



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia
Departamento de Patología

CUANTIFICACION DE TANINOS EN MUESTRAS DE
SORGO (Sorghum vulgare) PROCEDENTES DE
VARIOS ESTADOS DE LA REPUBLICA MEXICANA.

T E S I S

Que para obtener el Título de:

MEDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

P r e s e n t a :

JORGE CARLOS FERNANDEZ MEJIA

Asesores: M.V.Z. RENE ROSILES MARTINEZ Q.F.B. ALFREDO GONZALEZ PEREZ

MEXICO, D. F.

1983.



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

I N D I C E .

		Página
Capítulo I	Resumen	1
Capítulo II	Introducción	5
Capítulo III	Material y métodos	30
Capítulo IV	Resultados	38
Capítulo V	Discusión	51
Capítulo VI	Conclusiones	56
Capítulo VII	Literatura citada	59

- - - -

C A P I T U L O I

R E S U M E N

R E S U M E N

CUANTIFICACION DE TANINOS EN MUESTRAS DE SORGO (Sorghum vulgare) PROCEDENTES DE VARIOS ESTADOS DE LA REPUBLICA MEXICANA.

Jorge Carlos Fernández Mejía.

Asesores : M.V.Z. René Rosiles Martínez.

Q.F.B. Alfredo González Pérez.

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de Toxicología del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Universidad Nacional Autónoma de México.

Para el efecto se colectaron muestras de sorgo (Sorghum vulgare) procedentes de varios estados de la República Mexicana. Las muestras se sometieron a un análisis de extracción de taninos bajo la técnica de NaOH al 0.05N (1, 5, 19), previa evaluación de su eficacia con cantidades conocidas de taninos.

Se practicó un análisis estadístico con los datos obtenidos cuyos resultados indican que las muestras de sorgo (Sorghum vulgare) obtenidas no se consideran altas en contenido de taninos, ya que en todas las muestras analizadas se encontraron resultados porcentuales menores al 2 % .

Las muestras de sorgo (Sorghum vulgare) provenientes de Zacapu, Michoacán (Muestra No. VI) tuvieron un contenido de taninos de 26.49 mg/2g de muestra analizada; lo que pone de manifiesto que es la cantidad mas alta encontrada en el presente estudio.

Mediante el desarrollo de un método estadístico (ANOVA) se establece que el contenido de taninos entre las muestras es diferente significativamente. Se realizó una comparación múltiple para determinar cuales muestras eran iguales entre sí y cuales eran diferentes; encontrando en dicha comparación, principalmente que la muestra No. VI es distinta a todas las demás en un nivel de significancia de $P = 0.05$ y $P = 0.01$.

En cuanto a la distribución de los diferentes contenidos de taninos encontrados, se señalan los mas interesantes :

<u>Muestra #</u>	<u>Procedencia</u>	<u>Contenido</u>	<u>Porcentaje</u>
Muestra No. IV	Yuriria, Guanajuato.	18.76 mg/2g	(.93%)
Muestra No. V	Sn.Fdo. Tamaulipas.	22.16 mg/2g	(1.10%)
Muestra No. VI	Zacapu, Michoacán.	26.49mg/2g	(1.32%)

C A P I T U L O I I

I N T R O D U C C I O N

I N T R O D U C C I O N

Uno de los granos más comunmente empleado en la alimentación del ganado es el sorgo, el cual al igual que los demás granos es rico en almidón, proteínas y contiene una cantidad mas o menos variable de vitaminas; por este motivo desempeña un papel importante en la alimentación del ganado. (10).

En México el cultivo del sorgo ha alcanzado un notable desarrollo en los últimos años. Este impulso es debido sin duda a la demanda que este grano tiene para la alimentación; dicho impulso en la producción Nacional ha sido posible gracias a que este cereal es productivo en aquellas regiones donde la sequía origina pérdidas o bajos rendimientos de otros cultivos. (3, 10, 17).

Por tanto, los sorgos son los únicos recursos alimentarios por la cantidad y calidad de sus productos. Existen tres tipos de sorgos que interesan en el aspecto alimentario de los animales y son los sorgos para forraje, sorgos para grano y los de doble propósito.

El sorgo en cualquiera de sus variedades y especies es una planta muy esquilante ya que en una sola cosecha agota completamente la humedad, el Nitrógeno y el Fósforo del terreno, dejando a éste

estropeado con sus raíces azucaradas sobre las cuales prospera una vida microbiana que resulta incompatible a otros cultivos; los sorgos a los cuales son aplicables estos aspectos son aquellas plantas anuales o sorgos dulces usados para forraje y obtención de jugo azucarado y los sorgos destinados para grano. (10).

En las condiciones de nuestro país, merece especial atención el uso de los granos por los animales y el hombre, ya que al ser el maíz el grano básico para la alimentación humana, secundado por el trigo, el arroz y el frijol, se ha definido una política diáfana en la que el sorgo es el grano que debe utilizarse para la alimentación animal.

De manera particular, a través de los monogástricos, en virtud de su conversión mas eficiente, su ciclo reproductivo mas corto y el escaso espacio que requieren para su explotación. Lo anterior permitirá obtener incrementos sustanciales en la producción. La disponibilidad de sorgo constituye en sí misma la garantía de que el maíz y el trigo no serán utilizados en la alimentación animal, por lo que su disponibilidad deberá ser suficiente. (11).

Por ser los piensos el insumo mas importante y estratégico en la producción de carne y huevo, se estima imprescindible evaluar los requerimientos que para los años de las proyecciones realizadas serán necesarios de manera estratégica, porque este factor al conjugarse con el genético, hará posible la modificación de los indicadores de eficiencia productiva. Para el mantenimiento de los actuales niveles de consumo el requerimiento de sorgo para 1990 será aproximadamente de 9.2 millones de toneladas y se calcula que para el año 2000, las necesidades serían de 14.3 millones de toneladas.

Esta producción sería la indicada para cubrir la producción de carne de pollo, huevo, carne de cerdo y carne de res. El requerimiento necesario para cubrir los mismos conceptos anteriores, sería de 17.8 millones de toneladas de sorgo para 1990 y para el año 2000 sería del orden de 27.7 millones de toneladas. (11).

En México el sorgo es consumido en forma indirecta por el humano a través de alimentos de alto valor nutritivo como son la carne de pollo, de cerdo y huevo principalmente. (18).

El sorgo fué introducido a México en el año de 1944 por la oficina

de Estudios Especiales de la S.A.G. (Actualmente S.A.R.H.), utilizando variedades traídas de los Estados Unidos para sustituir otros cultivos con rendimientos escasos que no prosperaban en áreas con precipitación pluvial muy escasa. Los trabajos de mejoramiento genético, así como el estudio de las condiciones óptimas para su cultivo se concentraron en la zona del Bajío y fue ahí donde se seleccionaron variedades de polinización libre que contribuyeron al conocimiento del cultivo por el sector agrícola. (4).

Gracias a la participación esmerada del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (1976) se ha logrado la formación de híbridos regionales de sorgo, contando actualmente con 480 sorgos híbridos experimentales. Como resultado de estas investigaciones, en el año de 1972 se permitió la liberación por parte del Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas de los primeros 6 sorgos híbridos mexicanos y ya para el año de 1975 la selección de otro grupo de 29 híbridos para las diferentes zonas : templadas, cálido - húmedas y cálido secas del país que es donde se cultiva este cereal. (3).

Químicamente, el grano de sorgo es similar al del maíz. En promedio, posee cerca del 2 % más en proteína y 1 % menos en grasa. El contenido de aminoácidos del grano de sorgo es, aproximadamente

- el mismo que el de maíz. El grano de sorgo es particularmente de ficiente en lisina. (20).

Las grasas en el grano de sorgo y de maíz son casi idénticas en su composición, así como los minerales, los cuales solo difieren ligeramente. Los sorgos en general, aunque coloreados, no contienen vitamina A.

Actualmente se han conseguido granos de sorgo de endospermo amarillo genuino. Los pigmentos amarillos del grano de sorgo se disi pan mucho mas rapidamente en el campo que los de maíz y se pierde una cantidad considerable de vitamina A para el tiempo en que el cultivo es dado como alimento. (20).

Cejudo, J., H.E., (1974) establece que el grano de sorgo es deficiente en lisina, pero esto puede ser corregido disminuyendo el contenido de prolamina, con lo que aumentan las fracciones de albúmina, globulina y gluteína; de la misma forma aprecia que actualmente se tienen líneas experimentales con el carácter de alta lisina, obtenidas por mutación inducida o por selección de mutantes Naturales, me diante análisis de la colección Mundial de sorgo. (3).

Las diferentes clases de sorgos fueron clasificadas por Linneo en el año 1753 en el género Holcus. Moench en 1794, le asignó el nombre genérico de Sorghum y es como se conoce actualmente. (3, 7).

Hitchcok en el año de 1950 en los Estados Unidos establece que los sorgos son miembros de la familia Gramineae, dividida a su vez en dos sub-familias que son: Panicoideas y Festucoideas, la primera abarca a las Andropogoneas que es donde se agrupan los sorgos, las Paníceas que comprenden a los mijos y las Tripsíceas en la que el maíz es el principal representante. En cuanto a la otra sub-familia que es la Festuccidea, ésta comprende cereales tales como el trigo, la cebada y la avena. (3, 10).

Wall y Ross en el año de 1975 establecen que el tallo del sorgo esta constituido por nudos y entrenudos, las hojas en posición alterna y dística estan formadas por la lámina, con nervaduras paralelas, bordes enteros y por la vaina que envuelve al entrenudo arriba del nudo de inserción prolongándose hasta el siguiente superior. (3, 7, 10).

Agregan también que la altura de la planta varía desde 50 cm hasta 5m o más dependiendo de la variedad. En la parte superior del tallo se

- encuentra la panoja que es la inflorescencia en racimos compuestos, ésta puede variar desde tipos herbáceos laxos hasta de constitución compacta.

La panoja presenta el mismo esquema dístico del tallo, el eje central está dividido en nudos y entrenudos, las ramificaciones primarias aparecen en los nudos en grupos que se vuelven a dividir hasta dar ramificaciones del tercer orden.

Estas originan una o varias espiguillas en donde se localizan los frutos llamados semillas o cariósides. La espiguilla es la unidad de la inflorescencia y aparece de dos en dos, siendo una de ellas fértil sin pedicelo y otra estéril pedicelada, por lo general este pedicelo se seca y rompe antes de que la espiguilla fértil madure.

La espiguilla fértil consta de un raquis corto sobre el que aparecen: una flor inferior estéril que queda reducida a una escama, otra flor fértil que contiene el androceo, formado por tres estambres.

El gineceo está formado por el ovario del que parten dos estilos que terminan cada uno en un estigma plumoso, todo esto cubierto y protegido por un lema, una palea y dos brácteas externas llamadas glumas. (3,7,10).

El grano de sorgo o cariopside está formado por tres estructuras: las cubiertas externas, el embrión y el endospermo, (Fig. 1 y 2) según investigaciones realizadas por Rooney en el año de 1971. De la misma manera Sanders en 1955 establece que las cubiertas externas comprenden dos capas: el pericarpio y la testa, las que se originan de los tegumentos que rodean al óvulo antes de la megasporogénesis.

Investigaciones efectuadas por Rooney en 1969 aseveran que el pericarpio en su parte externa, está formado por una capa de células de parénquima con paredes gruesas cubiertas por una cutícula. Las células de las dos o tres capas siguientes tienen también paredes gruesas, pero en su tamaño es mayor y corresponden al epicarpio.

En seguida aparece una zona ancha de células ricas en almidón, denominada MESOCARPIO, esta capa varía en grosor y su parte más ancha está opuesta al embrión.

Las capas internas del endocarpio están formadas por las células de cruce, que son delgadas y largas, perpendicularmente a estas se localizan las células tubulares, cuya función esencial de estas dos capas es el transporte de agua durante la germinación. La testa, cuando existe, es de color café y la pigmentación puede propagarse hasta el --

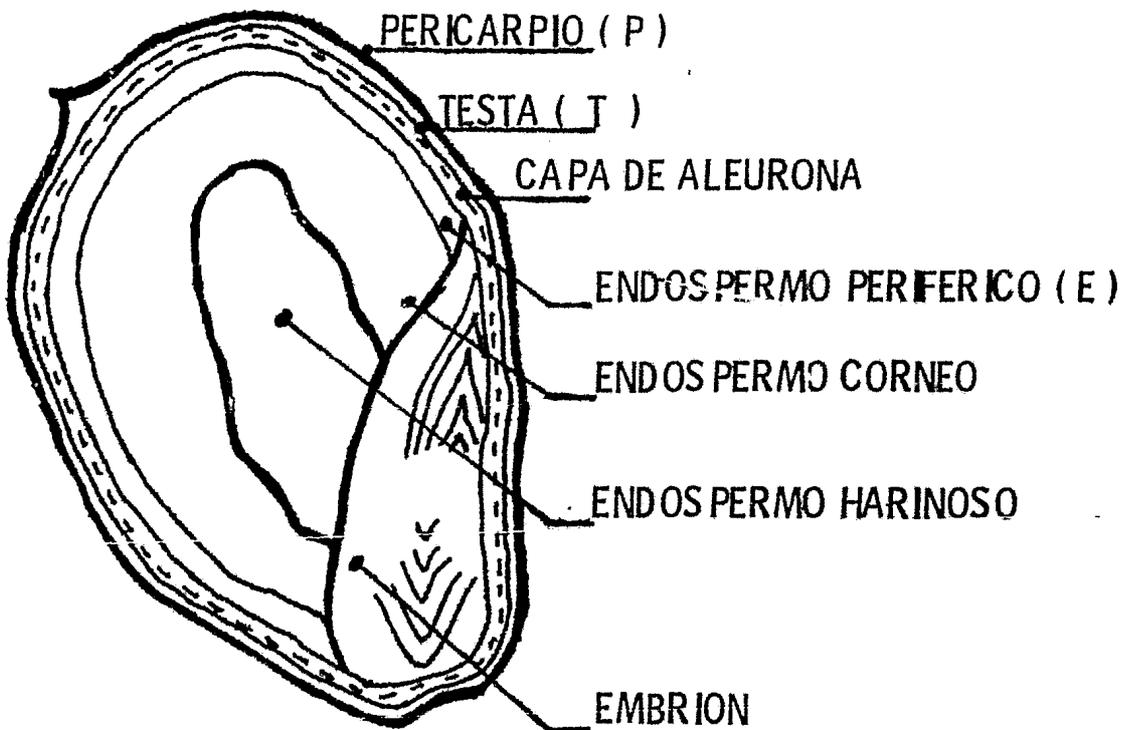


Figura 1. Corte longitudinal de un grano de sorgo maduro.
(Rooney 1971). (3).

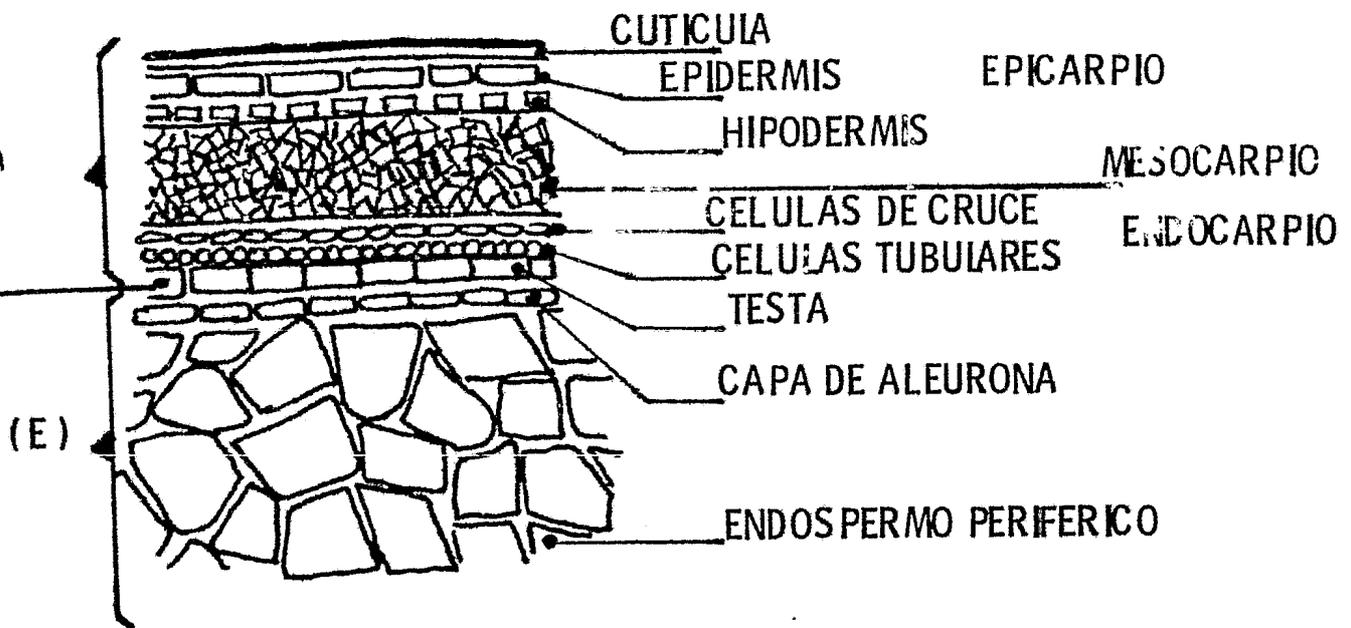


Figura 2. Corte longitudinal de un grano de sorgo maduro.
(Rooney 1971). (3).

- pericarpio, dando tonos color crema, castaño-amarillento o rojizo.

Hay granos blancos con testa oscura y pericarpio no pigmentado que tienen un aspecto blanco azulado. La testa siempre se encuentra en el ovario, pero en muchas variedades es absorbida antes del desarrollo total de los granos, desapareciendo en la etapa madura. (3).

El embrión se encuentra en la base del grano y consta del COLEOPTILO, que es una vaina dura que protege a la plúmula. La coleorriza, que envuelve y protege a su vez a la radícula, ambos unidos por el MESOCOTILO, toda esta estructura que dará origen a las partes aérea y subterránea de la planta respectivamente, se encuentran cubiertas por el escutelo, el que constituye la mayor parte del embrión. (3).

El endospermo forma el tejido de reserva del grano y proporciona la energía necesaria para la germinación. El principal carbohidrato almacenado en el endospermo es el almidón.

En éste se diferencian tres zonas: una central harinosa, con grá-

- nulos de almidón redondos y distribuidos al azar, teniendo textura suave de baja densidad, otra translúcida y córnea donde los gránulos de almidón son poliédricos y muy agrupados, con textura dura y una capa delgada periférica formada por una matriz protéica de glutelina conteniendo pequeños granos de almidón. (3).

Deatherage et al en 1955 determinaron que en las variedades cerosas, el almidón del grano está constituído únicamente por amilopectina, en tanto que en las variedades normales, entre el 23 % y el 28 % del almidón es amilosa y el resto son cadenas de amilopectina. (3).

La capa de aleurona que rodea al endospermo está formada por células ricas en granos de aleurona, que son vacuolas con gran cantidad de proteína en forma cristalina.

Entre sus funciones principales se encuentra el sintetizar las enzimas hidrolíticas para la degradación del almidón en azúcares simples, que serán utilizados durante la germinación del grano mediantre reacciones anabólicas. (3).

Una característica común en todos los sorgos híbridos comerciales es que poseen pigmentos fenólicos que le dan un color de -

- terminado al grano de cada variedad, en estos grupos fenólicos se encuentran los taninos que pueden afectar el valor alimenticio de los sorgos. (8).

LOS TANINOS.

En general se define como "Taninos" a un grupo de sustancias que poseen ciertas propiedades físicas y químicas en común pero que pueden diferir en su estructura molecular. (23).

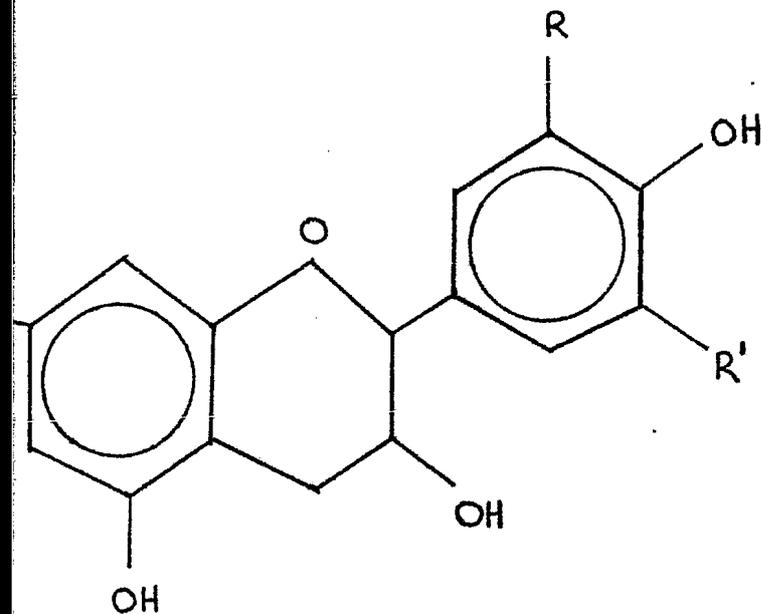
Científicamente son compuestos orgánicos no nitrogenados, amorfos, de sabor astringente y de estructura química variable, débilmente ácidos, solubles en agua, alcohol y acetona pero poco solubles en éter.

Estos tienen la particularidad de formar precipitados azules, verdes o negros con las sales férricas. (3,9).

Swain y Bate - Smith (1962), mencionan que a fines del Siglo XVIII se introdujo este término para designar a los compuestos capaces de curtir pieles, convirtiéndolas en cueros impermeables. Esto se atribuyó a cambios físicos, mas que a reacciones químicas entre fenoles y proteínas.

Con el descubrimiento de compuestos fenólicos en diferentes tejidos vegetales, el vocablo fue usado para designar genéricamente a éstos, pero sin haber probado su habilidad curtidora. (3,15).

Los dos grupos mas importantes de flavonoides que forman los taninos son los flaván-3-oles o catequinas y los flaván-3-4-dioles o leucoantocianidinas ; Freudenberg en el año de 1962 estableció la estructura de las catequinas como:



AFCELEQUINA

R=R'= H

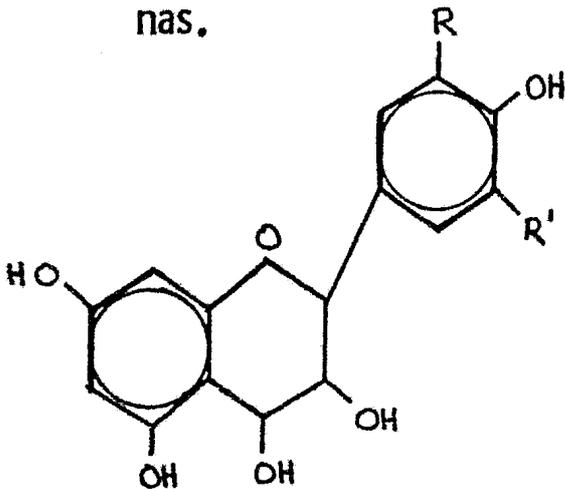
CATEQUINA

R=OH; R' = H

GALOCATEQUINA

R=R' = OH

Investigaciones realizadas por King y Bottomly (1953) confirman la estructura flaván -3,4 diol para las leucoantocianidinas.



LEUCOPELARGONIDINA $R=R'=H$

LEUCOCIANIDINA $R=OH; R'=H$

LEUCODELFINIDINA $R=R'=OH$

Bate-Smith y Lerner en 1954 afirman que las leucoantocianidinas se encuentran tan extendidas en los vegetales, que son las responsables de las reacciones atribuidas a los taninos. (3).

Su peso molecular varía entre 500 y 3000, además dan las reacciones características de los fenoles y tienen la habilidad especial de precipitar alcaloides, gelatinas y otras proteínas. (15, 17, 23).

La propiedad esencial de los taninos es su habilidad para combinarse con proteína y otros polímeros como celulosa y pectina. La inhibición de algunas enzimas se debe a la combinación del tanino con la

- fracción protéica de la misma. La astringencia, es provocada por la precipitación de las proteínas y glucoproteínas de la saliva lo que reduce su propiedad lubricante. (23).

Se ha asociado el alto contenido de taninos en el grano de sorgo con resistencia de la planta a la sequía, inhibición de la germinación, precosecha y resistencia al ataque de pájaros ; todo esto gracias a las investigaciones llevadas a cabo por York et al., (1962) ; Harris y Burns, 1970; y Mc. Millan et al., (1972). Estos últimos autores encontraron un coeficiente de correlación negativo entre daño ocasionado por los pájaros y contenido de taninos del grano. (23).

Miller y Kneen (1947); encontraron que los taninos inhiben una amilasa, Goldstein y Swain (1965), señalan la inhibición de la β - glucosidasa y otras enzimas. Así mismo, Tamir y Alumont -- (1969) demostraron que los taninos extraídos de algarrobo inhiben enzimas digestivas tales como tripsina, α -amilasa y lipasa. (23).

Sadanandan, K.P.; y Arora, S.P. (1978), realizaron una investigación sobre la influencia de los taninos en el rumen, encontrando que éstos decrecieron el RNA, DNA y Ac. grasos volátiles e incre-

- mentaron la proteína en el fluido ruminal. También encontraron una inhibición de la multiplicación microbiana. (21).

Kripal y Arora; (1980), mencionan que la tasa de ganancia de peso vivo y la eficiencia de conversión alimenticia fueron significativamente reducidas cuando se administró a becerros híbridos - sorgo alto en contenido de taninos. Con dieta en la cual se eliminaron aquellos, los valores encontrados fueron intermedios. (4).

Al comparar sorgos resistentes a los pájaros de alto contenido de taninos con sorgos no resistentes a los pájaros, Stephenson et al., (1970) no encontraron diferencias en cuanto a ganancia de peso y consumo de alimento de los pollos alimentados con estos cereales. Estos resultados son similares a los informados por Thayer - et al., (1957), Damron et al., (1968) y Eguiarte, (1976). (8, 23),

Sin embargo, otros investigadores como Chang y Fuller, (1964), Connor et al., (1969) y Rostagno et al., (1973), han obtenido menor ganancia de peso y de conversión alimenticia en pollos alimentados con sorgos de alto contenido de taninos. También Ringose y Morgan, (1940), Vohra et al., (1966) y Rayudu et al., (1970) encon -

- traron reducción del crecimiento en pollos alimentados con dietas que contenían 2 % de ácido tánico. (3,4, 8,17,23).

Armstrong et al., (1973) removieron el pericarpio de los sorgos resistentes a los pájaros y obtuvieron mayores ganancias de peso y conversión alimenticia que cuando administraron los mismos sorgos enteros. Al comparar sorgos resistentes a los pájaros a los que se les quitó el pericarpio, con sorgos no resistentes a los pájaros, se encontró el mismo valor alimenticio. (8,23).

Cummings y Axtell, (1973) realizaron un experimento similar al anterior y obtuvieron los mismos resultados ; además al suplementar esas mismas dietas con lisina obtuvieron mejor respuesta en las que contenían el sorgo alto en taninos y sin pericarpio. - (23). Estos mismos autores obtuvieron mejores ganancias de peso en ratas alimentadas con sorgo resistente a los pájaros cuando suplementaron las dietas con lisina. (8,23).

Potter y Fuller (1968), al estudiar los efectos de ácido tánico en raciones para pollos de engorda, encontraron que el producto de la hidrólisis del ácido tánico es el ácido gálico el cual es excre

- tado en la orina y que la adición de metionina y colina a la dieta, tienden a hidrolizar el ácido tánico. (8,23).

Chang y Fuller (1964), reportan que suplementaciones de colina y metionina a dietas para pollos eliminan completamente la reducción del crecimiento producida por los taninos presentes en el grano de sorgo, pero solo parcialmente la toxicidad del ácido tánico. (3,4, 8,17, 18,23). Vohra et al., (1966), no pudieron reproducir estos resultados y citan que metionina, colina y ornitina no reducen el efecto detrimental que sobre el crecimiento tiene el ácido tánico. Connor et al., (1969), confirman en parte el trabajo de Chang y Fuller (1964) y concluyen que la metionina y colina reducen parcialmente la baja del crecimiento originado por el ácido tánico, pero no elimina completamente el efecto depresor del crecimiento por los taninos presentes en el sorgo. (23).

Con respecto a la digestibilidad de la proteína del sorgo, Adrian (1958) encontró que ésta es inferior en 10 % a la del maíz. Yañez et al., (1973) al realizar ensayos de valor biológico de la proteína

- del sorgo, concluyeron que la proteína de este cereal es de baja calidad. (23).

Con respecto al contenido de taninos del grano de sorgo, algunos autores (Thayer et al., 1957; Stephenson et al., 1968; y Talmadge et al., 1975), concluyen que la coloración de la cubierta del sorgo no es un indicador del verdadero valor nutritivo que puede tener este grano. (23).

Compactando lo anterior mencionado, se estipula que se han realizado diversos estudios en las aves en donde se ha demostrado que los sorgos con elevada concentración de taninos poseen menor energía metabolizable (Nelson et al., 1975; Eguiarte, ---- 1976), (8), disminuyen la ganancia de peso y aumenta la conversión alimenticia (Pró y Sosa., 1980) (17), la disponibilidad de los aminoácidos de tales sorgos se disminuye (Nelson et al., 1975) y además se les ha relacionado con otro tipo de problemas como - maformación de los huesos de las patas de las aves. (Elkin et al., 1978). (18).

El presente trabajo tiene como objetivo la realización del estudio

cuantitativo de los niveles de taninos en muestras de sorgo -- (Sorghum vulgare) procedentes de varios estados de la República Mexicana, con el fin de conocer cual es la verdadera situación en cuanto a este Tema a nivel Nacional, y de esa manera - poder establecer en un momento determinado si existe diferencia entre el sorgo de un lugar y otro; al mismo tiempo aplicar este conocimiento a las necesidades reales de una explotación animal.

Para la realización del presente estudio, es necesario establecer algunas generalidades sobre el principio básico químico, del procedimiento utilizado.

EL ANALISIS VOLUMETRICO FUNDAMENTAL. -

En este tipo de análisis se aprovechan reacciones cuantitativas que se verifican entre la substancia por determinar y un reactivo cuya concentración se conoce exactamente; del volúmen empleado de éste último para la realización de la reacción precisamente hasta su punto final, se calcula la cantidad de la sustancia que se pretende valorar. (13. 16).

PERMANGANIMETRIA.-

Los métodos basados en el poder oxidante del KMnO_4 son numerosos y de fácil ejecución en su gran mayoría; sin embargo, existe el inconveniente de que la estabilidad de las soluciones de Permanganato solamente se logran mediante técnicas especiales en su preparación. Para obtener una solución estable, es necesario que esté libre de peróxido y por lo tanto también de sustancias reductoras; en estas condiciones, se pueden preparar soluciones de Permanganato cuyo título permanece constante durante varios meses. (16).

Se han utilizado métodos para determinar taninos en granos de sorgo. Herrett (1956) utilizó 5 variedades de sorgo para comparar con procedimientos colorimétricos, diferencias de taninos en los granos. De los métodos colorimétricos solamente el reactivo de Folin - Denis y el de arsénico - tungstato fueron encontrados satisfactorios. (19).

Blessin et al., (1963) examinaron las antocianinas en grano de sorgo aislado con un proceso basado en la adsorción con resinas cambiantes de ión fuertemente básicas. El dato del espec

- tro del material purificado en diferentes solventes fue también estudiado. (19).

Harris et al., (1970), estudiaron la relación en el contenido de taninos y la digestibilidad de materia seca in-vitro del grano de sorgo. Los taninos fueron determinados por el método de Vainillina - HCL (VHCL) descrito por Burns (1963) para la determinación de taninos en forraje. (19).

Burns (1971) modificó el método de VHCL para el análisis de taninos en forraje y así permitir una rápida estimación del contenido de taninos en grano de sorgo. (19).

Maxon et al., (1972), usaron 2 métodos de análisis de taninos para medir el contenido de taninos en sorgo. Estos 2 métodos fueron:

- 1).- El método modificado de VHCL.
- 2).- El método de Sulfato de Amonio Férrico. (FAS).

El método FAS tiende a medir taninos hidrolizables mientras que el método M - VHCL mide taninos condensados. De

- cualquier manera existe una superposición entre los resultados obtenidos por estos 2 métodos y ninguno de los 2 mide claramente sustancias definidas. Los resultados del método M-VHCL son representados en equivalentes de catequinas y los del método FAS en equivalentes de Ac - Tánico. (19).

Maxon y Rooney (1972) evaluaron todos los métodos para el análisis de taninos en granos de sorgo. De los siete métodos que aparentemente prometían, solamente 3 se consideran que tienen un potencial de uso en el sorgo. Estos fueron:

- 1).- Método de Bate - Smith y Rasper.
- 2).- Método de Sulfato de Amonio Férrico. (FAS).
- 3).- Método modificado de Vainillina - Acido Hidroclorhídrico. (M - VHCL).

Ninguno de estos métodos mide el contenido de taninos en sustancias claramente definidas. Una revisión posterior de Maxon y Rooney (1972) indicó que los métodos FAS y M - VHCL son los mejores métodos de que se dispone para uso con grano de sorgo. (19).

C A P I T U L O III

M A T E R I A L Y M E T O D O S

MATERIAL Y METODOS

El presente trabajo fue realizado en el laboratorio de Toxicología del Departamento de Patología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia en la Universidad Nacional Autónoma de México.

III: 1.- REACTIVOS.

a).- Solución extractora de taninos, NaOH al 0.05 N.

Preparación.- Se pesa en la balanza analítica 2 g de Hidróxido de Sodio y se mezcla vigorosamente en un matraz con agua destilada aforando a un litro. (5).

b).- Solución Indicadora.- Indigo de carmín.

Preparación.- Se pesa en la balanza analítica 0.6 g del reactivo y se disuelve en 50 ml de agua, se mezcla y se calienta un poco en el mechero, después se enfría y se adicionan 5 ml de H_2SO_4 y se afora en un matraz a 100 ml con agua destilada. (1).

c). - Solución Titulante de taninos. - Permanganato de potasio, (KMnO_4).

Preparación. - Se pesa en la balanza analítica 1.333 g de KMnO_4 y se disuelve en 1 L de H_2O (matraz aforado a 1 L) destilada. (1).

d). - Solución para la Titulación de taninos. Acido Tánico.

Preparación. - Se pesa en la balanza analítica 1 g de Acido Tánico y se disuelve en 100 ml de H_2O destilada. (1).

III: 2. - MATERIALES.

- | | |
|--------------------------|-------------------------|
| - Digestor. | - Soporte Universal. |
| - Matraces de Digestión. | - Embudos. |
| - Tubos de ensaye. | - Papel Filtro. |
| - Pipetas Volumétricas. | - Vasos de Precipitado. |
| - Agitador Magnético. | - Bureta. |

III: 3.- MUESTRAS.

Se colectaron muestras de sorgo en grano (Sorghum vulgare) de 50 gramos cada una, procedentes de los siguientes lugares de la República Mexicana:

- I.- FORTIN, VERACRUZ.
- II.- TUXPAN, VERACRUZ.
- III.- RIO BRAVO, TAMAULIPAS.
- IV.- YURIRIA, GUANAJUATO.
- V.- SAN FERNANDO, TAMAULIPAS.
- VI.- ZACAPU, MICHOACAN.
- VII.- TAMPICO, TAMAULIPAS.
- VIII.- GUANDACAREO, MICHOACAN.
- IX.- MERIDA, YUCATAN.

El muestreo se llevó a cabo en los Almacenes Nacionales de Depósito, S.A. (ANDSA), Compañía Nacional de Subsistencias Populares (CONASUPO), Transferencias Graneleras, S.A. ; así como también visitas particulares a diferentes estados de la República Mexicana.

III.3.1.- SELECCION.

Las muestras obtenidas fueron sometidas al método de cuarteo en forma manual y visual para llegar a una cantidad analítica representativa (comúnmente 2g). Este paso se realizó 25 veces para cada muestra. (1).

III.3.2.- TRATAMIENTO.

Puesto que los taninos (la mayor parte de ellos) se encuentran en el pericarpio (cascarilla), éstos fueron extraídos mediante un método comprobado en eficiencia que es a base de NaOH al 0.05 N. (1).

Dicho método de extracción plantea que remojando semilla de sorgo a 30°C en solución de NaOH al 0.05 N se remueve el 75 - 85 % de los taninos en 24 horas, pero también plantea que si se incrementa la temperatura a 100 °C durante 20 minutos, el grado de extracción se incrementa y el tiempo requerido se reduce considerablemente.

III.3.3.- OBTENCION DEL FACTOR DE EQUIVALENCIA.

Dicho factor se obtuvo de la solución tituladora de taninos (ácido tánico) mediante la combinación de 2 ml de solución de Ac. tánico, 2 ml de agua destilada y 0.4 ml de solución indicadora (Índigo de carmín); todo ello bajo la acción del agitador magnético. Se añadió gota a gota la solución determinante de taninos (KMnO_4), hasta que el color azul rey que predominaba al principio virara al color amarillo oro.

Una vez obtenida la coloración característica del vire se tomaron en cuenta los mililitros agregados de la solución de KMnO_4 en proporción directa a 20 mg de Ac. tánico (2ml de solución de ácido tánico) y se realizó una regla de tres en relación a 1 ml para conocer la cantidad exacta de mg de Acido tánico titulados. (Factor de equivalencia).

III.4.- EXTRACCION.

En la presente investigación el método utilizado se desarrolló de la siguiente manera:

- a).- Una vez obtenidas las muestras (25 muestras) de 2g c/u, se depositaron en matraces de digestión y se les añadió

- 25 ml de solución extractora de taninos (NaOH 0.05 N).
 - b).- Dichas muestras fueron sometidas a una ebullición durante 20 minutos.
 - c).- Después se procedió a realizar un filtrado y así obtener la solución ya conteniendo la mayor parte de los taninos (90 %).
 - d).- A los granos de sorgo que quedaron en el matraz se les añadió nuevamente 25 ml de NaOH al 0.05 N para dejarlos remojando 24 Hrs. a temperatura ambiente y así de esa manera lograr una extracción total (el 100 %).
 - e).- Al día siguiente se procedió a unir los filtrados respectivos (tanto de la extracción de 20 min., como la de 24-Hrs.) y así proceder a la determinación total.

III.5.- TITULACION.

Los taninos ya extraídos se cuantificaron por titulación directa con solución valorada de $KMnO_4$, utilizando Índigo de carmín como indicador de vire, y efectuando un blanco al mismo tiempo. (1).

- a).- Se procedió a aforar las muestras con taninos a 100 ml con agua destilada.
- b).- Del matraz aforado se tomó una alícuota de 5 ml, se añadió 5 ml de agua destilada y 0,4 ml de indicador (Índigo de carmín).
- c).- La solución preparada de KMnO_4 colocada en una bureta se añadió gota a gota, hasta lograr el vire en coloración (del azul rey al verde limón y finalmente llegando al amarillo oro).
- d).- Una vez obtenido el vire, se procedió a tomar la lectura de mililitros en la bureta.
- e).- Los valores obtenidos se convirtieron a contenido total de taninos mediante el factor de equivalencia.
- f).- Todos estos pasos y los anteriormente descritos fueron aplicados a las 25 muestras de cada una de las muestras primarias.
- g).- Los resultados se agruparon para efectuar el análisis estadístico correspondiente.

C A P I T U L O I V

R E S U L T A D O S

RESULTADOS

Después de haber realizado las titulaciones de taninos en los filtrados de las muestras de sorgo, se obtuvieron resultados que fueron agrupados y tratados estadísticamente a fin de obtener un valor real y representativo de los taninos presentes en las muestras analizadas.

Se obtuvieron los resultados que a continuación se describen en los siguientes cuadros :

Cuadro No. 1.- *Media aritmética, Desviación standard y Rango del contenido de taninos en muestras de sorgo de la República Mexicana.*

Cuadro No. 2.- *Media aritmética, Desviación standard y Rango del porcentaje de taninos en sorgos provenientes de varios estados de la República Mexicana.*

Cuadro No. 3.- *Resultados obtenidos del ANOVA en cuanto al contenido de taninos, (2, 22) en sorgos mexicanos.*

Cuadro No. 4.- *Resultados del análisis de varianza sobre el porcentaje de taninos, (2, 22) en sorgos mexicanos.*

- Cuadro No. 5.- Resultados de la prueba de comparación múltiple de Tukey (2, 22) en lo referente al contenido de taninos en un nivel de significación con $P = 0.05$, en sorgos mexicanos .
- Cuadro No. 6.- Resultados de la prueba de comparación múltiple de Tukey (2, 22) del contenido de taninos en sorgos mexicanos en un nivel de significancia con $P = 0.01$.
- Cuadro No. 7.- Resultados de la prueba de comparación múltiple de Tukey (2, 22) en lo referente al porcentaje de taninos en sorgos mexicanos en un nivel de significancia con $P = 0.05$.
- Cuadro No. 8.- Resultados de la prueba de Tukey (2, 22) entre las muestras del porcentaje de taninos en sorgos mexicanos en un nivel de significancia con $P = 0.01$.

CUADRO No. 1

Media aritmética, Desviación standard y Rango del contenido de taninos * en muestras de sorgo de la República Mexicana. ;

Muestra	Procedencia .	\bar{X}	$\sqrt{\quad}$	R
I	FORTIN, VERACRUZ	22.16	2.592	9.8
II	TUXPAN, VERACRUZ	20.80	2.540	10.2
III	RIO BRAVO, TAMAULIPAS	19.44	3.027	10.2
IV	YURIRIA, GUANAJUATO	18.76	2.219	6.8
V	SN. FDO. TAMAULIPAS	22.16	3.121	13.6
VI	ZACAPU, MICHOACAN	26.49	3.519	12.8
VII	TAMPICO, TAMAULIPAS	19.96	3.236	12.8
VIII	GUANDACAREO, MICHOACAN	19.32	4.179	19.2
IX	MERIDA , YUCATAN	19.32	2.843	9.6

* El contenido total de taninos es expresado en mg/2g.

CUADRO No. 2

Media aritmética, Desviación standard y Rango del porcentaje * de taninos en sorgos provenientes de varios estados de la República Mexicana.

Muestra	Procedencia	\bar{X}	$\sqrt{\quad}$	R
I	FORTIN, VERACRUZ	1.10	.1273	.48
II	TUXPAN, VERACRUZ	1.03	.1337	.52
III	RIO BRAVO, TAMAULIPAS	.93	.1418	.49
IV	YURIRIA, GUANAJUATO	.93	.1104	.34
V	SN. FDO. TAMAULIPAS	1.10	.1560	.69
VI	ZACAPU, MICHOACAN	1.32	.1779	.64
VII	TAMPICO, TAMAULIPAS	.98	.1614	.64
VIII	GUÁNDACAREO, MICHOACAN	.95	.2079	.95
IX	MERIDÁ, YUCATAN	.95	.1435	.95

* Porcentaje de taninos en muestra. / 2g.

CUADRO No. 3

Resultados del análisis estadístico (ANOVA) del contenido de taninos en sorgos mexicanos.

Para determinar si las muestras analizadas eran diferentes o iguales estadísticamente hablando, los resultados se analizaron por medio del análisis de varianza entre muestras en base a la hipótesis planteada:

$$H: M_I = M_{II} \dots = M_{IX}$$

Con el criterio de rechazar dicha hipótesis cuando la F calculada fuese mayor que la F teórica. Los resultados obtenidos fueron:

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc
Muestras	8	1,174.456	146.807	15.35 ✓
Error	216	2065.614	9.56	x
Total	224	3,240.07	x	x

DONDE: F.V. = Fuente de variación.
 G.L. = Grados de libertad.
 S.C. = Suma de Cuadrados.
 C.M. = Cuadrado Medio.
 Fc. = Valor F. Calculada.

Se utilizó un criterio de rechazo a un nivel de significancia de 5 % y 1 % , encontrando un valor de F de tablas de:

$$F (8,216) \text{ al } 5 \% = 1.94$$

$$F (8,216) \text{ al } 1 \% = 2.51$$

Como consecuencia que el valor de F teórica es menor que F calculada se establece que existe una diferencia significativa entre las muestras, en lo referente al contenido de taninos.

Por lo tanto la hipótesis planteada ;

$$H_0: M_I = M_{II} \dots = M_{IX}$$

fué rechazada al 5 % y 1 % de significancia, lo que indica que entre las muestras existe una diferencia significativa.

Como consecuencia de estas diferencias, se procedió a aplicar métodos de comparaciones múltiples de Tukey a cada muestra para detectar las diferencias y cuantificarlas a un nivel de significancia de $P = 0.05$ y $P = 0.01$.

CUADRO No. 4

Resultados del análisis de varianza sobre el porcentaje de taninos en sorgos mexicanos.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	Fc.
Muestras	8	3.259	0.407	18.50 ✓
Error	216	4.751	0.022	x
Total	224	8.01	x	x

DONDE: F.V. = Fuente de Variación.
 G.L. = Grados de libertad.
 S.C. = Suma de Cuadrados.
 C.M. = Cuadrado Medio.
 Fc. = Valor F Calculada.

Similarmente al caso anterior (contenido de taninos) se utilizó un criterio de rechazo a un nivel de significancia de 5 % y 1 %, encontrando un valor de F de tablas de :

$$F (8, 216) \text{ al } 5 \% = 1.94$$

$$F (8, 216) \text{ al } 1 \% = 2.51$$

Como consecuencia se establece que el valor de F teórica es menor al de F calculada y que existe por lo tanto una diferencia significativa entre las muestras, en lo referente al porcentaje de taninos.

CUADRO No. 5

Resultados de la prueba de comparación múltiple de Tukey entre las muestras, en lo referente al contenido de taninos, en un nivel de significancia de 5% en sorgos mexicanos.

$$DMSH = q \left(\frac{1 - \alpha}{M, G.L.E} \right) \sqrt{\frac{C.M.E.}{P}}$$

DONDE: α = Nivel de significancia.
 M = Muestras.
 G.L.E = Grados de libertad del error.
 C.M.E. = Cuadrado medio del error.
 P = Repeticiones.

$$q = \left(\frac{1 - \alpha}{9, 224} \right) = \begin{matrix} 5\% = 4.39 \\ 1\% = 5.08 \end{matrix}$$

Por lo tanto:

$$DMSH = q \left(\frac{1 - 5}{9, 224} \right) \sqrt{\frac{9.56}{25}}$$

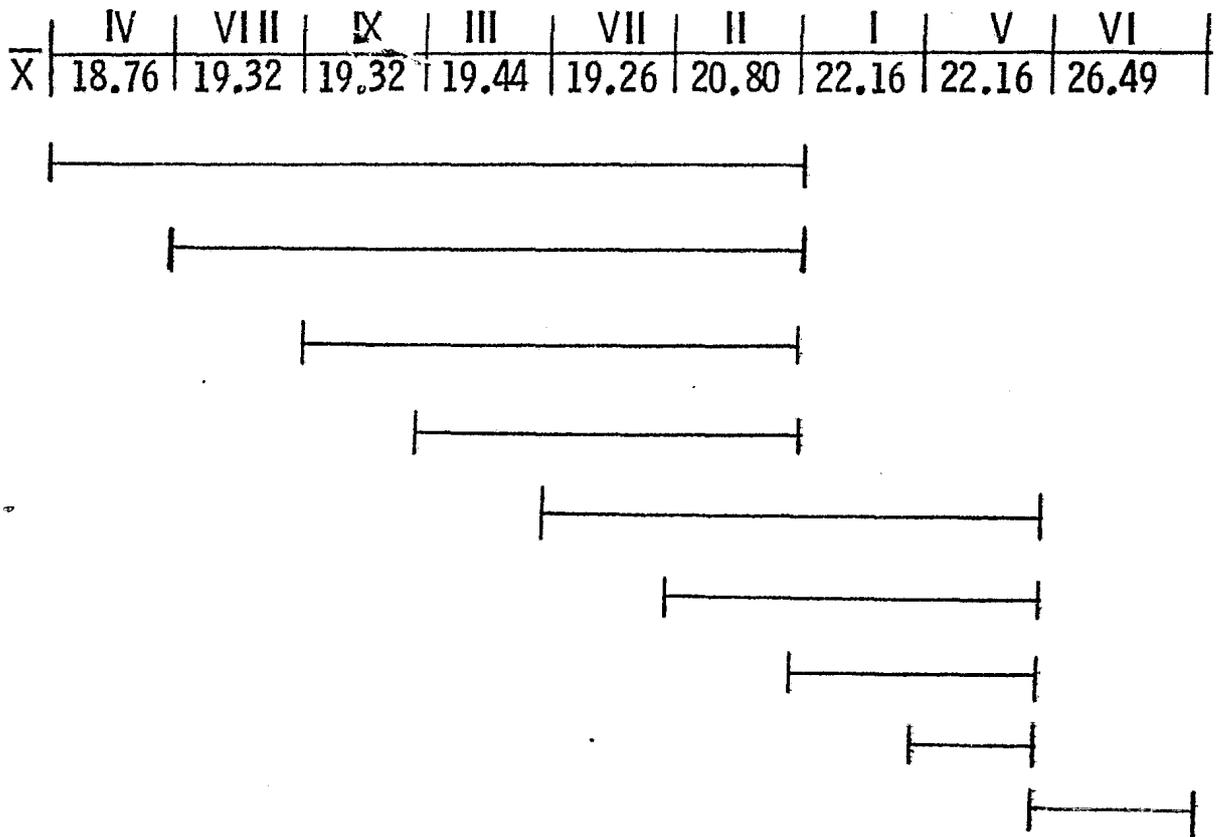
$$DMSH = 4.39 \sqrt{\frac{9.56}{25}} = \boxed{2.714}$$

$$DMSH = q \left(\frac{1 - 1}{9, 224} \right) \sqrt{\frac{9.56}{25}}$$

$$DMSH = 5.08 \sqrt{\frac{9.56}{25}} = \boxed{3.141}$$

$$P = 0.05$$

$$DMSH = 2.714$$



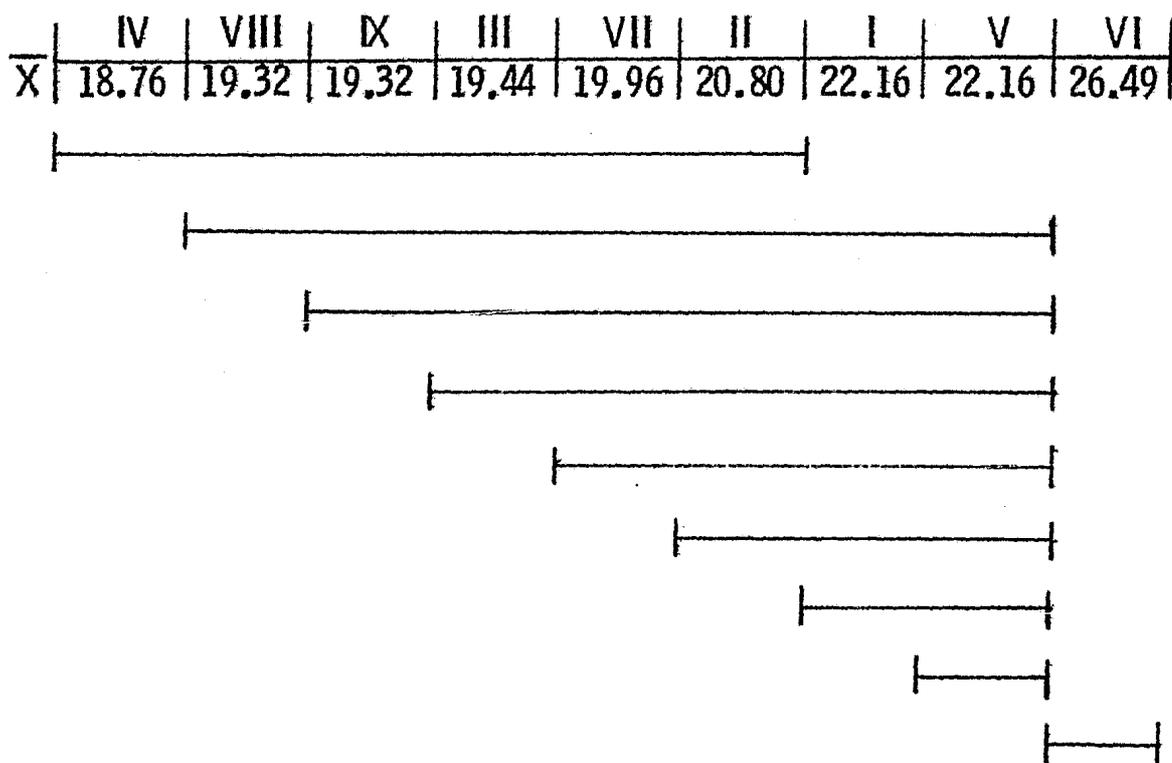
La línea continúa indica
igualdad entre las muestras.

CUADRO No. 6

Resultados de la prueba de comparación múltiple de Tukey del contenido de taninos en sorgos mexicanos en un nivel de significancia de 1 % .

$$P = 0.01$$

$$DMSH = 3.141$$



La línea continúa indica igualdad entre las muestras.

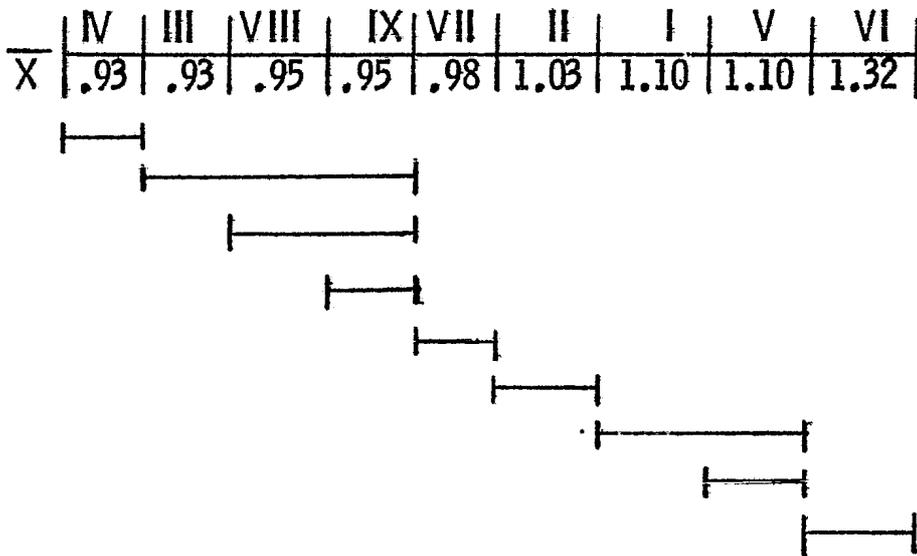
CUADRO No. 7

Resultados de la prueba de Tukey entre las muestras, en lo referente al porcentaje de taninos en sorgos mexicanos, en un nivel de significancia de 5 % .

$$DMSH = q_{(1-5)}^{(9,224)} \sqrt{\frac{0.022}{25}} = 4.39 \quad \sqrt{\frac{0.022}{5}} = .130$$

$$P = 0.05$$

$$DMSH = .130$$



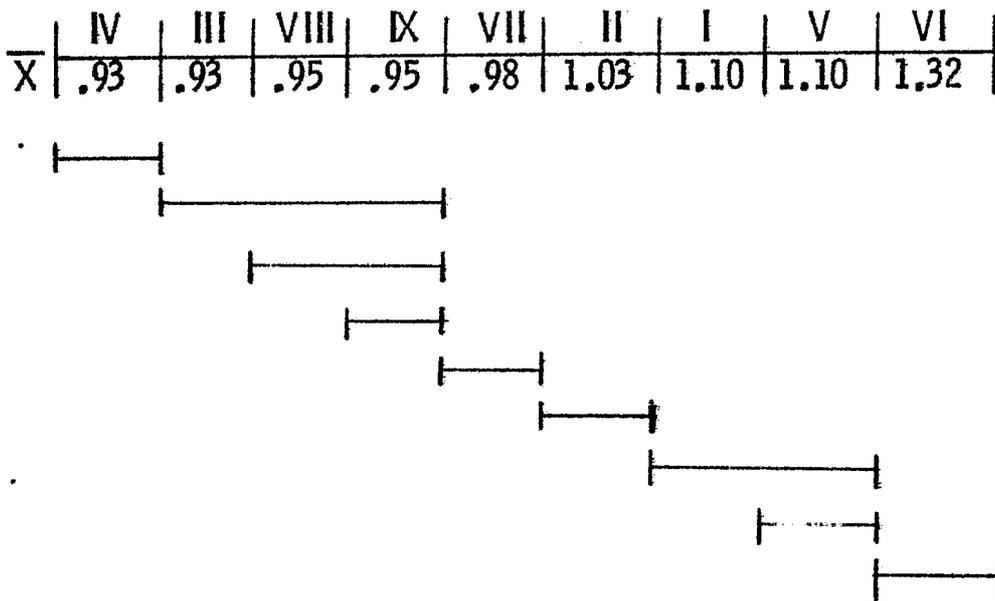
La línea continua indica igualdad entre las muestras.

CUADRO No. 8.

Resultados de la prueba de Tukey entre las muestras del porcentaje de taninos en sorgos mexicanos en un nivel de significancia de 1 % .

$$P = 0.01$$

$$DMSH = .150$$



La línea continúa indica igualdad entre las muestras.

C A P I T U L O V

D I S C U S I O N

DISCUSION

Durante el desarrollo del presente trabajo se conocieron los niveles de taninos de las muestras de sorgo de la República Mexicana y a su vez fueron comparados éstos entre sí para establecer alguna diferencia significativa entre ellos, como fue detallado en el capítulo anterior.

J.K. Chavan y Salunkhe, reportan que la extracción de taninos con una solución de Na OH al 0.05 N en remojo durante 24 hrs. se logra en un 84 % y cuando se calienta a ebullición durante 20 minutos, se logra un 86 % de la extracción. (5).

Si se comparan los resultados de este estudio con los realizados en otros países, se puede aseverar que la extracción de los taninos lograda en este trabajo fue mucho mayor que lo reportado (J.K. - Chavan, S.S. Kadam, C.P., Ghonsikar y D.K. Salunkhe) (5); ya que la eficiencia del método fue completa porque se utilizó el calentamiento a 100°C durante 20 min. con una solución de Na OH - 0.05 N y también se utilizó el remojo de los granos durante 24 hrs. con la misma solución; todo ello condujo a una extracción total de los taninos, comprobada incluso mediante una determinación

- posterior que arrojó dicha conclusión.

Estudios realizados por Chavan, J.K. et al., (1979) demuestran que el uso de sustancias como el Hidróxido de Potasio extraen el 81 % en 24 hrs. ; mientras que por ebullición (100°c) durante 20 minutos, se logra una extracción de un 87 % . (5).

Mencionan también que a 100°c durante 20 minutos con carbonato de Sodio se remueve un 83 % del contenido de taninos. (5).

Los porcentajes de contenido de taninos que se obtuvieron en las muestras de sorgo trabajadas (desde .93 % hasta 1.32 %) se consideran bajos de acuerdo a los niveles contenidos en otras variedades estudiadas por Chavan, J.K. et al (1979) en las cuales se encontraron porcentajes de 3.44 % , 2.86 % , 2.74 % , 2.54 % , 2.34 % , etc. (5).

Mencionan también en sus investigaciones que muestras de sorgo con mas del 2 % de contenido de taninos se consideran altas y son amargas, por lo consiguiente resistentes al acecho de los pájaros.

El nivel más alto reportado en el presente trabajo, corresponde a la Muestra No. VI procedente de Zacapu, Michoacán con el 1.32% de contenido de taninos en promedio.

Quiere decir con esto que las muestras estudiadas posiblemente no presentarán riesgos notables para la alimentación de los animales, debido a su bajo contenido de taninos. Sin embargo la afirmación anterior es preliminar, puesto que harán falta estudios más profundos de Nutrición para verificar si los taninos (aunque en baja concentración) no afectan la utilización de la proteína del alimento ingerido.

El desarrollo estadístico establece que las muestras son diferentes estadísticamente a un nivel de significancia de hasta un 5% (cuadros Nos. 3 y 4), por lo que se procedió a efectuar un análisis de comparación múltiple de Tukey (cuadros Nos. 5, 6, 7 y 8) y así establecer la igualdad o desigualdad entre los resultados de los análisis; dicho análisis concluye que algunas muestras son iguales y algunas otras diferentes, ver cuadros Nos. 5, 6, 7 y 8 para verificarlo.

En sí se puede afirmar que de nueve lugares de muestreo (de los cuales se tomaron 25 muestras de cada uno) trabajados se consideran con niveles aceptables de contenido de taninos desde el punto de vista nutritivo según lo informado por la literatura citada.

Sin embargo se recomendaría utilizar más frecuentemente los sorgos provenientes de los siguientes lugares : Yuriria, Guanajuato; Guandacareo, Michoacán; Río Bravo y Tampico, Tamaulipas. Dichos sorgos fueron los que tuvieron contenidos menores de taninos y que por ende causarían efectos antinutricionales menores cuando se consumieran.

En lo que respecta al aspecto analítico cabe señalar que es recomendable el método aplicado para la titulación y extracción de los taninos, debido a su aceptable utilización rutinaria, además de ser exacto y ser fácil su manejo y desarrollo.

CAPITULO VI

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

1.- Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio, se encontró que las muestras de sorgo analizadas procedentes de varios lugares de la República Mexicana, son diferentes significativamente entre ellas en cuanto al contenido de taninos.

2.- El desarrollo del método de comparación múltiple de Tukey, pone de manifiesto principalmente que la Muestra No. VI procedente de Zacapu, Michoacán es distinta a todas las demás en cuanto al contenido de taninos en un nivel de significancia de $P = 0.05$ y $P = 0.01$.

3.- Las muestras de sorgo provenientes de Zacapu, Michoacán (Muestra No. VI) tuvieron un contenido de taninos de 26.49 mg/2g de muestra analizada; lo que pone de manifiesto que es la cantidad mas alta encontrada en el presente estudio.

4.- Se concluye que todas las muestras de sorgo analizadas tienen niveles aceptables de contenido de taninos inferiores a las que se reportan como nocivos (2 %).

5.- Se sugiere un Estudio Nutricional para verificar si los taninos (aún bajos en concentración) no afectan la utilización de la proteína del alimento ingerido.

6.- Se recomienda la utilización de sorgo procedente de los siguientes lugares :

Yuriria, Guanajuato; Guandacareo, Michoacán ; Río Bravo y Tampico, Tamaulipas.

Dichos sorgos fueron los que tuvieron contenidos menores de taninos y se sospecha que serán los que menos problemas van a dar en una explotación animal, nutricionalmente hablando.

C A P I T U L O V I I

L I T E R A T U R A C I T A D A

LITERATURA CITADA

- 1.- A.O.A.C.: Official Methods of Analysis. Ass. Offic. Agric. Chem., 2nd. Ed. Washington, 1975.
- 2.- BLALOCK, M.H, Jr.: Social Statistics. 2a. Ed., U.S.A., 1972.
- 3.- CEJUDO, J., H.E.: Estudio de metodologías físicas, determinación de taninos y actividad de la enzima catecol - oxidasa, en granos de sorgo. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo, México., 1978.
- 4.- CHANG, S.I. and Fuller H., L.: Effect of tannin content of grain sorghums on their feeding value for growing chicks. Poult. Sci., 43: 30-36. (1964).
- 5.- CHAVAN, J., K., Kadam, S.S., Ghonsikar, C.P., and Salunkhe. D.K.: Removal of tannins and improvement of in vitro protein digestibility of sorghum seeds by soaking in alkali. J.Food Sci. 44: 1319. (1979).

- 6.- CHAVAN, J., K., Kadam, S.S., and Salunkhe, D.K.: Changes in Tannin, free amino acids, reducing sugars, and starch during seed germination of low and high tannin cultivars of sorghum, J. Food. Sci. 46: 638-639. (1981).
- 7.- DIAZ, P., C.I.: Manual de Gramíneas. División de Ciencias Biológicas y de la salud. Universidad Autónoma Metropolitana, Xochimilco, México., D.F., 1976.
- 8.- EGUIARTE, V., J.A.: Determinación de la energía metabolizable y del valor nutritivo de 5 variedades híbridas de sorgo en pollos de engorda. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. México., 1976.
- 9.- FERNANDEZ, P., C.: Análisis de productos forestales, maderas y taninos. Sección de Publicaciones, Madrid, España., Folleto 1,020., Universidad Autónoma de Chapingo., 1977.
- 10.- FLORES, M., J., A.: Bromatología Animal. 5 Ed. Editorial Limusa, México, D.F., 1977.

- 11.- **INFORME** del C. Director General de Ganadería; Actividades realizadas; Expectativas al año 2000, Estrategias. Subsecretaría de Ganadería, Dirección General de Ganadería; S.A.R.H. Primera reunión anual de la D.G.G. México, D.F., octubre 4 - 1982.

- 12.- **JAMBUNATHAN, R. and Mertz, E.T.:** Relationship between tannin levels, rat growth, and distribution of proteins in sorghum. J. Agric. Food Chem. 21: 692. (1973).

- 13.- **KENNETH, A.C.:** A textbook of pharmaceutical analysis. U. - S.A. 1967.

- 14.- **KRIPAL, S.; Arora, S.P.:** Effect of salseed meal tannins on growth rate and feed efficiency in crossbred calves. (Abst). In. J. of Dairy Sci. 33.: 3; 310 - 314, (1980).

- 15.- **LEON, N.A.:** La industria tanífera de México. Escuela Nacional de Economía. Tesis de licenciatura. Universidad Nacional Autónoma de México, 1965.

- 16.- OROZCO, D., F.,: Análisis Químico Cuantitativo. Ed. Porrúa, México., D.F., 1976.
- 17.- PRO, M.A., y E. Sosa, M.: Estudios de los sorgos altos en taninos en dietas para pollos de engorda en iniciación. V. Ciclo Internacional de Conferencias sobre Avicultura. Colegio de Postgraduados. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. P. 17 - 24, México, D.F., 1980.
- 18.- PRO, M.A., y E. Sosa, M.: Características nutricionales de sorgos con diferente contenido de taninos. VI Ciclo Internacional de Conferencias sobre Avicultura. Colegio de Postgraduados. Instituto Nacional de Investigaciones Pecuarias. P. 82. México, D.F., 1982.
- 19.- PURDUE, University, Laffayette, Indiana; U.S.A., Agricultural Department. Chemical and biochemical methods for sorghum grain. 1978.

- 20.- ROSS, W., M., y Webster, O.J.: Cultivo y utilización del sorgo para grano. Centro Regional de Ayuda Técnica. / Agencia para el desarrollo internacional. (AID), P. 14 - 15. México, D.F., 1967.
- 21.- SADANANDAN, K.P.; Arora, S.P.: Influence of tannins on rumen metabolism. (Abst). J. of Nuc. Agr. and Biol. 7; 3; 118 - 121. (1978).
- 22.- SNEDECOR, W., G.; COCHRAN, G., W.: Métodos Estadísticos, Editorial Continental, U.S.A. 1971.
- 23.- SUAREZ, F., J.A.: Estudio comparativo entre variedades de sorgo con diferentes contenidos de taninos en dietas para pollos. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. México, 1977.