituidos (rehidratados a 34% de humedad) y tratados con 2% de urea. La urea en presencia de humedad genera amonio, lo cual incrementa notablemente el pH y en estas condiciones de alcalinidad los taninos serían mucho menos reactivos (Waichungo y Holt, 1995). La habilidad de los taninos de unirse a las proteínas es mayor cuando el polímero está compuesto entre 3 a 10 monómeros, disminuyendo cuando el polímero supera a los 10 monómeros (Goldstein y Swain, 1963 y Joslyn y Goldstein, 1964, citados por Mitaru *et al.*, 1984). Bajo estas condiciones se promueve una polimerización de los taninos, que conduce a la formación de polímeros más grandes, no reactivos con las proteínas (Makkar y Singh, 1993). Makkar y Becker (1996) indicaron que bajo condiciones alcalinas los taninos pierden su capacidad de unirse a las proteínas. Estos resultados sugieren que bajo estas condiciones se produce una transformación de los taninos que conduce a su inactivación, reflejada por un aumento de la DIVMS.

Contrariamente, en el tratamiento con PEG-4000 se registró un incremento en la cantidad de taninos medidos por el método de Folin-Denis (217,3 vs. 258,3 mg de ácido tánico/100 g de muestra seca para T y P respectivamente). Si bien existen evidencias que la adición de PEG disminuye la concentración de taninos (polifenoles) en alimentos con alta concentración de esta sustancia (Ben Salem *et al.*, 2005a), dicha tendencia no fue detectada en este ensayo. Al respecto se debe tener en cuenta que el PEG posee en su estructura química una cierta cantidad de grupos oxidrilos (Angenault, 1999) similares a los existentes en polifenoles, los cuales dan reacciones positivas con los reactivos del método de Folin-Denis, lo que origina una sobreestimación en la lectura total de polifenoles, tal como ocurrió en este ensayo.

Los consumos de MS no fueron diferentes ( $p>0,05$ ) entre los tratamientos (promedios de  $8,34\pm 0,16$  kg/animal/día y de  $2,68\pm 0,05\%$  del PV), indicando que en este ensayo los taninos no demostraron un efecto astringente para los bovinos. Además, la presencia de urea no generó ningún efecto de aversión en los animales. Russell *et al.* (1988) hallaron que la preservación de gra-

**Tabla I.** Composición en ingredientes y nutritiva de las dietas experimentales y los parámetros de calidad de los diferentes silajes de grano de sorgo. (Ingredients and nutritional composition of experimental diets and quality of different sorghum grain silages).

Ingredientes	MO (%)	Almidón (%)	PB (%)	DIVMS (%)	pH	NH <sub>3</sub> /NT (%)	Taninos*
Heno alfalfa <sup>1</sup>	90,1(1,13)	-	21,7(1,06)	73,9(1,34)	-	-	-
Afrechillo de trigo <sup>1</sup>	91,6(0,92)	23,0(0,85)	15,2(0,57)	74,4(1,41)	-	-	-
Harina de soja <sup>1</sup>	93,3(2,55)	-	46,8(1,27)	95,5(1,48)	-	-	-
Silajes <sup>2</sup>							
PEG4000	98,4	72,3	6,6 <sup>b</sup>	83,8 <sup>a</sup>	4,2 <sup>b</sup>	4,6 <sup>b</sup>	258,3 <sup>c</sup>
Urea	98,2	72,2	9,1 <sup>a</sup>	76,4 <sup>b</sup>	8,1 <sup>a</sup>	20,6 <sup>a</sup>	64,5 <sup>a</sup>
Testigo	97,5	71,5	6,8 <sup>b</sup>	72,2 <sup>c</sup>	4,6 <sup>b</sup>	4,1 <sup>b</sup>	217,3 <sup>b</sup>
EEM	0,37	0,36	0,1	0,71	0,16	0,34	2,36

\*mg de ácido tánico/100 g de muestra base materia seca.

<sup>1</sup>Valores promedios y desviaciones estándar. <sup>2</sup>Letras diferentes dentro de una misma columna indican diferencias significativas entre los silajes ( $p<0,05$ ).



no húmedo de sorgo con urea no afecta la aceptabilidad por novillos en terminación. No se detectaron diferencias ( $p > 0,05$ ) entre tratamientos en los consumos de MO, almidón y PB, siendo los promedios de  $8,02 \pm 0,05$ ,  $4,53 \pm 0,03$  y  $1,15 \pm 0,005$  kg/día, respectivamente.

Los coeficientes de digestibilidad aparente de las fracciones MS, almidón y MO de las dietas fueron superiores en el tratamiento P, intermedios en el U e inferiores en el T (**tabla II**), coincidente con la digestibilidad *in vitro* de los granos (**tabla I**). La digestibilidad de la dieta en los animales que consumieron el grano con PEG-4000 fue 61, 35 y 67% superior respecto a la dieta con grano no tratado para las fracciones MS, almidón y MO, respectivamente. Las diferencias en digestibilidad se redujeron con respecto a los animales que consumieron el grano no tratado, cuando se realizó el tratamiento con urea. Dichas diferencias fueron de 26, 14 y 36% para las fracciones MS, almidón y MO, respectivamente. No se hallaron diferencias ( $p > 0,05$ ) en la digestión de la PB entre los tratamientos P y U, que fueron en promedio un 63% superiores respecto al T (**tabla II**). Estos resultados confirman el hecho de que los taninos afectan negativamente la digestibilidad del grano de sorgo, y los tratamientos con PEG-4000 o urea resultan efectivos para reducir dicho efecto.

En granos de sorgo, la utilización del PEG-4000 para secuestrar taninos en granos secos ha aumentado la digestibilidad y la utilización neta del nitrógeno en 85 y 38%, respectivamente (Ford y Hewitt, 1979). En el presente ensayo, el tratamiento con PEG-4000 tuvo un efecto positivo sobre el grano aumentando las digestibilidades de la MO y la PB de la dieta en comparación con el tratamiento T, respectivamente (**tabla II**). Como sugieren Silanikove *et al.* (1996, 1997) parte de la mejora en la digestibilidad podría estar relacionada con un incremento en la fermentación ruminal y parte con un incremento en la proporción y extensión del ali-

mento digerido en el intestino. Ese incremento en la digestibilidad puede ser explicado por la liberación del complejo proteína-taninos por el tratamiento con PEG-4000 y el mantenimiento de la estabilidad del complejo PEG-taninos en todo el tracto digestivo (Silanikove *et al.*, 1994). En el caso particular del grano de sorgo, la incorporación de PEG-4000 mejora la digestibilidad aparente de la proteína del grano y de la fracción de almidón. El almidón de este grano se encuentra rodeado por una matriz proteica (Rooney y Pflugfelder, 1986), que juega un papel importante en la tasa de hidrólisis del almidón. Un incremento en la degradación de la proteína favorece la accesibilidad a los gránulos de almidón y a su utilización por la microflora ruminal (**tabla II**). En granos húmedos de sorgo de alto contenido de tanino, Montiel *et al.* (2005), hallaron incremento en la degradabilidad *in situ* de las fracciones de almidón y de proteína al tratarlos con PEG-4000 y urea. Hill *et al.* (1991) obtuvieron, en animales que consumieron granos de sorgo tratados con 2% de urea, una menor excreción fecal de materia seca y almidón, indicando un mayor aprovechamiento de la fracción de almidón del grano.

La evolución del pH del líquido ruminal tuvo un comportamiento similar entre los tratamientos, siendo la interacción tratamiento x hora de muestreo no significativa ( $p > 0,05$ ). Por esa razón, los valores que se presentan en la **tabla II** corresponden a los valores promedios obtenidos a lo largo del día. El pH ruminal fue inferior en los tratamientos P y U respecto al tratamiento T (**tabla II**,  $p < 0,05$ ) posiblemente a causa de la mayor digestibilidad del almidón. Las dietas con altos contenidos de granos de alta degradabilidad ruminal son rápidamente fermentadas en rumen, conduciendo a valores de pH relativamente bajos y a altas concentraciones de AGV en el fluido ruminal (Beauchemin *et al.*, 2001).

La concentración total de AGV fue superior en P e inferior en T ( $p < 0,05$ ), mientras que el tratamiento U tendió a ser superior a

## DIGESTIÓN TOTAL APARENTE Y METABOLISMO RUMINAL EN BOVINOS

**Tabla II.** Efecto de la adición de PEG-4000 o urea sobre la digestibilidad aparente de la dieta y sobre los parámetros ruminales y plasmáticos. (Effect of addition of PEG-4000 or urea on the total apparent digestibility of the diet and ruminal and plasma parameters).

Variables	Tratamientos			EEM
	T	U	P	
Coeficientes digestibilidad aparente (%)				
Materia seca	43,9 <sup>c</sup>	55,4 <sup>b</sup>	70,5 <sup>a</sup>	0,9
Almidón	66,3 <sup>c</sup>	75,6 <sup>b</sup>	89,7 <sup>a</sup>	1,22
Proteína bruta	33,1 <sup>b</sup>	49,1 <sup>a</sup>	58,8 <sup>a</sup>	2,08
Materia orgánica	41,5 <sup>c</sup>	56,6 <sup>b</sup>	69,5 <sup>a</sup>	1,51
Parámetros ruminales				
pH	5,93 <sup>a</sup>	5,79 <sup>b</sup>	5,43 <sup>c</sup>	0,06
N-NH <sub>3</sub> (mg/dL)	16,5 <sup>b</sup>	27,8 <sup>a</sup>	24,6 <sup>a</sup>	2,35
Acético (mol/100 mol)	85,1	76,9	80,5	5,64
Butírico (mol/100 mol)	14,0	14,7	14,3	2,53
Propiónico (mol/100 mol)	39,1 <sup>c</sup>	47,7 <sup>b</sup>	57,3 <sup>a</sup>	4,33
Valérico (mol/100 mol)	1,39 <sup>b</sup>	1,89 <sup>b</sup>	2,64 <sup>a</sup>	0,24
Iso-valérico (mol/100 mol)	3,47	4,19	3,58	0,52
AGV totales	138,9 <sup>b</sup>	146,5 <sup>b</sup>	157,9 <sup>a</sup>	4,14
Acético/Propiónico	2,29 <sup>a</sup>	1,60 <sup>b</sup>	1,58 <sup>b</sup>	0,18
Metabolitos plasmáticos (mg/dL)				
Urea	23,9 <sup>b</sup>	27,7 <sup>a</sup>	27,9 <sup>a</sup>	1,1
Glucosa	75,9	79,9	80,0	2,39

T: grano de sorgo ensilado; U: grano de sorgo ensilado con la adición de 2% de urea en base a la materia seca (MS) del grano; P: grano ensilado con la adición de 1 g de PEG-4000/g de proteína bruta (PB) del grano. EEM: error estándar de la media.

<sup>a,b,c</sup>Letras distintas en una misma fila indican diferencias entre dietas ( $p < 0,05$ ).

T ( $p = 0,07$ , **tabla II**). La menor concentración de AGV totales en el tratamiento T puede ser explicada por el efecto negativo que generan los taninos sobre la fermentación microbiana. Al agregar taninos condensados de quebracho a granos de trigo y de maíz se logra disminuir la fermentabilidad *in vitro* disminuyendo la producción de AGV totales (Martinez *et al.*, 2006).

Las concentraciones molares de acético, butírico e iso-valérico no fueron modificadas por los tratamientos ( $p > 0,05$ , **tabla II**). La concentración de propiónico fue superior en P, intermedia en U e inferior en T. La mayor fermentabilidad de la fracción almidonosa en las dietas de animales que consumieron el grano tratado con PEG-4000

o urea pudo haber incrementado la generación de propiónico. Producto de la mayor concentración de propiónico originado en las dietas con PEG-4000 y urea, la relación acético/propiónico fue más baja en estos tratamientos respecto al T ( $p < 0,05$ , **tabla II**).

La concentración de ácido iso-valérico no fue diferente entre los tratamientos ( $p > 0,05$ ). Sin embargo, el ácido valérico fue superior en el tratamiento P ( $p < 0,05$ ). Además, se halló una tendencia ( $p = 0,08$ ) hacia una mayor concentración de valérico en los animales que consumieron el tratamiento U respecto al T (**tabla II**). La fermentación del aminoácido prolina es la responsable de la producción de valérico a nivel ruminal (El-Shazly, citado por Zavaleta de Lucio, 1976).

El grano de sorgo es rico en proteínas del tipo de las prolaminas, las cuales constituyen entre el 70 y 80% de las proteínas totales (Van Barneveld, 1999). Este tipo de proteínas contienen grandes cantidades de glutamina, leucina, alanina y principalmente prolina. Se ha demostrado que los taninos tienen una alta afinidad para unirse a las proteínas que tienen alto contenido de prolina (Hagerman y Butler, 1981). Por consiguiente, la incorporación de PEG-4000 y urea podría mejorar la digestibilidad de dichas proteínas.

Los tratamientos con PEG-4000 o urea no modificaron las concentraciones de glucosa en el suero ( $p > 0,05$ , **tabla II**) de manera similar a lo hallado por Ben Salem *et al.* (2005b). Sin embargo, dichas sustancias incrementaron las concentraciones de  $N-NH_3$  a nivel ruminal y urea en el plasma sanguíneo ( $p < 0,05$ , **tabla II**). Esto puede atribuirse a la desactivación de los taninos por el PEG-4000 o la urea, causando un aumento en la fermentación de la proteína del grano por acción de los microorganismos ruminales. Los taninos condensados tienen una mayor afinidad a formar complejos con el PEG que con las proteínas (Landau *et al.*, 2000). Con la adición de PEG-4000 se espera que se produzca una liberación del complejo proteína-tanino (Hagerman y Butler, 1981) y, por lo tanto, un aumento en la digestibilidad aparente de la PB. Ben Salem *et al.* (2002) encontraron un aumento respecto al testigo en el nivel de urea en plasma de ovejas alimentadas con *A. cyanophylla* y suplementadas con PEG o

con urea. Esto indicaría que ambas sustancias aumentan la digestibilidad aparente de la fracción proteica de la dieta actuando sobre los taninos presentes en el grano.

Es necesario considerar que una fracción de la urea incorporada al grano en el tratamiento U estaría rápidamente disponible a nivel ruminal y pasa rápidamente a sangre, produciendo una sobreestimación de la digestibilidad aparente de la PB. De aquí que dicha variable no sea un buen indicador de la medida en que la proteína dietética es aprovechada por el bovino. Sin embargo, la mayor digestión del almidón en el tratamiento U respecto al T estaría indicando un aumento en la digestibilidad de la proteína que conforma la matriz que rodea a los gránulos de almidón del grano, disminuyendo el efecto negativo de los taninos sobre dicha matriz proteica (Duodu *et al.*, 2003).

## CONCLUSIONES

Los resultados del presente trabajo confirman que el mayor efecto antinutricional de los taninos en el grano de sorgo es la disminución de la disponibilidad de las proteínas y del almidón. De esta forma, la incorporación a granos húmedos de sorgos con alto contenido de taninos de sustancias que capturen los taninos o impidan las uniones proteínas-taninos permite aumentar la digestibilidad total aparente de la dieta.

## AGRADECIMIENTO

Parte de esta investigación fue financiada por la FUNDACION YPF, Argentina.

## BIBLIOGRAFÍA

- Angenault, J. 1999. Diccionario enciclopédico de química. Ed. CECOSA. México. 352 pp.
- AOAC. 1995. Official methods of analysis. 16<sup>th</sup> ed. Association of Official Analytical Chemists International. Washington, DC.
- Baron, V.S., Stevenson, K.R. and Buchanam-Smith, J.G. 1986. Proteolysis and fermentation of grain-corn ensiled at several moisture levels and under several simulated storage methods. *Can J Anim Sci*, 66: 451-461.
- Beauchemin, K.A., Yang, W.Z. and L.M. Rode. 2001. Effects of barley grain processing on the site and extent of digestion of beef feedlot finishing diets. *J Anim Sci*, 79: 1925-1936.
- Ben Salem, H., Atti, N., Priolo, P. and Nefzaoui, A. 2002. Polyethylene glycol in concentrate or



## DIGESTIÓN TOTAL APARENTE Y METABOLISMO RUMINAL EN BOVINOS

- feed blocks to deactivate condensed tannins in *Acacia cyanophylla* Lindl. Foliage effects on feed intake, digestion and growth by lambs. *Anim Sci*, 75: 127-135.
- Ben Salem, H., Saghrouni, L. and Nefzaoui, A. 2005a. Attempts to deactivate tannins in fodder shrubs with physical and chemical treatments. *Anim Feed Sci Tech*, 122: 109-121.
- Ben Salem, H., Ben Salem, I. and Ben Saïd, M.S. 2005b. Effect of the level and frequency of PEG supply on intake, digestion, biochemical and clinical parameters by goats given kermes oak (*Quercus coccifera* L.)-based diets. *Small Ruminant Res*, 56: 127-137.
- Cabral Filho, S.L.S. 2004. Efeito do teor de tanino do sorgo sobre a fermentação ruminal e parâmetros nutricionais de ovinos. Tesis (Doctor en Ciencias). Centro de Energía Nuclear na Agricultura. Universidad de São Paulo. Piracicaba. Estado de São Paulo. Brasil. 88 pp.
- Cabral Filho, S.L.S., Abdalla, A.L., Buenoa, I.C.S., Nozella, E.F. and Rodriguez, J.A.S. 2005. Ruminal fermentation and degradability of sorghum cultivar whole crop, and grains, using an *in vitro* gas production technique. *Anim Feed Sci Tech*, 123-124: 329-339.
- Chaney, A.L. and Marbach, E.P. 1962. Modified reagents for determination of urea and ammonia. *Clin Chem*, 8: 130-132.
- Duodu, K.G., Taylor, J.R.N., Belton, P.S. and Hamaker, B.R. 2003. Factors affecting sorghum protein digestibility. *J Cereal Sci*, 38: 117-131.
- Friggins, N.C., Oldham, J.D., Dewhurst, R.J. and Horgan, G. 1998. Proportions of volatile fatty acids in relation to the chemical composition of feeds based on grass silage. *J Dairy Sci*, 81: 1331-1344.
- Ford, J.E. and Hewitt, D. 1979. Protein quality in cereals and pulses. 3. Bioassays with rats and chickens on sorghum (*Sorghum vulgare* Pers.), barley and field beans (*Vicia faba* L.). Influence of polyethylene glycol on digestibility on the protein in high-tannin grain. *Br J Nutr*, 42: 325-340.
- Hagerman, A.E. and Butler, L.G. 1981. The specificity of proanthocyanidin-protein interactions. *J Biol Chem*, 256: 4494-4497.
- Hahn, D.H. and Rooney, L.W. 1986. Effect of genotype on tannins and phenols of sorghum. *Cereal Chem*, 63: 4-8.
- Hill, T.M., Schmidt, S.P., Russell, R.W., Thomas, E.E. and Wolfe, D.F. 1991. Comparison of urea treatment with established methods of sorghum grain preservation and processing on site and extent of starch digestion by cattle. *J Anim Sci*, 69: 4570-4576.
- Horneck, A.D. and Miller, R.O. 1998. Determination of total nitrogen in plant tissue. In: Kalra, Y.P. (Ed). Handbook of reference methods for plant analysis. Soil and Plant Analysis. Inc. CRC Press. Boca Raton, Florida, USA. 300 pp.
- Jones, W.T. and Mangan, J.L. 1977. Complexes of condensed tannins of sainfoin (*Onobrychis vicifolia* Scop.) with fraction-1 leaf protein and with sub maxillary mucoprotein, and their reversal by polyethylene glycol and pH. *J Sci Food Agric*, 28: 126-136.
- Landau, S., Silanikove, N., Nitsan, Z., Barkai, D., Baram, H., Provenza, F.D. and Perevolotsky, A. 2000. Short-term changes in eating patterns explain the effects of condensed tannins on feed intake in heifers. *Appl Anim Behav Sci*, 69: 199-213.
- Magalhães, P.C., Rodrigues, W.A. e Durães, F.O. 2001. Tanino no grão de sorgo. Bases fisiológicas e métodos de determinação. <http://www.cnpms.embrapa.br/circu27.html> (01/05/2001).
- Makkar, H.P.S. and Becker, K. 1996. Effect of pH, temperature, and time on inactivation of tannins and possible implications in detannification studies. *J Agric Food Chem*, 44: 1291-1295.
- Makkar, H.P.S. and Singh, B. 1993. Effect of storage and urea addition on detannification of nature oak (*Quercus incana*) leaves. *Anim Feed Sci Tech*, 41: 247-259.
- Martinez, T.F., McAllister, T.A., Wang, Y. and Reuter, T. 2006. Effects of tannic acid and quebracho tannins on *in vitro* ruminal fermentation of wheat and corn grain. *J Sci Food Agr*, 86: 1244-1256.
- Mitaru, B.M., Reichert, R.D. and Blair, R. 1984. Kinetics of tannin deactivation during anaerobic storage and boiling treatments of high tannin sorghums. *J Food Sci*, 49: 1566-1568.
- Montiel, M.D., Elizalde, J.C., Giorda, L. and Santini, F. 2005. Effects of adding polyethylene glycol 4000 or urea to high tannin high moisture sorghum grain on ruminal degradation in beef cattle. <http://www.jtmtg.org/2005/abstracts/05abs304.pdf> (27/03/2006).
- Reina, V., Ojeda, A., Gonzalez, R. y Colmenares,

MONTIEL, ELIZALDE, SANTINI Y GIORDA

- O. 2007. Efecto de la adición de polietilenglicol sobre la degradabilidad *in vitro* de la materia orgánica y contenido de energía metabolizable en granos de once cultivares de sorgo (*Sorghum bicolor*). *Zootec Trop*, 25: 157-165.
- Rooney, L. and Pfulgfelder, R. 1986. Factors affecting starch digestibility with special emphasis on sorghum and corn. *J Anim Sci*, 63: 1607-1623.
- Russell, R.W. and Lolley, J.R. 1989. Deactivation of tannin in high tannin milo by treatment with urea. *J Dairy Sci*, 72: 2427-2730.
- Russell, R.W., Lim, J.C.M., Thomas, E.E. and Mora, E.C. 1988. Preservation of high-moisture milo with urea: grain properties and animal acceptability. *J Anim Sci*, 66: 2131-2139.
- Sandoval Castro, C.A., Magaña Sevilla, H., Capetillo Leal, C. and DeB Hovell, F.D. 2003. Comparison of charcoal and polyethylene glycol (PEG) for neutralizing tannin activity with an *in vitro* gas production technique. <http://bsas.org.uk/downloads/mexico/083.pdf> (01/12/2005).
- SAS Institute Inc. SAS/STAT®. 1999. User's Guide, Release. 8.0. SAS Inst. Inc. Cary, NC. USA.
- Schneider, B. H. and Flatt, W.P. 1975. The evaluation of feeds through digestibility experiments. The University of Georgia Press. Athens, GA. U.S.A. 423 pp.
- Silanikove, N., Gilboa, N. and Nitsan, Z. 1997. Interactions among tannins, supplementation and polyethylene glycol in goats given oak leaves: effects on digestion and food intake. *Anim Sci*, 64: 479-483.
- Silanikove, N., Gilboa, N., Nir, I., Perevolotsky, A. and Nitsan, Z. 1996. Effect of daily supplementation of polyethylene glycol on intake and digestion of tannin-containing leaves (*Quercus calliprinos*, *Pistacia lentiscus* and *Ceratonia siliqua*) by goats. *J Agric Food Chem*, 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. *J Agric Food Chem*, 42: 2844-2847.
- Silanikove, N., Perevolotsky, A. and Provenza, F.D. 2001. Use of tannin-binding chemicals to assay for tannins and their negative post-ingestive effects in ruminants. *Anim Feed Sci Tech*, 91: 69-81.
- 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 Agr Res*, 50: 651-666.
- Vicente, F., Sarraceca, A., De Vega, A. and Guada, J.A. 2004. Performance of several Cr and Yb analytical techniques applied to samples of different biological origin (digesta or faeces). *J Sci Food Agric*, 84: 2035-2040.
- Waichungo, W.W. and Holt, D.L. 1995. Use of ammonium hydroxide to reduce the level of assayable tannin in high-tannin sorghum grain. *J Agric Food Chem*, 43: 728-732.
- Zavaleta de Lucio, E. 1976. Los ácidos grasos volátiles, fuente de energía en los rumiantes. *Cienc Vet*, 1: 223-240.