



Universidad Autónoma de Querétaro
Facultad de Ciencias Naturales
Maestría en Recursos Bióticos

“EFECTO DEL NIVEL DE TANINOS DEL SORGO [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] SOBRE LA DINÁMICA DE LA DIGESTIÓN DE LAS KAFIRINAS Y LA FUNCIÓN DIGESTIVA EN LECHONES RECIÉN DESTETADOS”

TESIS

Que como parte de los requisitos para obtener el grado de

Maestro en Ciencias

Presenta:

José Guadalupe Gómez Soto

Dirigido por:

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza

SINODALES

Dra. Tércia Cesária Reis de Souza
Presidente

Dr. Gerardo Mariscal Landín
Secretario

M. en C. Araceli Aguilera Barreiro
Vocal

Dra. Guadalupe Bernal Santos
Suplente

Dr. Héctor Andrade Montemayor
Suplente

Firma
Firma
Firma
Firma
Firma

Centro Universitario
Querétaro, Qro.
Octubre del 2010
México

RESUMEN

Se utilizaron 44 lechones híbridos Duroc x Landrace destetados a 21 días de edad. Al destete se sacrificaron 4 lechones como referencia. 40 lechones se asignaron en dos grupos (20 animales por grupo). Cada grupo se trabajó en dos diferentes meses. En cada grupo se reasignaron los lechones en dos tratamientos: dieta con sorgo alto en taninos y dieta con sorgo bajo en taninos. Los híbridos de sorgo estudiados fueron: 5300R de ABT (sorgo bajo en taninos, < de 0.5% de taninos) y 81G67 de Pioneer 8172 (alto en taninos, > de 4% de taninos), los cuales se analizaron y se determinó su perfil de proteínas. En cada grupo, los lechones se alojaron en 4 corrales de destete suspensos, proveídos de bebederos de chupón y comederos con seis bocas, estando 5 lechones por corral en cada tratamiento. Los animales se pesaron al destete y al sacrificio. Los lechones tuvieron libre acceso al agua y alimento durante todo el período experimental que fue de 16 días. En cada grupo se sacrificaron 2 lechones de cada tratamiento al día 3 postdestete y al día 16 posdestete se sacrificaron 2 lechones de cada tratamiento a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento. La forma de sacrificio fue insensibilizando a los lechones por inhalación de bióxido de carbono durante 3 minutos y se seccionó la yugular. Se abrió la cavidad abdominal para colectar y pesar el páncreas y posteriormente se determinó la actividad total y específica de la tripsina, de igual manera se colectaron y pesaron el estómago, hígado e intestino delgado. Se colectó el contenido (digesta) de estómago, yeyuno e íleon. Los resultados de las variables de respuesta se analizaron por medio del procedimiento de modelos lineales generales (GLM) del paquete estadístico SAS. Se utilizó un diseño de bloques completos aleatorizados, contando cada uno de ellos con dos tratamientos. El factor de bloqueo fueron las camadas de lechones. Se corrieron 4 geles de poliacrilamida (SDS-PAGE) al 12%: 1 con digestas de estómago, 1 con digestas de yeyuno, 1 con digestas de íleon de los 2 tratamientos a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento y 1 gel con digestas de estómago, yeyuno e íleon de los 2 tratamientos a la hora 12 postconsumo de alimento. El análisis químico de los sorgos indica que son muy similares excepto en el contenido de fibra detergente neutro. El nivel de taninos de la dieta no afectó ($P < 0.05$) el peso absoluto o relativo del páncreas, estómago, hígado e intestino delgado. Sin embargo el peso absoluto de los órganos digestivos varió en función del día posdestete en que los lechones fueron sacrificados. El peso relativo de los órganos digestivos tuvo un comportamiento similar en relación al día posdestete, excepto el peso relativo del hígado que fue constante en todo el período experimental. Para el peso absoluto del estómago se observó una interacción ($P < 0.05$) entre la dieta consumida y el día de sacrificio. La actividad total de la tripsina no se vio afectada por el tipo de sorgo utilizado, mientras que la actividad específica varió con el día del sacrificio. Los trímeros y dímeros de kafirina de los geles se van digiriendo conforme pasan a través del tracto digestivo. Las kafirinas α_1 es la fracción más resistente a la digestión enzimática a través de su paso por el tracto digestivo. Las kafirinas β son altamente digestibles y absorbibles.

(Palabras clave: taninos, kafirinas).

SUMMARY

We used 44 Duroc x Landrace hybrid pigs weaned at 21 days of age. 4 weaning piglets were sacrificed for reference. 40 piglets were allocated into two groups (20 animals per group). Each group worked in two different months. In each group, piglets were re-allocated to two treatments: diet with high tannin sorghum and sorghum diet low in tannins. The sorghum hybrids were: ABT 5300R (low tannin sorghum, <0.5% tannins) and Pioneer 81G67 8172 (high tannin, >4% tannins), which was analyzed and found his profile protein. In each group, the piglets were housed in 4 pens at weaning suspended, provided with nipple drinkers and feeders with six mouths, with 5 pigs per pen in each treatment. The animals were weighed at weaning and slaughter. The piglets had free access to food and water throughout the experimental period was 16 days. In each group were sacrificed 2 piglets from each treatment on day 3 after weaning and 16 days after weaning piglets were sacrificed two of each treatment at the time 3, 6, 9 and 12 hours post-consumption of food. The form of sacrifice was numbing to piglets by inhalation of carbon dioxide for 3 minutes and severed the jugular. The abdominal cavity was opened to collect and weigh the pancreas and then determined the total and specific activity of trypsin, The same were collected and weighed as stomach, liver and small intestine. We collected the contents (digesta) of the stomach, jejunum and ileum. The results of the response variables were analyzed using the general linear models procedure (GLM) of SAS. We used a block design aleatorizados, counting each with two treatments. The blocking factor was the litters of piglets. 4 were run polyacrylamide gels (SDS-PAGE) 12%: 1 with digesta of stomach, 1 with jejunal digesta, 1 with ileal digesta each one with the two treatments when 3, 6, 9 and 12 hours post-consumption of food and 1 gel digests of the stomach, jejunum and ileum of the two treatments at 12 hours post-consumption of food. The chemical analysis indicates that sorghum are very similar except in the neutral detergent fiber. The level of tannins in the diet did not affect ($P < 0.05$) absolute or relative weight of the pancreas, stomach, liver and small intestine. However, the absolute weight of the digestive organs varied depending on the day after weaning when the pigs were slaughtered. The relative weight of digestive organs had a similar pattern in relation to days after weaning, except for relative liver weight was constant throughout the experimental period. For the absolute weight of the stomach is an interaction ($P < 0.05$) between the diet consumed and the day of sacrifice. The total activity of trypsin was not affected by the type of sorghum was used, while the specific activity varied with the day of slaughter. The kafirins trimers and dimers of the gels were digested as they pass through the digestive tract. The kafirins α_1 are the fraction more resisting to enzymatic degradation through its passage by the digestive tract. The kafirins β are highly digestible and absorbable.

(Key words: tannins, kafirins).

DEDICATORIA

A mis padres Raúl y Silvia que me educaron día a día mediante un gran esfuerzo que se traduce en amor, a mis tíos Omar y Lupita que me han guiado y animado a través de los años. A mis hermanas Alejandra y Mariela, a mis sobrinos Juan Manuel y Alondra. A mis primos José Luis y Fátima, José, Edith, Martha, Fabiola y David. A mis tías Martha y Mimí por su apoyo y guía. A mi tío David por su ejemplo de trabajo. A mis amigos Margarita, David, Juan David, Rosa y Fam., a todos ellos que han sido un motivo de alegría en mi vida.

A mis amigos de la maestría Yolanda, Alba, Kruskaia, Catalina, Alma, Karina, Daniela, Alfonso, Nalleli, Eliut que compartieron dos años de su vida conmigo, aprendiendo a compartir y a discutir con diferentes puntos de vista.

A mis profesores del posgrado, de quienes aprendí no sólo a nivel académico, sino a nivel personal: Dra. Tércia, Dra. Bernal, Mtra. Araceli, Dr. Mariscal, Dr. Héctor, Dr. Robert Jones, Dr. Humberto, Dra. Lupita, Dr. Carlos, Dr. Óscar y a todos lo que participaron en este proceso de formación académica.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco al CONACYT por su apoyo económico para poder realizar el presente trabajo, así como a la Universidad Autónoma de Querétaro y al CENID-Fisiología Animal.

A la Dra. Tércia Reis, Dra. Guadalupe Bernal, Dr. Gerardo Mariscal, Mtra. Araceli Aguilera, Dr. Héctor Andrade, Mtro. Konigsmar Escobedo que más que formadores académicos han sido como padres que me han guiado, tenido paciencia y compartido sus conocimientos y experiencias.

A Luis Hernández por su tiempo y paciencia.

A mis compañeros tanto de la Facultad de Ciencias Naturales, así como del CENID-Fisiología Animal.

ÍNDICE

	Página
Firmas	i
Resumen	ii
Summary	iii
Dedicatorias	iv
Agradecimientos	v
Índice	vi
Índice de cuadros	viii
Índice de Figuras	ix
I Introducción	1
II Revisión de literatura	4
2.1 La edad al destete y el estado fisiológico del lechón	4
2.2 Componentes de la dieta iniciadora	5
2.2.1 El sorgo en la alimentación de lechones	7
2.2.1.1 El grano del sorgo	7
III Objetivos	16
3.1 Objetivo general	16
3.2 Objetivos específicos	16
IV Material y métodos	18
4.1 Híbridos de sorgo y tratamientos a estudiar	18
4.2 Dietas y animales	18
4.3 Alojamiento y manejo general	20
4.4 Sacrificio y toma de muestras	20
4.5 Análisis de laboratorio	21
4.6 Análisis estadístico	24
V Resultados y discusión	25
5.1 Composición química de los sorgos	25
5.2 Desarrollo de órganos y actividad enzimática	27
5.2.1 Homogeneidad de los grupos	27
5.2.2 Peso al sacrificio	27
5.2.3 Peso de los órganos digestivos	27
5.2.4 Actividad enzimática	31
5.3 Efecto de la hora de sacrificio sobre el peso del páncreas, actividad enzimática y pH del contenido de los órganos digestivos	35
5.4 Identificación y digestión de las kafirinas	36
5.4.1 Identificación de las kafirinas del sorgo	38
5.4.2 Dinámica de la desaparición de las kafirinas durante la digestión	39
5.4.2.1 Desaparición de las kafirinas en el estómago	39
5.4.2.2 Desaparición de las kafirinas en el yeyuno	41
5.4.2.3 Desaparición de las kafirinas en el íleon	43
5.4.2.4 Detección de kafirinas en el tracto digestivo a las 12 horas postconsumo	45
VI Conclusiones	47
VII Propuestas para futuros trabajos	49
VIII Anexos	51

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
1 Clasificación de las kafirinas por diversos autores	10
2 Composición centesimal de las dietas experimentales	18
3 Comparación del contenido de taninos, composición química y perfil de proteínas de distintas variedades de sorgo	25
4 Peso de los órganos digestivos al día 16 postdestete de lechones alimentados con dietas con dos variedades de sorgo	28
5 Peso de los órganos digestivos de los lechones de acuerdo al día de sacrificio	29
6 Actividad de la tripsina en lechones alimentados con dietas con dos variedades de sorgo y sacrificados en diferentes días postdestete	31
7 Efecto de la dieta y hora postconsumo de alimento al día 16 postdestete sobre el peso del páncreas, actividad enzimática en el tejido pancreático y pH del contenido del tracto gastrointestinal	35
8 Efecto de la hora postconsumo de alimento al día 16 postdestete sobre el peso del páncreas, actividad enzimática en el tejido pancreático y pH del contenido del tracto gastrointestinal	36
9 Rango de peso molecular de las kafirinas obtenido en los <i>Western blot</i>	37

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
1 Estructura interna de un grano de sorgo	7
2 SDS-PAGE de kafirinas totales del grano de sorgo sin reducir, extraídas con terbutanol al 60%	11
3 Taninos condensados e hidrolizables	13
4 Diagrama que muestra el agrupamiento de los lechones tomando en cuenta los dos grupos experimentales	19
5 Peso absoluto del estómago según la dieta consumida y el día postdestete	30
6 Actividad pancreática de la tripsina en lechones sacrificados en diferentes días postdestete	34
7 <i>Western blot</i> que indica la distribución de las kafirinas en las digestas de estómago a diferentes horas postconsumo	40
8 <i>Western blot</i> de las digestas de yeyuno a diferentes horas postconsumo	42
9 <i>Western blot</i> de las digestas de íleon a diferentes horas postconsumo	43
10 <i>Western blot</i> de digestas de estómago, yeyuno e íleon a las 12 horas postconsumo	46

EFECTO DEL NIVEL DE TANINOS DEL SORGO [*Sorghum bicolor* (L.) Moench] SOBRE LA DINÁMICA DE LA DIGESTIÓN DE LAS KAFIRINAS Y LA FUNCIÓN DIGESTIVA EN LECHONES RECIÉN DESTETADOS

I.INTRODUCCIÓN.

El alimento representa entre el 60 y el 75% del costo total de la producción de cerdos. Los aminoácidos, carbohidratos, vitaminas y minerales deben ser balanceados y ofrecidos a través del alimento, con el previo conocimiento de los requerimientos del animal y su etapa productiva. En el transcurso de las últimas tres décadas se ha realizado un gran esfuerzo para mejorar la productividad en los sistemas porcinos, enfocándose principalmente a obtener un mejor índice de conversión alimenticia, que se traduzca en una mayor tasa de crecimiento de los animales. Sin embargo, en años recientes se ha generado un nuevo concepto de bienestar global en la porcicultura, enfocado al bienestar y la salud de los animales, así como al cuidado del medio ambiente. Este nuevo concepto de producción ha tenido como resultado cambios importantes en las condiciones de alojamiento y de manejo de los animales, así como en la composición del alimento para cubrir los requerimientos nutricionales. Estos cambios son influenciados por diferentes factores como: el medio ambiente (temperatura, humedad, tipo de instalación y competencia por el alimento), la raza, el sexo y la genética, el estado de salud de la madre, la presencia de factores antinutricionales (FAN) en la dieta, la disponibilidad y absorción de los nutrientes en la dieta, la variabilidad en el contenido de nutrientes y disponibilidad en el alimento, la cantidad de aditivos y promotores de crecimiento, la concentración de energía en la dieta y la estrategia de alimentación (limitada o a libre acceso) (Goodband, 2000).

La fase de crianza de los lechones es un período crítico en la producción porcina, en donde los factores ambientales y psicosociales tienen un impacto importante en el bienestar animal y por ende en sus requerimientos nutricionales.

Las necesidades nutritivas de los lechones destetados son elevadas (NRC, 1998). El cambio de la leche materna al alimento sólido suele ser dramático para el lechón, teniendo como resultado una inapetencia transitoria y en consecuencia una tasa de crecimiento negativa en los primeros días postdestete. Estos efectos negativos podrían disminuirse mediante una cuidadosa formulación de dietas palatables con un alto contenido energético y un adecuado equilibrio de nutrimentos (Danielsen, 1998). Reis de Souza *et al.* (2007) recomiendan el uso de ingredientes digestibles y con baja concentración de FAN, los cuales disminuyen la digestibilidad del nitrógeno (Allee y Touchette, 1999). Los taninos y los polisacáridos no amiláceos de los cereales (por ejemplo glicoproteínas como la glicoproteína rica en hidroxiprolina o extensina que es altamente resistente a la mayoría de las proteasas) son FAN que podrían afectar negativamente la digestibilidad de la dieta, lo que puede limitar su inclusión en las raciones para lechones en las fases iniciales de alimentación (Duodu *et al.*, 2003; Reis de Souza *et al.*, 2005).

Existe poca información publicada respecto al efecto que tienen los taninos de la dieta en el desarrollo digestivo de los lechones recién destetados, generalmente se habla del efecto negativo que tienen los taninos en el proceso digestivo de los cerdos, mientras que la información publicada referente a las prolaminas del sorgo es amplia.

Siendo el sorgo el segundo cereal más producido en México, después del maíz (USDA, 2009), consideremos que el presente estudio tiene como finalidad comparar la

respuesta digestiva de lechones recién destetados a la ingestión de alimento elaborado en base a dos variedades de sorgo que difieren en su contenido de taninos.

II. REVISIÓN DE LITERATURA.

2.1 La edad al destete y el estado fisiológico del lechón.

En el continente americano el destete de los lechones se realiza generalmente alrededor de los 21 días de edad. En comparación a los destetes ultraprecoces (10-14 días de vida), el destete a los 21 días permite mejorar el estado sanitario del lechón y maximizar el rendimiento reproductivo, lo que resulta en más cerdos destetados por hembra al año. Sin embargo, se debe considerar que el destete se asocia con problemas inmunológicos, ya que los lechones recién destetados poseen un sistema inmune inmaduro y al trasladarse a nuevos alojamientos que contienen patógenos potenciales, éstos amenazan su salud (Allee y Touchette, 1999). Por otro lado, existen problemas nutricionales y neuroendócrinos que frecuentemente resultan en una disminución del consumo de alimento y del crecimiento del lechón, pues estos animales poseen un sistema digestivo poco desarrollado (Reis de Souza *et al.*, 2007).

Los lechones también están sujetos a otros agentes estresantes al destete, entre ellos se incluye el estrés psicológico debido al cambio de instalaciones, a la separación de la madre y de los hermanos de camada y consecuentemente al establecimiento de nuevas jerarquías en los grupos recién formados, que puede resultar en una liberación de elevados niveles de cortisol. Todos los factores de estrés anteriormente mencionados, resultan en una disminución del consumo de alimento, principalmente durante los tres primeros días postdestete, ocasionando que el intestino delgado experimente grandes cambios en la arquitectura de las vellosidades, reduciendo la actividad enzimática y la capacidad digestiva (Kelly *et al.*, 1991; Allee y Touchette, 1999).

Otros factores que contribuyen a la atrofia de las vellosidades intestinales, descritos por Allee y Touchette (1999), se relacionan con la ausencia del consumo de leche, la ingestión de una dieta sólida, la invasión por microorganismos o la introducción de compuestos alergénicos en la dieta postdestete. Cuatro o cinco días después del destete, el intestino entra en una fase de recuperación que se manifiesta por hiperplasia de las criptas y alargamiento de las vellosidades. Este es también el momento en el que el consumo de la dieta sólida ha mejorado lo suficiente como para suministrar los nutrientes necesarios para que el crecimiento continúe, por lo que se desarrolla cierto nivel de madurez anatómica y fisiológica (De Pasillé *et al.*, 1989).

Así, para que se genere el proceso de adaptación digestiva es necesario que los lechones recién destetados consuman proteínas de origen vegetal (Aguilera *et al.*, 2005).

2.2 Componentes de la dieta iniciadora.

La formulación de dietas iniciadoras debe cubrir las necesidades nutricionales de los lechones, al tiempo que se minimice la contaminación ambiental, reduciéndose la excreción de nitrógeno y fósforo en heces y orina, además de reducir e incluso eliminar el uso de antibióticos como promotores de crecimiento (Danielsen, 1998).

La rentabilidad de la producción porcina está determinada principalmente por el éxito o fracaso de la transición de la leche materna a dietas sólidas, sin que ocurra una reducción del crecimiento o presencia de enfermedades. El potencial de crecimiento de los lechones es alto inmediatamente después del destete, pero el limitado consumo de alimento junto con un sistema digestivo inmaduro impide a menudo que se alcance este potencial en condiciones prácticas (Allee y Touchette, 1999).

El consumo precoz de alimento sólido depende del apetito, de la aceptabilidad de los alimentos que se ofrecen y del modo en que son tolerados y digeridos por el lechón. Los lechones recién destetados son capaces de distinguir, elegir y expresar su preferencia por dietas que contienen diferentes cereales (Reis de Souza *et al.*, 2005).

Para elaborar dietas iniciadoras con alta calidad nutrimental que faciliten el proceso digestivo en el período postdestete, se usan aditivos, como los acidificantes, enzimas, probióticos y prebióticos; así como ingredientes altamente digestibles como los concentrados proteínicos y otros subproductos de origen vegetal o animal. Se recomienda incorporar a estas dietas justo después del destete, los productos lácteos, como el suero de leche, en virtud de que son fuente de lactosa y proteínas, debido a sus efectos benéficos sobre el desempeño zootécnico, digestivo y nutrimental del lechón (Reis de Souza *et al.*, 2007).

Las necesidades nutritivas de aminoácidos pueden suplirse mediante la utilización de un elevado nivel proteico, pero se debe considerar que un exceso de proteína aumenta la incidencia de diarreas y reduce la utilización de la proteína. Se recomienda cubrir las necesidades de aminoácidos con un nivel de proteína lo más bajo posible, pudiendo añadir aminoácidos sintéticos específicos. Los diez aminoácidos esenciales que deben considerarse en una dieta para cerdos son: lisina, treonina, triptófano, metionina, leucina, isoleucina, histidina, valina, arginina y fenilalanina. La mayoría de los granos de cereales son limitantes en lisina, triptófano, treonina y metionina, por lo que dichos aminoácidos son importantes en la determinación de la calidad de proteína para la alimentación de cerdos (Goodband, 2000).

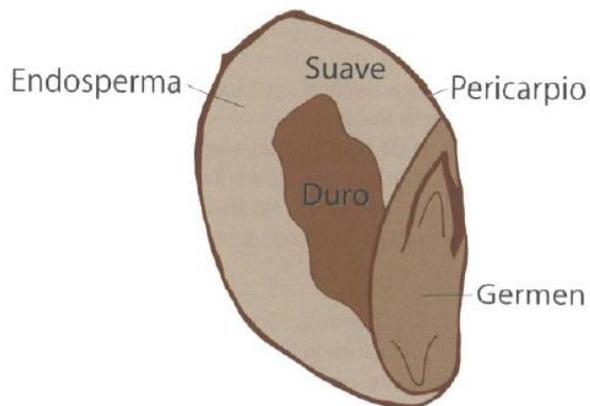
2.2.1 El sorgo en la alimentación de lechones.

El sorgo ocupa el quinto lugar mundial en los granos de mayor importancia económica y se considera un cultivo alimenticio primario en los trópicos semiáridos de Asia, África y Sudamérica, ya que se cultiva en áreas secas con poca humedad en el suelo (Chamba *et al.*, 2005). El sorgo es un grano que consume la población más pobre del mundo y su uso está dado por los niveles de almidón y proteína similares a otros granos de cereales, siendo las prolaminas las más abundantes en los granos de cereales, por lo que son una fuente importante de proteína para los humanos y el ganado (Bansal *et al.*, 2008). En México el sorgo es el segundo cereal que más se produce y representa el 68% de todos los cereales usados en la industria ganadera mexicana (Mariscal-Landín *et al.*, 2004).

2.2.1.1 El grano del sorgo.

El grano de sorgo tiene un diámetro comprendido entre 3 y 6 mm (Ibar, 1984) y se compone de tres partes: pericarpio, endospermo y germen (Figura 1).

Figura 1. Estructura interna de un grano de sorgo (Farias, 2005).



El pericarpio o epidermis consta de tres capas conteniendo pigmentos y ceras la más externa de ellas, la capa media se constituye por gránulos de almidón incluidos en una densa red proteica y la capa interna está formado por células en forma de cruz y tubulares.

El endospermo o tejido de almacenamiento se compone mayormente de proteína y carbohidratos y se conforma por una capa de aleurona y porciones de endospermo córneo y harinoso. La capa de aleurona se localiza inmediatamente debajo del pericarpio y consiste de pequeñas células densas con un contenido relativamente alto de aceite y proteína. El endospermo córneo se localiza debajo de la aleurona y está constituido por células que contienen almidón y que se entremezclan con una gruesa matriz proteica compuesta por los cuerpos proteicos. El endospermo harinoso se localiza en el centro del grano y está rodeado por el endospermo córneo (Rooney y Clark, 1968).

El germen se encuentra firmemente incrustado en el grano y contiene el embrión de la nueva planta y sus estructuras asociadas (Rooney y Clark, 1968; Farías, 2005).

El endospermo conforma el 82% del grano de sorgo, el germen el 10% y el pericarpio y tejidos asociados (salvado) el 8% (Wall y Blessin, 1969). Cerca del 90% del almidón y 80% de la proteína total se encuentra en el endospermo, mientras que el 75% del extracto etéreo está en el germen (Rooney y Clark, 1968). En términos generales el grano de sorgo contiene un 2% de fibra, de 8 a 12% de proteína y de 72 a 76% de almidón. La composición del germen es de 28% de aceite, 19.5% de proteína y 10% de cenizas (Wall y Blessin, 1969).

El almidón del sorgo, mayor componente del grano, contiene amilosa y amilopectina, el primero es un polímero lineal y el segundo es un polímero ramificado (Serna-Saldivar y Rooney, 1995). El contenido de amilosa está correlacionado positivamente con la dureza del endospermo (Cagampang y Kierls, 1984). La proteína es el segundo mayor componente (Serna-Saldivar y Rooney, 1995). Del total de ácidos grasos los que se encuentran en mayor concentración son el ácido linoleico, oleico y palmítico (Osman *et al.*, 2000). La fibra del

sorgo se encuentra principalmente en el pericarpio y en las paredes celulares del endospermo y está formado básicamente por celulosa y glucuronoarabinosilanos, respectivamente (Verbruggen, 1993), aunque también contiene β -glucanos, lignina, pectinas y gomas (Hoseney, 1994). Del 3.7 al 7.9% del grano es fibra insoluble, mientras que del 1.1 al 1.23% es fibra soluble (Serna-Saldivar y Rooney, 1995).

Avellaneda (1999) y Bansal *et al.* (2008) describen que las proteínas del grano de sorgo se han clasificado según su solubilidad en albúminas (solubles en agua), globulinas (solubles en soluciones salinas), prolaminas (solubles en alcohol) y glutelinas (solubles en soluciones básicas). Las principales prolaminas del sorgo son las kafirinas, que son las proteínas más abundantes del grano de sorgo, conformando el 70-80% de las proteínas del endospermo (Mazhar *et al.*, 1993; Nunes *et al.*, 2005; Wong *et al.*, 2009) y el 40-55% de las proteínas totales en el grano maduro, además de que contienen elevados niveles de prolina y glutamina (Bansal *et al.*, 2008; De Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010), que en conjunto suman el 30% de los residuos totales en las fracciones totales de kafirinas (Belton *et al.*, 2006).

Belton *et al.* (2006) mencionan que las prolaminas de los cereales comprenden una mezcla de componentes monoméricos (α y β kafirinas), oligoméricos (α y γ kafirinas) y poliméricos (α , β y γ kafirinas). Diversos autores clasifican las kafirinas de acuerdo a su peso molecular, estructura y solubilidad (Cuadro 1).

En conjunto las kafirinas α representan el 66–84%, las kafirinas β el 8–13% y las kafirinas γ representan el 9-21% de las kafirinas totales (Chamba *et al.*, 2005; Wong *et al.*, 2009; De Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010) y las kafirinas δ se presentan en bajos niveles (De Mesa-Stonestreet *et al.*, 2010) (Figura 2). Las kafirinas α se localizan en la parte central e interna del cuerpo proteico y además, son las más abundantes de las prolaminas del sorgo

(Oria *et al.*, 1995; Ioerger *et al.*, 2007; De Mesa- Stonestreet *et al.*, 2010), mientras que las kafirinas β y las kafirinas γ , se encuentran localizadas en la periferia del cuerpo proteico o como una inclusión en el mismo (Chandrashekar y Mazhar, 1999; Taylor *et al.*, 2007), dificultando el acceso de las enzimas para digerir las kafirinas α .

Cuadro 1. Clasificación de las kafirinas por diversos autores.

Autor	Kafirinas α (kDa)	Kafirinas β (kDa)	Kafirinas γ (kDa)	Kafirinas δ (kDa)
Mazhar y Chandrashekar (1995)	24-28 y 22	19	27	-
Hamaker <i>et al.</i> (1995); Oria <i>et al.</i> (1995); Duodu <i>et al.</i> (2002)	23 y 25	16, 18, 20	28	-
Chandrashekar y Mazhar (1999)	23 y 25	19	27	NE*
Emmambux y Taylor (2003); Nunes <i>et al.</i> (2005)	23 y 25	20	28	-
Belton <i>et al.</i> (2006)	26-27	18.74	20.2	12.9
Bansal <i>et al.</i> (2008)	23 y 25	15, 17 y 18	28	-
Wong <i>et al.</i> (2009)	23 y 25	20	28	-
De Mesa-Stonestreet <i>et al.</i> (2010)	23 y 25	18	20	13

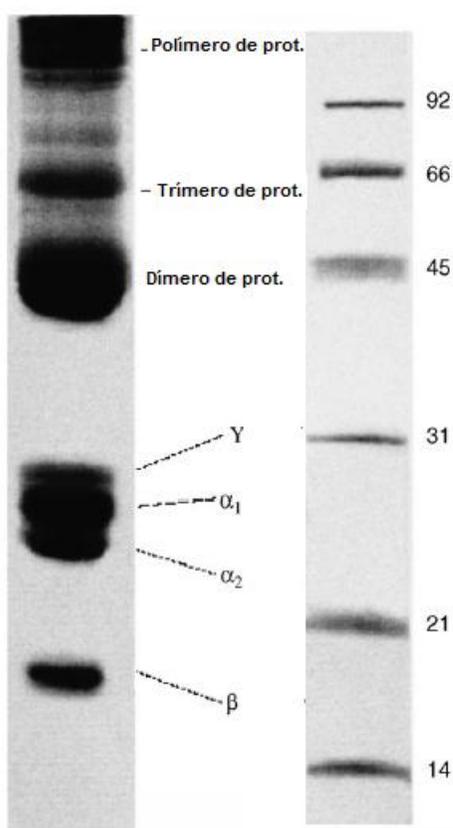
*NE: No estudiado.

Una alta proporción de las kafirinas α totales son extraíbles en solución alcohólica como una mezcla de monómeros, oligómeros y polímeros, pero algunas subunidades están presentes en polímeros insolubles y sólo se pueden extraer en condiciones de reducción (Belton *et al.*, 2006).

Belton *et al.* (2006) y De Mesa-Stonestreet *et al.* (2010) describen que el peso molecular de las kafirinas γ es mucho menor al descrito por los demás autores presentados

en el Cuadro 1. Belton *et al.* (2006) muestra el peso molecular de una kafirina γ cuya secuencia está determinada. Mazhar *et al.* (1993) realizaron un experimento donde corrieron muestras de prolaminas del sorgo extraídas con 40-80% de terbutanol y detectaron únicamente bandas de kafirinas α_1 , kafirinas α_2 y kafirinas β . También mencionan que las kafirinas γ se llegan a encimar en la banda de las kafirinas α_1 .

Figura 2. SDS-PAGE de kafirinas totales del grano de sorgo sin reducir, extraídas con terbutanol al 60% (Modificado de Belton *et al.*, 2006).



El sorgo tiene mayor contenido de proteína cruda que el maíz, sin embargo su proteína es menos digestible y varía en función de la cantidad de taninos presentes. Fialho *et al.* (2004) indican que el sorgo bajo en taninos puede ser utilizado para reemplazar el

maíz en dietas para lechones, sin afectar el consumo, la ganancia de peso y el índice de conversión alimenticia.

Los taninos son compuestos polifenólicos de alto peso molecular que se encuentran en el pericarpio del grano, y su nombre proviene del uso que se les ha dado para curtir las pieles de los animales (del inglés *tanning*) (Avellaneda, 1999). La cubierta del sorgo puede presentar una amplia variedad de colores dependiendo de la concentración de taninos (Belmar y Nava, 2005). La función de los taninos en la planta es retardar el crecimiento de las semillas debido a la inhibición de la degradación del almidón y proteínas. Los taninos protegen al grano del sorgo de la depredación de los pájaros y de las infestaciones por hongos (Reyes *et al.*, 2000).

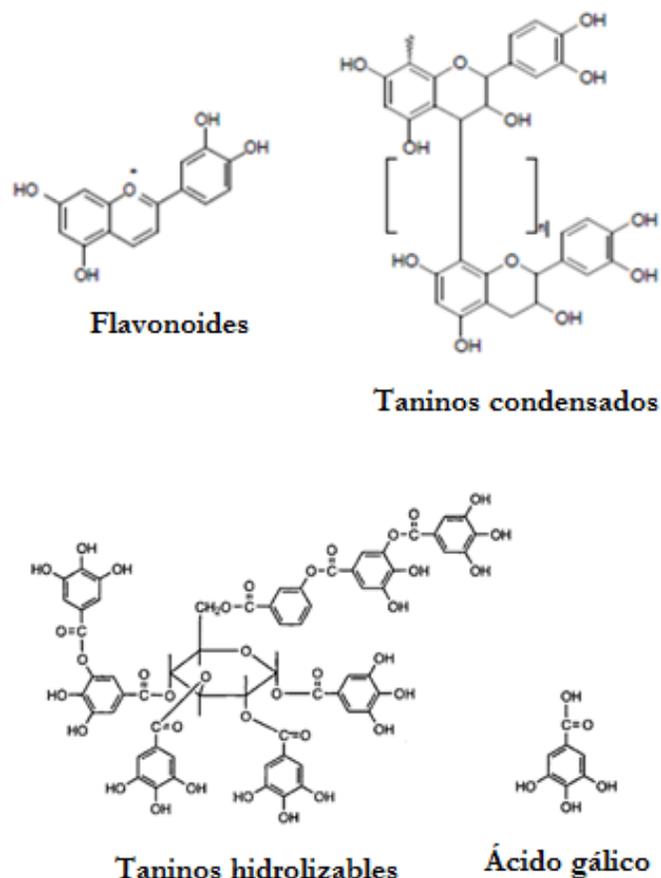
Los taninos son solubles en agua y precipitan las proteínas, aunque también pueden formar complejos con el almidón y la celulosa (Reed, 1995). Por su estructura y reactividad hacia los agentes hidrolíticos se clasifican en dos grupos: los taninos hidrolizables o ácidos tánicos y los taninos condensados (Reed, 1995; Avellaneda, 1999; Belmar y Nava, 2005) (Figura 3). En el sorgo, los taninos generalmente están presentes en su forma condensada y son conocidos como antocianidinas o leucoantocianidinas (Reyes *et al.*, 2000).

Los ácidos tánicos son fácilmente hidrolizables por ácidos o por enzimas, además de que son más solubles en agua que los taninos condensados. Son ésteres del ácido gálico y del ácido elágico de centros moleculares que consisten en polialcoholes, tales como los azúcares y los fenoles como la catequina. El β -penta-O-galoil-D-glucosa es el ácido tánico y es el compuesto modelo para los taninos hidrolizables. Además, se pueden clasificar por el producto de la hidrólisis, ya que los galotaninos producen ácido gálico y glucosa y los elagitaninos producen ácido elágico y glucosa. También producen reacciones de

condensación, por lo que el término de taninos condensados puede ser confuso (Reed, 1995).

Figura 3. Taninos condensados e hidrolizables

(Modificado de Avellaneda, 1999; Shaidi y Naczk, 2004).



Los taninos condensados (proantocianidinas) se encuentran en el sorgo y no son susceptibles a hidrólisis. Son polímeros flavonoides (polímeros de enlaces de flavo-3-ol mediante un enlace de carbón interflavano que no lo hace susceptible a hidrólisis), pero pueden ser degradados oxidativamente en ácidos fuertes para producir antocianidinas (Reed, 1995; Avellaneda, 1999; Belmar y Nava, 2005).

Los taninos forman complejos con polisacáridos, aminoácidos, ácidos grasos y ácidos nucleicos, afectando la utilización de la energía y de la proteína, debido a una disminución de la actividad de las enzimas digestivas (Reyes *et al.*, 2000; Serrano *et al.*, 2009). Además, disminuye la digestibilidad de la mayoría de los aminoácidos esenciales debido a la formación de complejos con las membranas de la mucosa. Los efectos antinutricionales de los taninos, incluyen disminución del crecimiento y del consumo de alimento, además de una pobre conversión alimenticia (Reyes *et al.*, 2000). Por otro lado, se reporta que los taninos hidrolizables podrían causar efectos tóxicos a nivel sistémico, sobretodo en el hígado (Belmar y Nava, 2005), aunque faltan estudios en cerdos, ya que la mayoría de los resultados publicados hacen referencia a ratas y pollos donde se puede observar hígado graso, necrosis hepática y renal (Jansman, 1993). Respecto a los efectos tóxicos sistémicos de los taninos condensados, Jansman (1993) reporta que no se conoce lo suficiente ya que se asume que son relativamente resistentes a la hidrólisis en el intestino y pasan por él sin absorberse por las membranas intestinales.

Elkin *et al.* (1996) mencionan que la baja digestibilidad proteica del sorgo se presenta aún en los sorgos con bajo contenido de taninos y Oria *et al.* (2000) mencionan que dichos sorgos son los que más se cultivan en el mundo, por lo que la naturaleza de las proteínas es uno de los factores responsables de la digestibilidad baja del grano de sorgo.

Baxter *et al.* (1997) y Taylor *et al.* (2007) describen que los polifenoles, como los taninos, en general, tienen una alta afinidad por las proteínas y péptidos que contienen una alta proporción de residuos de prolina en su secuencia, al considerar que las kafirinas son las últimas proteínas del sorgo en ser digeridas (Hamaker *et al.*, 1986), observamos que Taylor *et al.* (2007) y De Mesa- Stonestreet *et al.* (2010) describen que los taninos del

sorgo se unen preferentemente a las kafirinas γ , más que a las kafirinas α y kafirinas β , debido a su alto contenido de prolina.

Existen factores exógenos como interacciones proteínas-componentes no proteicos y factores endógenos como la naturaleza de la proteína y su organización en el grano de sorgo (Duodu *et al.*, 2003), por lo que al estudiar la relación existente entre los taninos y el comportamiento de las kafirinas a través del paso por el tracto digestivo podremos conocer más acerca de esta interacción.

III. OBJETIVOS.

3.1 Objetivo general.

El presente estudio tuvo como finalidad determinar en lechones recién destetados la dinámica de la digestión de las kafirinas del sorgo, y comparar durante los primeros 16 días postdestete la respuesta morfofisiológica a la ingestión de dietas formuladas con dos variedades de sorgo, con distintos niveles de taninos (alto y bajo).

3.2 Objetivos específicos.

- Determinar la composición química (materia seca, proteína cruda, energía bruta, fibra detergente neutro y extracto etéreo), el nivel de taninos condensados y el perfil de proteínas (albúmina, globulina, kafirinas y glutelinas) de dos variedades de sorgos.

- Determinar el efecto del nivel de taninos condensados del sorgo de la dieta y de la edad de los lechones sobre:

- La actividad total (ATT) y actividad específica (AET) de la tripsina en el tejido pancreático.

- El peso absoluto (g) y peso relativo (g/kg de peso vivo) de páncreas, estómago, hígado e intestino delgado.

- Determinar al día 16 postdestete el efecto del nivel de taninos condensados de la dieta y de la hora postconsumo sobre:

- La actividad total y específica de la tripsina en el tejido pancreático.

- El pH del contenido de estómago, duodeno, yeyuno e íleon.

- El peso absoluto y relativo de páncreas, estómago, hígado e intestino delgado.

- Determinar la presencia de kafirinas en los sorgos y en los contenidos de estómago, yeyuno e íleon y su comportamiento a través del paso por el tracto digestivo mediante la técnica de *Western Blot*.

IV. MATERIAL Y MÉTODOS

4.1 Híbridos de sorgo y tratamientos a estudiar.

Para el desarrollo del proyecto se produjeron dos híbridos de sorgo, los cuales se utilizaron para formular dos dietas: la variedad 5300R de ABT con bajo contenido de taninos (<0.5%) y la variedad 81G67 de Pioneer con alto contenido de taninos (>4%), ambos con niveles similares de kafirinas.

4.2 Dietas y animales.

Se elaboraron dos dietas (Cuadro 2) con el programa Optimal Formula 2000® (2005) conteniendo cada uno de los sorgos y balanceadas según los requerimientos descritos en el NRC (1998) para lechones recién destetados.

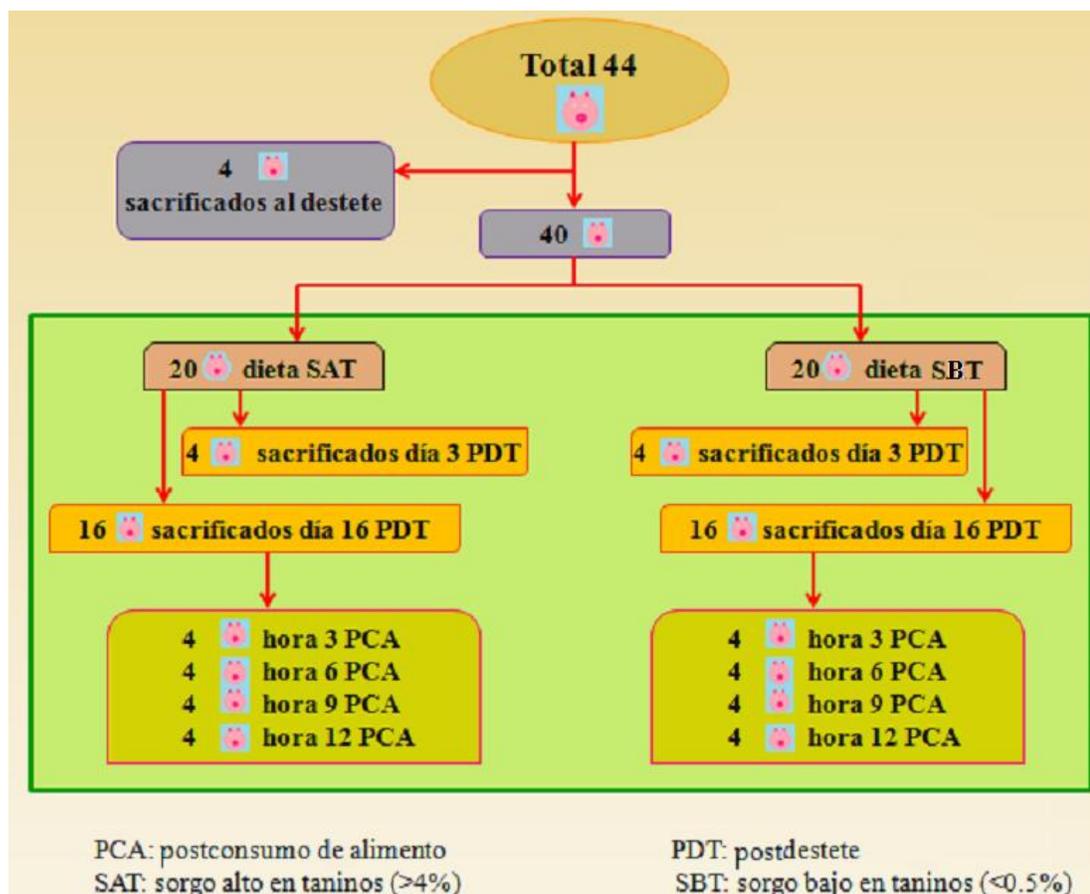
Cuadro 2. Composición centesimal de las dietas experimentales.

Ingrediente	Dietas ¹	
	SAT	SBT
Sorgo	52.3	52.3
Lactosa	20.61	20.61
Caseína	19.2	19.2
Aceite de maíz	3.0	3.0
Sal común	0.5	0.5
Carbonato de calcio	0.6	0.6
Ortofosfato	2.2	2.2
Óxido de zinc	0.4	0.4
Tilosina	0.5	0.5
Vitaminas ²	0.36	0.36
Minerales ³	0.12	0.12
Composición química		
MS ⁴	91.49	91.25
PC ⁴	22.67	21.44
EM ⁵	3.4	3.4

¹SAT: dieta con sorgo alto en taninos. SBT: dieta con sorgo bajo en taninos. ²Cada kg. de producto contiene: vitamina A 10.20 UI, vitamina D 1.98 UI, vitamina E 0.06 UI, vitamina K 1.20 mg, riboflavina (B2) 7.20 mg, vitamina B12 (cianocobalamina) 0.04 mg, colina 968.58 mg, niacina 36 mg, ácido pantoténico 16.55 mg, tiamina (B1) 0.30 mg, piridoxina (B6) 0.31 mg, biotina 0.08 mg, ácido fólico 0.75 mg. ³Cada kg. de producto contiene: azufre 0.02 %, cobalto 0.72 mg, cobre 14.4 mg, hierro 120 mg, manganeso 36 mg, selenio 0.30 mg, yodo 0.96 mg, zinc 144 mg, cloro 0.03%. ⁴Valor analizado (expresado en %). ⁵Valor calculado (expresado en Mcal/Kg de ración).

Se utilizaron en total 44 lechones híbridos Duroc x Landrace destetados a los 21 días de edad, con un peso promedio de 8.9 kg. El experimento se realizó en dos grupos, cada uno en un mes diferente, debido a limitaciones de espacio disponible y también debido a la dificultad de sacrificar y tomar muestras a demasiados lechones en el mismo día. En cada grupo experimental se asignaron 10 lechones a cada uno de los dos tratamientos: dieta con sorgo elevado o alto en taninos (SAT) y dieta con sorgo bajo en taninos (SBT), haciendo un total de 20 animales por tratamiento (Figura 4). Al día del destete del primer grupo experimental se sacrificaron 4 lechones como control para los estudios morfofisiológicos.

Figura 4. Diagrama que muestra el agrupamiento de los lechones tomando en cuenta los dos grupos experimentales.



4.3 Alojamiento y manejo general.

En cada grupo experimental se utilizaron 20 lechones, los cuales se alojaron en cuatro corrales de destete suspensos (dos corrales por tratamiento, con cinco animales por corral), provistos de bebederos de chupón y comederos con seis bocas y temperatura controlada. Al día 3 postdestete se sacrificó un lechón de cada corral en cada grupo, quedando del día 4 al día 16 postdestete cuatro lechones por corral. Los animales se pesaron al destete y al final del experimento. De las dietas experimentales se ofrecieron 200 g por animal por día durante la primera semana y 350 g por animal por día durante la segunda semana postdestete, distribuidos en tres servicios por día. Los animales tuvieron libre acceso al agua durante todo el experimento, el cual tuvo una duración de 16 días.

4.4 Sacrificio y toma de muestras.

Como se mencionó anteriormente, el día del destete del primer grupo experimental se sacrificaron 4 lechones como control para los estudios morfofisiológicos. Al día 3 postdestete se sacrificaron dos lechones por tratamiento en cada grupo experimental. Al final del experimento (día 16 postdestete), se sacrificaron 2 lechones por tratamiento en cada grupo experimental a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento (Figura 4).

Los lechones se inmovilizaron y se insensibilizaron por inhalación de bióxido de carbono durante tres minutos, posteriormente se seccionó la vena yugular para desangrarlos. Se abrió la cavidad abdominal para colectar el hígado y el páncreas, los cuales fueron pesados. Se colectaron el estómago e intestino delgado vaciándose sus contenidos y registrándose su peso. El peso de los órganos se reportó en gramos (peso absoluto) y en relación al peso vivo (peso relativo). El páncreas se congeló inmediatamente en nitrógeno líquido para transportarlo y se conservó posteriormente a -80° C hasta la

determinación de la actividad enzimática. En el contenido del estómago, duodeno, yeyuno e íleon se midió el pH y se conservó en nitrógeno líquido para transportarlo al laboratorio.

4.5 Análisis de laboratorio.

a) Granos de sorgo.

Los granos de sorgo se molieron empleando un molino Thomas-Wiley® a través de una criba de 1mm. El contenido de materia seca se determinó por secado (AOAC, 2002); proteína cruda de acuerdo al método de Kjeldahl (AOAC, 2002); energía bruta por calorimetría (Bateman, 1970); fibra detergente neutro (Robertson y Van Soest, 1981) y extracto etéreo por el método de extracción con éter (AOAC, 2002). El contenido de taninos condensados se obtuvo mediante extracción con metanol (Price *et al.*, 1978). El perfil de proteínas se determinó utilizando la técnica descrita por Youssef (1998), a través de la extracción con diversas soluciones, obteniéndose las fracciones de manera sucesiva, de acuerdo a los siguientes extractantes:

- agua (albúminas),
- cloruro de sodio al 5% (globulinas),
- solución de terbutanol al 60% con 0.1% de hidrocloreuro de guanidina (kafirinas),
- solución de terbutanol al 60% con 0.1% de hidrocloreuro de guanidina y 0.6% de mercaptoetanol (kafirinas ligadas),
- solución buffer de borato de sodio al 0.5%, 0.6M de mercaptoetanol y 0.5M de dodecil sulfato de sodio con un pH de 10.0 (glutelinas).

Exceptuando la fracción de albúmina, los sobrenadantes conteniendo las otras fracciones de proteínas se dializaron por 48 horas con agua destilada (con un cambio a las 24 horas) en refrigeración, y posteriormente se liofilizaron y se pesaron.

b) Dietas experimentales.

Las dietas se molieron empleando un molino Thomas-Wiley® a través de una criba de 1mm y se determinó su contenido de materia seca por secado (AOAC, 2002) y la proteína cruda mediante el método Kjeldahl (AOAC, 2002).

c) Páncreas.

En el páncreas se midió la actividad total de tripsina (ATT) mediante la técnica de tritimetría o titulación a punto final usando como sustrato BAEE (N_a-Benzoil-L-Arginine ethyl ester) (Reboud *et al.*, 1962). Se determinó la cantidad de proteína en el páncreas (Lowry *et al.*, 1951) para reportar la actividad específica de la tripsina (AET= ATT/ mg proteína pancreática). La ATT se reporta en Unidades Internacionales (UI). Una Unidad de actividad enzimática se define como la catalización de la conversión de 1 μmol de sustrato (o la formación de 1 μmol de producto) en 1 minuto. La Actividad Específica de una enzima es el número de Unidades por mg de proteína (Eisenthal y Danson, 1992).

d) Identificación de kafirinas por *Western blot*.

Los contenidos estomacales, del yeyuno e íleon se liofilizaron y se molieron empleando un molino Thomas-Wiley® a través de una criba de 1mm. Posteriormente se corrieron en 4 geles SDS-PAGE al 12%. En cada pozo se colocaron 100 μg de contenido siguiendo la metodología de Laemmli (1970) y en el pozo del marcador de peso molecular 16 μl (161-0374 de Bio-Rad).

Para realizar el *Western blot*, el gel corrido se transfirió a papel de nitrocelulosa y se bloqueó, siguiendo la metodología de Le Gall *et al.* (2005), los anticuerpos utilizados fueron contra kafirinas del sorgo (García- Casanova *et al.*, 2008). Para la revelación final se incubó el papel transferido usando un anticuerpo de burro anti-conejo IgG y se reveló con el kit de sustrato para peroxidasa (Vector NovaRED).

El orden de las muestras de digesta contenida en cada uno de los cuatro *Western Blot*, correspondiente a las digestas de estómago, yeyuno e íleon, mostrados en los resultados es el siguiente:

- *Western blot* con muestras de digesta estomacal: marcador de peso molecular, mezcla de SAT y SBT, en los siguientes 4 pozos muestras de la digesta del SBT correspondientes a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento, y en los siguientes 4 pozos las muestras de la digesta del SAT a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento.

- *Western blot* con muestras de digesta yeyunal: marcador de peso molecular, mezcla de SAT y SBT, en los siguientes 4 pozos muestras de la digesta del SBT correspondientes a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento, y en los siguientes 4 pozos las muestras de la digesta del SAT a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento.

- *Western blot* con muestras de digesta ileal: marcador de peso molecular, mezcla de SAT y SBT, en los siguientes 4 pozos muestras de la digesta del SBT correspondientes a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento, y en los siguientes 4 pozos las muestras de la digesta del SAT a la hora 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento.

- *Western blot* con muestras de digesta a las 12 horas postconsumo de alimento: marcador de peso molecular, SAT, SBT, en los siguientes 3 pozos las muestras de la

digesta del SBT de estómago, yeyuno e íleon y en los 3 pozos restantes las muestras de la digesta del SAT de estómago, yeyuno e íleon.

4.6 Análisis estadístico.

Los resultados de las variables de respuesta se analizaron conforme a un diseño de bloques completos aleatorizados por medio del procedimiento de modelos lineales generales (GLM) del paquete estadístico SAS (SAS, 1990). El factor de bloqueo fue el peso de los lechones al destete. Las variables de respuesta que se analizaron fueron: peso absoluto y relativo de los órganos digestivos según la dieta y la edad postdestete (día de sacrificio) y su interacción, la actividad total y específica de la tripsina según la dieta y la edad postdestete (día de sacrificio) y su interacción, el peso absoluto y relativo del páncreas, la actividad total y específica de la tripsina y el pH del contenido del estómago, duodeno, yeyuno e íleon según la dieta y la hora de sacrificio y su interacción.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 Composición química de los sorgos.

La composición química, el perfil de proteínas y el nivel de taninos se presentan en el Cuadro 3, donde además son comparados con los valores obtenidos por otros autores. Las variedades de sorgo utilizadas en el presente experimento fueron la 5300R de ABT para el sorgo bajo en taninos (SBT) y la variedad 81G67 de Pioneer para el sorgo elevado o alto en taninos (SAT), los cuáles son diferentes a las variedades utilizadas por Mariscal-Landín *et al.* (2004) que fueron la variedad 8172 de Pioneer para el SAT y Dekalb D-69 para el SBT, y las presentadas por el NRC (1998) que no especifica la variedad de sorgo, FEDNA (2003) que muestra resultados para el sorgo blanco con un nivel de taninos menor al 0.25% y Sauvant *et al.* (2004) que presentan datos que corresponden a un SBT.

Cuadro 3. Comparación del contenido de taninos, composición química y perfil de proteínas de distintas variedades de sorgo¹

	Presente estudio		Mariscal-Landín <i>et al.</i> (2004)		NRC (1998)	FEDNA (2003) Sorgo blanco	Sauvant <i>et al.</i> (2004) SBT
	SAT	SBT	SAT	SBT			
Taninos condensados (%)	5.75	<0.02	5.7	0.02	-	<0.25	-
MS² (%)	92	91.7	88.5	88.2	89	86.8	86.5
PC³ (%)	12.2	12.5	8.6	9.2	9.2	8.7	9.4
EE⁴ (%)	2.1	2.1	-	-	2.9	3	2.9
FDN⁵ (%)	14	8.5	14.6	13.8	18	9	9.4
EB⁶ (Mcal/Kg)	4.23	4.26	-	-	-	-	3.9
Perfil de proteínas							
Albúmina (g/Kg)	2.95	3.45	10.7	7	-	5.7	-
Globulina (g/Kg)	4.11	4.55	19.9	19.8	-	7.1	-
Kafirinas (g/Kg)	25.04	27.19	-	-	-	-	-
Kafirinas ligadas (g/Kg)	38.2	36.38	-	-	-	-	-
Kafirinas totales (g/Kg)	63.24	63.57	53.5	51.6	-	52.7	-
Glutelinas (g/Kg)	15.98	15.12	14.9	20.5	-	34.4	-

¹SAT: sorgo alto en taninos. SBT: sorgo bajo en taninos. ²Materia seca. ³Proteína cruda. ⁴Extracto etéreo.

⁵Fibra detergente neutro. ⁶Energía bruta.

El SAT posee una concentración mayor a 4% de taninos condensados, mientras que el SBT presenta una concentración menor a 0.05%. El nivel de taninos del sorgo fue muy similar al reportado por Mariscal-Landín *et al.* (2004).

La composición química de los sorgos con alto y bajo nivel de taninos condensados utilizados en el presente trabajo es muy similar, difiriendo únicamente en el nivel de fibra detergente neutro (FDN). Al comparar su composición química con los resultados publicados por los demás autores, se observa que el NRC (1998) presenta los valores más altos de FDN y la composición química presentada por los diferentes autores difiere entre sí. El nivel de proteína cruda de los sorgos utilizados en el presente experimento es mayor al de los publicados por los demás autores. De igual manera el nivel de extracto etéreo es menor en los sorgos utilizados en el presente experimento y los valores reportados por los demás autores son más homogéneos y más elevados.

Los niveles de albúmina, de globulina y de glutelina presentados en el Cuadro 3 fueron distintos entre ellos. El nivel de kafirinas totales reportadas en el presente experimento fue mayor respecto a lo reportado por FEDNA (2003) y Mariscal-Landín *et al.* (2004), cuyos resultados reportados son similares, lo que indica diferencias debidas a las variedades de sorgo analizadas o debidas a la manera de realizar la técnicas de cuantificación.

Las diferencias de los valores presentados por cada autor se pueden deber a las variedades de sorgo empleadas o a diferencias en la metodología utilizada en los análisis químicos. Es difícil comparar por no mencionar las variedades analizadas aunque lo reporten como sorgo alto o bajo en taninos.

5.2 Desarrollo de órganos y actividad enzimática.

5.2.1 Homogeneidad de los grupos.

Como se mencionó anteriormente se utilizaron dos grupos de lechones. El peso al destete no varió ($P>0.05$) entre los dos grupos experimentales y los animales asignados a la dieta con SAT (DSAT) tuvieron un peso similar ($P>0.05$) a los que se asignaron a la dieta con SBT (DSBT), siendo de 8.89 vs 8.85 kg, respectivamente.

5.2.2 Peso al sacrificio.

No se observó ($P>0.05$) un efecto de la dieta sobre el peso al sacrificio de los lechones. Sin embargo, el día de sacrificio afectó ($P<0.05$) el peso vivo de los animales. Los sacrificados al día 3 postdestete tuvieron un peso similar al del día del destete, mientras que los sacrificados al día 16 postdestete fueron más pesados (8.9 vs 8.7 vs 11.4 kg, para los días 0 (destete), 3 y 16, respectivamente). Estos resultados difieren a los presentados por Jansman *et al.* (1994) que mencionan que el uso de dietas en las que se incluyen niveles altos de taninos (provenientes de habas o su cáscara) reducen la ganancia de peso y perjudican la conversión alimenticia en cerdos, debido a que los taninos condensados interactúan con las proteínas dietarias y endógenas como las enzimas digestivas. Sin embargo, Pluske *et al.* (2003) reportan que el peso vivo se incrementa conforme aumentan los días postdestete, lo que concuerda con los resultados que se observan en el presente trabajo.

5.2.3 Peso de los órganos digestivos.

En el Cuadro 4 se presentan los pesos de los órganos del aparato digestivo al día 16 postdestete. El nivel de taninos condensados de los sorgos incluidos en las dietas no afectó el peso absoluto ni el relativo del páncreas, estómago, hígado e intestino delgado ($P>0.05$)

al día 16 postdestete (Cuadro 4), coincidiendo con lo descrito por Jansman *et al.* (1994), quienes observaron que no hay un cambio en el peso del páncreas en cerdos que consumieron dietas con alto contenido de taninos provenientes de habas o de su cáscara. Mariscal-Landín *et al.* (2004) no encontraron diferencias en el peso del páncreas de cerdos en crecimiento alimentados con dietas a base de sorgos con alto y bajo contenido de taninos.

Cuadro 4. Peso de los órganos digestivos al día 16 postdestete de lechones alimentados con dietas con dos variedades de sorgo.

Variables	Dieta ¹		Análisis estadístico			EEM ³
	SAT	SBT	Dieta	Día de sacrificio	D*S ²	
Peso absoluto (g)						
Páncreas	15	14	NS	<i>P</i> <0.001	NS	0.60
Estómago	71	59	NS	<i>P</i> <0.001	<i>P</i> <0.05	2.95
Hígado	233	229	NS	<i>P</i> <0.01	NS	7.42
ID ⁴	330	326	NS	<i>P</i> <0.001	NS	15.15
Peso relativo (g/kg PV)						
Páncreas	1.4	1.4	NS	<i>P</i> <0.001	NS	0.04
Estómago	7	6	NS	<i>P</i> <0.001	NS	0.26
Hígado	24	24	NS	NS	NS	0.48
ID ⁴	32	33	NS	<i>P</i> <0.001	NS	1.21

¹SAT: dieta con sorgo alto en taninos. SBT: dieta con sorgo bajo en taninos. ²D*S: Interacción dieta vs día de sacrificio. ³EEM: error estándar de la media. ⁴ID: Intestino delgado. NS: no significativo

El peso absoluto y relativo de los órganos digestivos (Cuadro 5) varió (*P*<0.01) en función del día postdestete en que los lechones fueron sacrificados, la excepción fue para el peso relativo del hígado. La interacción entre dieta y día de sacrificio no fue significativa (*P*>0.05), excepto en el caso del peso absoluto del estómago. Para el peso del estómago se observó una interacción (*P*<0.05) entre la dieta consumida y el día de sacrificio. Para ambos grupos de lechones que consumieron las dos dietas, se observó que entre el día 0 y 3 el peso absoluto del estómago permaneció constante, incrementándose entre el día 3 y 16.

Sin embargo, este incremento fue más acentuado en los lechones que consumieron la DSAT (159.6% más) en relación a los de la DSBT los cuales muestran un incremento de 78.7% (Figura 5) en relación al día 3. Esto sugiere que los taninos presentes en la dieta favorecieron el crecimiento de la mucosa gástrica, la cual es altamente sensible a la presencia de alimento sólido (Lindemann *et al.*, 1986) y probablemente estimularon una mayor secreción gástrica.

Cuadro 5. Peso de los órganos digestivos de los lechones de acuerdo al día de sacrificio

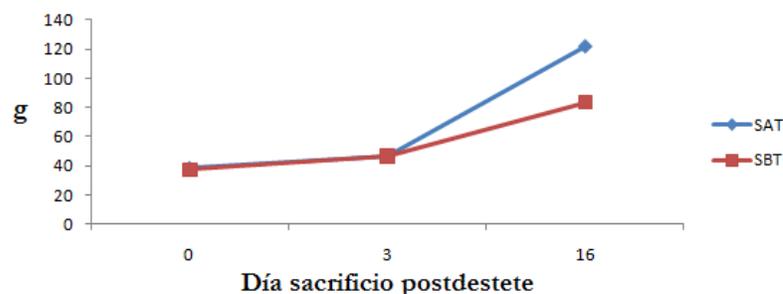
Variables	Día de sacrificio			P	EEM ¹
	0	3	16		
Peso absoluto (g)					
Páncreas	11.2 ^b	10.4 ^b	20.5 ^a	<i>P</i> <0.001	0.60
Estómago	40.8 ^b	46.7 ^b	106 ^a	<i>P</i> <0.001	2.95
Hígado	223.1 ^b	194.8 ^b	274.3 ^a	<i>P</i> <0.01	7.42
ID ²	310.5 ^b	205.6 ^c	464.7 ^a	<i>P</i> <0.001	15.15
Peso relativo (g/kg PV)³					
Páncreas	1.27 ^b	1.21 ^b	1.78 ^a	<i>P</i> <0.001	0.04
Estómago	4.54 ^b	5.3 ^b	9.35 ^a	<i>P</i> <0.001	0.26
Hígado	24.85	22.12	24	NS	0.48
ID ²	33.85 ^a	23.62 ^b	41 ^a	<i>P</i> <0.001	1.21

¹EEM: error estándar de la media. ²ID: Intestino delgado. ³Peso vivo. ^{a,b,c}: promedios con letras diferentes en la misma línea difieren estadísticamente. NS: no significativo.

En el Cuadro 5 se muestran los pesos absolutos y relativos de los órganos digestivos en función del día de sacrificio. En él se observa que los pesos de los órganos (excepto del intestino delgado) se mantuvieron constantes entre el día del destete (día 0) y el día 3 postdestete, teniendo un incremento importante al día 16 postdestete. Los pesos absoluto y relativo del intestino delgado muestran una disminución entre destete y el día 3 postdestete incrementándose al día 16 postdestete. Es importante recalcar que al día 3 postdestete los lechones empiezan a consumir la dieta sólida y es cuando se observa un incremento en el

peso absoluto y relativo de los órganos digestivos que continua elevándose por lo menos al día 16 postdestete.

Figura 5. Peso absoluto del estómago según la dieta consumida y el día postdestete.



Escobar (2008) realizó un experimento alimentando a lechones con dos dietas, una en base a pasta de soya y otra en base a pasta de ajonjolí, encontrando que el peso absoluto y relativo de los órganos digestivos (páncreas, estómago, hígado e intestino delgado) no presentaron diferencias significativas debidas a la fuente de proteína de la dieta, mientras que sí hubo un efecto respecto al día postdestete en que fueron sacrificados. Los pesos absoluto y relativo de los órganos digestivos tuvieron la tendencia a disminuir en peso al tercer día postdestete y posteriormente comenzaron a incrementar. Este efecto fue más marcado en el intestino delgado, igual que los datos obtenidos en el presente experimento.

Pluske *et al.* (2003) realizaron un experimento donde tomaron en cuenta la edad y el peso al destete y observaron una tendencia a que el peso del páncreas, estómago e intestino delgado se incrementara ($P<0.001$) conforme aumentó la edad del lechón al destete. Además, observaron que el peso absoluto del estómago ($P=0.01$) y del intestino delgado ($P<0.001$) aumentaron más rápidamente en lechones destetados a mayor edad al destete (28 días contra 14 días de vida). Pluske *et al.* (2003) también midieron el peso relativo del

páncreas y encontraron que éste aumenta ($P=0.014$) conforme aumenta la edad del lechón al destete, siendo que los lechones más ligeros tienden a tener mayor peso relativo del páncreas que los lechones más pesados.

5.2.4 Actividad enzimática.

El nivel de taninos de los sorgos usados en la elaboración de las dietas en este experimento y la interacción dieta y día de sacrificio no afectaron la actividad total ni específica de la tripsina, sin embargo, el día de sacrificio tuvo un efecto significativo (Cuadro 6).

Cuadro 6. Actividad de la tripsina en lechones alimentados con dietas con dos variedades de sorgo y sacrificados en diferentes días postdestete.

Actividad de la tripsina	Dieta ¹		Análisis estadístico			EEM ²
	SAT	SBT	Dieta	Día de sacrificio	D*DS ³	
Total (UI/g de páncreas) ⁴	3479	3473	NS	$P<0.01$	NS	27.93
Específica (UI/mg de proteína pancreática) ⁴	378	374	NS	$P<0.05$	NS	19.89

¹SAT: dieta con sorgo alto en taninos. SBT: dieta con sorgo bajo en taninos. ²EEM: error estándar de la media. ³D*S: Interacción dieta vs día de sacrificio. ⁴UI: Unidades internacionales. NS: no significativo.

Jansman *et al.* (1994) describen que la secreción pancreática no fue afectada por el nivel de taninos que usaron en sus experimentos, aunque mencionan que los taninos se unen e inhiben a las enzimas digestivas. La formación del complejo enzima-tanino puede explicar los efectos dietarios de los taninos en la actividad enzimática, ya que Griffiths (1980) añadió polivinilpirrolidona, un potente ligador a taninos, a los extractos de las digestas de ratas alimentadas con dietas que contenían taninos y los valores de la actividad

de la tripsina en sus digestas fueron igual al grupo control, concluyendo que el complejo enzima-tanino es reversible.

También Jansman *et al.* (1994) observaron que a nivel de la digesta ileal de los cerdos los taninos reducen la actividad de la tripsina, lo que indica que existe diferencia en la respuesta a la actividad de la tripsina respecto a los taninos en los diferentes sitios del tracto digestivo en cerdos. Esto se puede explicar por las diferencias en la solubilidad de los taninos en estos sitios, la naturaleza y cantidad de la dieta, otros componentes endógenos en la digesta que se unen a taninos, el tiempo entre la activación de la enzima y la unión a los taninos y diferentes circunstancias físico-químicas.

Se ha observado *in vitro* que en el punto isoelectrico de proteínas como la seroalbúmina bovina, ocurre la mayor precipitación del complejo tanino-proteína (Hagerman y Butler, 1978; Emmambux y Taylor, 2003). El punto isoelectrico de los zimógenos porcinos de tripsinógeno es de 7.5, el pH de la digesta ileal de cerdos es ligeramente mayor a 7, lo que favorece las interacciones enzima-tanino descritas por Jansman *et al.* (1994). Debido a que el pH de la digesta en el duodeno en el presente trabajo fue de 6.2-6.3, podría explicar el por qué no se ve afectada la actividad de la tripsina, ya que a este pH no se favorece la interacción enzima-tanino.

Mariscal-Landín *et al.* (2004) mencionan que el contenido de taninos del sorgo (desde el que contiene 1.4 hasta 10 g kg⁻¹) en las dietas para lechones en crecimiento no afecta la ATT ni la AET, mientras que sí aumenta un 6.7% la ATT en la digesta duodenal con dietas con un mayor contenido de taninos comparada con la dietas elaboradas con sorgo con bajo contenido de taninos. Esto debido, probablemente, a que los taninos

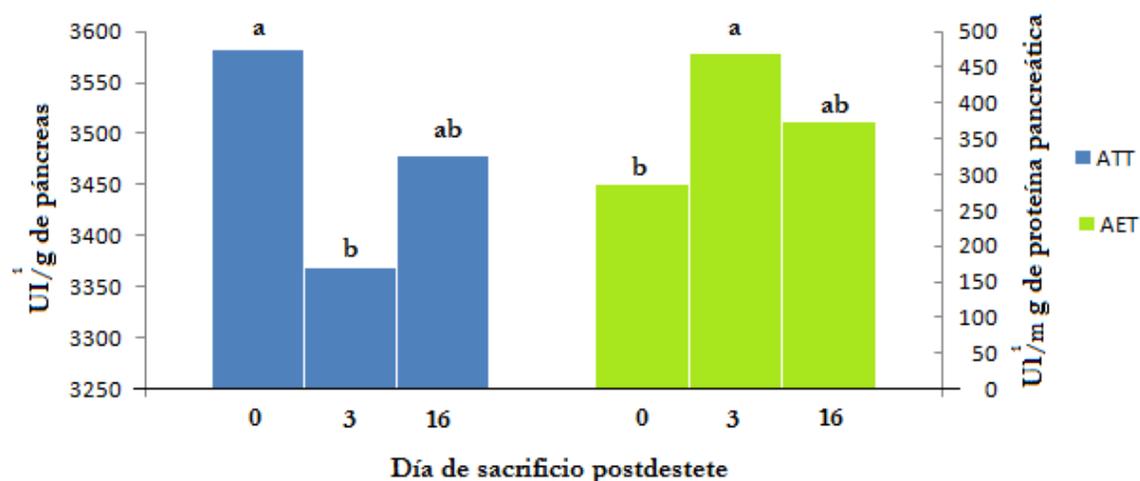
estimulan la secreción de las enzimas pancreáticas, además de que una concentración elevada de kafirinas presentes en el sorgo ocasiona una baja digestibilidad y favorece una secreción mayor de tripsina y en general de las enzimas digestivas pancreáticas. También mencionan que la inhibición enzimática favorecida por la presencia de los taninos se debe a la precipitación de las proteínas.

Escobar (2008) no encontró diferencias significativas en la actividad enzimática total y específica de la tripsina en lechones alimentados con dietas a base de pasta de ajonjolí y pasta de soya, aunque sí observó una interacción significativa entre los días postdestete y la dieta. Pluske *et al.* (2003) reportan que la ATT se incrementa en las dos primeras semanas postdestete y es mayor a mayor edad al destete ($P<0.05$).

En el presente experimento la actividad total ($P<0.01$) y específica ($P<0.05$) de la tripsina fue afectada por la edad del lechón (Figura 6), ya que después del destete se observa una disminución de la actividad total de la tripsina y conforme crece el lechón hay una recuperación de la misma, lo que se puede deber a la estimulación en la secreción dada por la presencia de alimento sólido consumido. Lo anterior coincide con lo descrito por Gómez *et al.* (1997) que mencionan que en el período inmediato al destete existe insuficiente secreción o actividad enzimática del páncreas, y que al menos se requieren de 6 a 9 días postdestete para ajustarse al proceso enzimático digestivo de las dietas con granos de cereales. La actividad específica en el presente experimento muestra un aumento al día 3 postdestete respecto al día del destete debido a que este resultado se obtiene dividiendo la ATT entre la proteína pancreática y recordemos que en el período inmediato al destete el poco consumo de alimento sólido no estimula la producción proteica (y enzimática) del

páncreas, el consumo de alimento que estimula en gran medida esta producción enzimática es casi nulo, por lo que se divide la ATT entre un número pequeño de proteína, de ahí que aumente la AET, y conforme comienza el consumo de alimento se estimula la producción enzimática del páncreas, y posteriormente, al día 16, una ligera disminución de la AET llegando a niveles intermedios a los observados en los días 0 y 3. El peso absoluto y relativo del páncreas varía en función del día postdestete, así como la ATT y la AET.

Figura 6. Actividad pancreática de la tripsina en lechones sacrificados en diferentes días postdestete.



¹UI: Unidades internacionales. ^{a,b}: promedios con letras diferentes en la misma línea difieren estadísticamente.

La actividad total de la tripsina en el trabajo de Escobar (2008) se comporta de la misma manera que en este experimento, es decir, desciende al día 3 postdestete y posteriormente se observa una recuperación. Este autor menciona que esta disminución se debe al poco consumo de alimento por parte de los lechones, lo que disminuye la secreción pancreática y por ende, la producción de enzimas.

Respecto a la actividad específica de la tripsina, Escobar (2008) encontró que para los lechones alimentados con dieta a base de pasta de ajonjolí dicha actividad era similar al

día del destete y al día 3 postdestete, disminuyendo entre el día 6 y 25, mientras que para los que consumieron dietas con pasta de soya era igual los primeros 6 días y al día 25 postdestete había un aumento de la actividad.

5.3. Efecto de la hora de sacrificio sobre el peso del páncreas, actividad enzimática y pH del contenido de los órganos digestivos.

La hora postconsumo de alimento al día 16 postdestete, así como el tipo de sorgo utilizado en la dieta, no afectaron el peso absoluto o relativo del páncreas, ni la ATT ni la AET. Tampoco afectó el pH del contenido del estómago, ni del intestino delgado (Cuadros 7 y 8) coincidiendo con lo descrito por Jansman *et al.* (1994) respecto a que el pH de la digesta duodenal e ileal no son afectados por el nivel de taninos de la dieta.

Cuadro 7. Efecto de la dieta y hora postconsumo de alimento al día 16 postdestete sobre el peso del páncreas, actividad enzimática en el tejido pancreático y pH del contenido del tracto gastrointestinal.

Variables	Dieta ¹		Análisis estadístico			EEM ³
	SAT	SBT	Dieta	Hora de sacrificio	D*HS ²	
Peso páncreas						
Absoluto (g)	21.7	21.3	NS	NS	NS	0.64
Relativo (g/Kg PV) ⁴	2.0	1.9	NS	NS	NS	17.22
Actividad de la tripsina						
Total (UI/g de páncreas) ⁵	3555	3404	NS	NS	NS	44.91
Específica (UI/mg pp) ^{5,6}	330	351	NS	NS	NS	11.88
pH						
Estómago	2.6	2.2	NS	NS	NS	0.13
Duodeno	6.3	6.2	NS	NS	NS	0.08
Yeyuno	6.4	6.4	NS	NS	NS	0.03
Íleon	6.7	6.5	NS	NS	NS	0.08

¹SAT: dieta con sorgo alto en taninos. SBT: dieta con sorgo bajo en taninos. ²D*HS: Interacción dieta vs hora de sacrificio al día 16 postdestete. ³EEM: error estándar de la media. ⁴PV: peso vivo. ⁵UI: Unidades internacionales. ⁶pp:proteína pancreática NS: no significativo.

Cuadro 8. Efecto de la hora postconsumo de alimento al día 16 postdestete sobre el peso del páncreas, actividad enzimática en el tejido pancreático y pH del contenido del tracto gastrointestinal.

Variables	Hora postconsumo alimento				P	EEM ¹
	3	6	9	12		
Peso páncreas						
Absoluto (g)	21.3	22.8	21.2	20.5	NS	0.783
Relativo (g/Kg PV) ²	1.9	2	1.9	1.7	NS	0.059
Actividad tripsina						
Total (UI/g de páncreas) ³	3555	3417	3469	3477	NS	45.22
Específica (UI/g de proteína pancreática) ³	345	316	327	372	NS	11.41
pH						
Estómago	2.6	2.8	2.0	2.2	NS	0.133
Dudodeno	5.9	5.9	6.5	6.4	NS	0.097
Yeyuno	6.3	6.3	6.5	6.4	NS	0.037
Íleon	6.7	6.3	6.7	6.5	NS	0.083

¹EEM: error estándar de la media. ²PV: peso vivo. ³UI: Unidades internacionales. NS: no significativo

En lo referente a los niveles de pH duodenales, éstos son más bajos 2 a 3 horas después de la alimentación, debido a que en las primeras horas postconsumo de alimento hay un mayor vaciamiento gástrico. En el presente trabajo se observó un efecto similar, sin embargo, los valores no difieren estadísticamente (Cuadro 8).

Jansman *et al.* (1994) describen que algunos autores han encontrado un aumento en la actividad de la tripsina en las primeras horas postconsumo de alimento, situación que no se presentó en el presente experimento.

5.4. Identificación y digestión de las kafirinas.

En el Cuadro 9 se presenta el análisis molecular de la distribución de las kafirinas de los 4 sorgos analizados. Los *Western blot* están conformados por líneas o renglones y

columnas. Las líneas representan las diferentes fracciones de kafirinas de acuerdo a su peso molecular (Cuadro 9; Anexos 1-4).

Cuadro 9. Rango de peso molecular (PM) de las kafirinas obtenido en los *Western blot*.

Línea	Kafirina	Rango de peso molecular (kDa)
A	Trímeros y dímeros	52.63-70.65
B	kafirinas α_1	23.23-26.39
C	kafirinas α_2	19.48-21.47
D	kafirinas β	14.69-15.21

La columna 1 de los *Western blot* corresponde al marcador del PM y las demás columnas numeradas del 2 al 10 representan al tipo de sorgo y las digestas de los diferentes órganos a diferentes tiempos de digestión. En las intersecciones entre líneas y columnas se identifican los tipos de kafirinas que se encuentran en el sorgo y en las digestas según la hora postconsumo y se denominan bandas.

Los *Western blot* de las digestas de los lechones alimentados con la DSBT y la DSAT a nivel de estómago (Figura 7), de yeyuno (Figura 8) y de íleon (Figura 9) representan la dinámica de la digestión de las kafirinas en las horas 3, 6, 9 y 12 postconsumo de alimento. Dichas figuras presentan en la columna 2 las kafirinas de la mezcla de los sorgos alto y bajo en taninos (SAT y SBT, respectivamente). En la Figura 10 se muestra el *Western blot* de las

digestas de estómago, yeyuno e íleon a la hora 12 postconsumo de alimento; asimismo en la columna 2 y 3 se observan las kafirinas del SBT y SAT, respectivamente.

5.4.1 Identificación de las kafirinas del sorgo.

Las Figuras 7, 8 y 9 muestran que en los análisis las mezclas de sorgo presentan bandas de trímeros y dímeros (A2), de kafirinas α_1 (B2), de kafirinas α_2 (C2) y de kafirinas β (D2). Las bandas de kafirinas γ , con el PM de 28 kDa descritas por diferentes autores (Cuadro 1) no se observan en el presente trabajo; aunque las kafirinas de la banda C2 podrían ser consideradas como kafirinas γ , de acuerdo a lo que describen Belton *et al.* (2006) que muestra que las kafirinas γ pesan 20.2 kDa y De Mesa-Stonestreet *et al.* (2010) que describe que las kafirinas γ pesan 20 kDa. En las Figuras 7, 8 y 9, también se observa que en la mezcla del sorgo, la banda más intensa es de las kafirinas α_1 (B2), seguida de las kafirinas α_2 (B3), lo que concuerda con las observaciones de Oria *et al.* (1995), Ioerger *et al.* (2007) y De Mesa- Stonestreet *et al.* (2010), quienes mencionan que las kafirinas α son las más abundantes de las prolaminas del sorgo.

Comparando las dos variedades de sorgo (Figura 10) se observa la presencia de las mismas bandas de kafirinas. Sin embargo, las bandas α_1 (B3), α_2 (C3) y β (D3) del SAT se presenta con una menor intensidad de coloración, esto probablemente se deba a la alta afinidad existente entre los taninos y las kafirinas (Baxter *et al.*, 1997; Taylor *et al.*, 2007; De Mesa- Stonestreet *et al.*, 2010) dificultando que los anticuerpos anti-kafirinas se unan a estas fracciones.

5.4.2 Dinámica de la desaparición de las kafirinas durante la digestión.

La presencia de las bandas de kafirinas en las digestas con las cuales se realizaron los *Western blot*, sugieren que parte de esas proteínas no fueron digeridas ni absorbidas a través del tracto gastrointestinal ya que por eso son detectadas por los anticuerpos contra kafirinas. Las kafirinas forman polímeros y por lo tanto son las últimas proteínas del sorgo en ser digeridas (Oria *et al.*, 1995). Incluso en su estado monomérico, las kafirinas pueden ser más resistentes a la digestión enzimática que otras proteínas del sorgo debido a su naturaleza hidrofóbica, cuanto más aún en su estado polimérico. La baja digestibilidad de las proteínas del sorgo puede deberse a que los cuerpos proteicos son inaccesibles a las enzimas digestivas (Hamaker *et al.*, 1987).

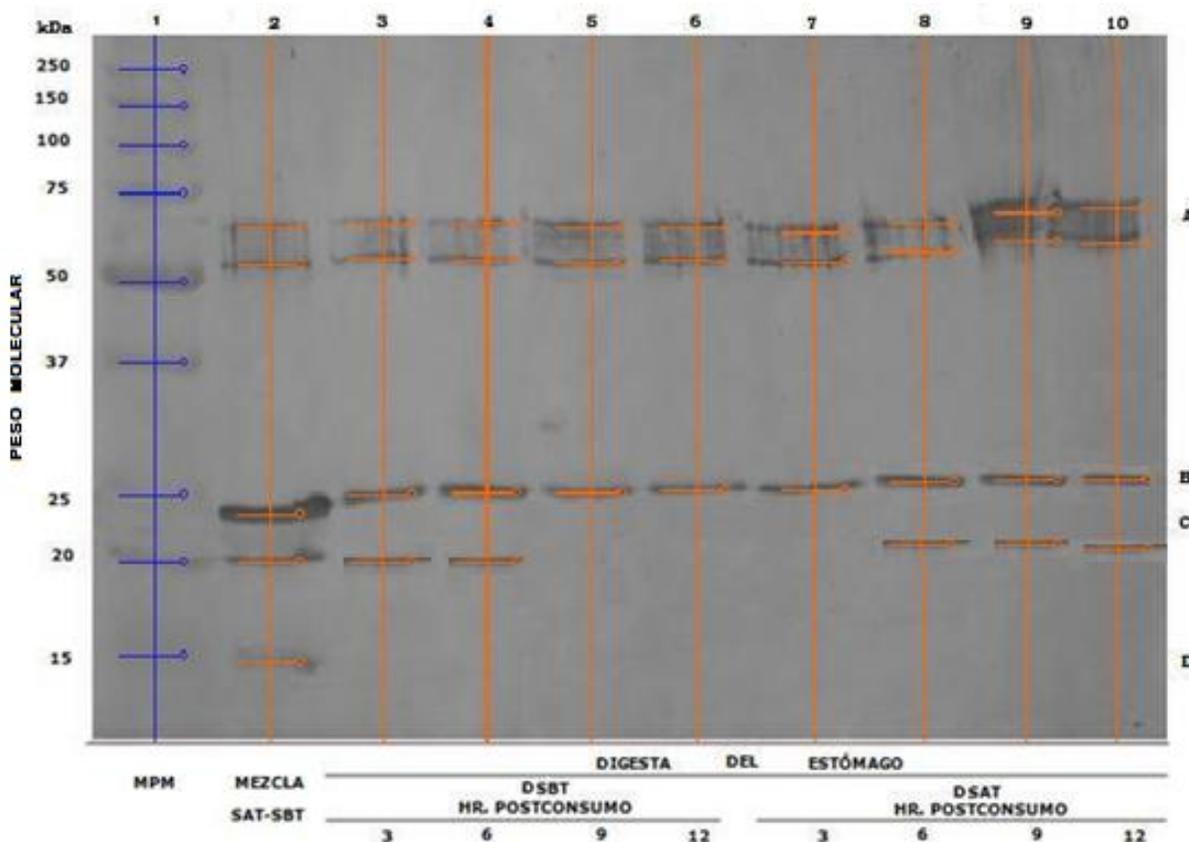
5.4.2.1 Desaparición de las kafirinas en el estómago.

En la digesta del estómago de los animales alimentados con los dos tipos de sorgo (SBT y SAT) (Figura 7) se observa que las bandas de los trímeros y dímeros de kafirinas (línea A), no presentan cambios aparentes durante las 12 horas postconsumo. Esto probablemente se debe a los puentes disulfuro intermoleculares de las kafirinas, que las hacen menos susceptibles a la digestión (Oria *et al.*, 1995) por el ácido clorhídrico.

En la digesta de los animales que consumieron la DSBT se observa que las bandas de las kafirinas α_1 (Figura 7) disminuyeron su intensidad de coloración en la hora 9 (B5) y 12 (B6) en relación a las horas 3 (B3) y 6 (B4), lo que indica que en esos animales las kafirinas α_1 fueron digeridas a medida que el tiempo postconsumo aumentó. Sin embargo, en los animales que consumieron la DSAT, la banda de kafirinas α_1 (Figura 7) en la hora 3 (B7) fue menos intensa que en las horas 6 (B8), 9 (B9) y 12 (B10), lo que sugiere que los taninos tienen un efecto antifisiológico como lo describen Reyes *et al.* (2000), que no

permite la digestión de las proteínas como las kafirinas, que al paso del tiempo se van concentrando más en el tracto digestivo ya que no son digeridas y absorbidas en su totalidad.

Figura 7. *Western blot* que indica la distribución de las kafirinas en las digestas de estómago a diferentes horas postconsumo.



En las digestas del estómago de los lechones que consumieron la DSBT únicamente se detectaron las bandas de kafirinas α_2 (Figura 7) en las horas 3 (C3) y 6 (C4) postconsumo, sugiriendo que en las horas 9 (C5) y 12 (C6) ya se había absorbido esta fracción. Sin embargo, en los lechones que consumieron la dieta con SAT, la presencia de las bandas de kafirinas α_2 (Figura 7) a las horas 6 (C8), 9 (C9) y 12 (C10) postconsumo indican que estos animales no fueron capaces de digerir totalmente esta fracción.

No se observó la presencia de kafirinas β en las digestas de estómago (Figura 7) desde la hora 3 hasta la hora 12 postconsumo, indicando que esta fracción desaparece de la digesta en las primeras horas postconsumo. Esto probablemente se debe a su localización periférica en el grano del sorgo (Chandrashekar y Mazhar, 1999; Taylor *et al.*, 2007) y también por el tipo de aminoácidos que la componen, los cuáles confieren a las kafirinas β una menor afinidad por los taninos (Taylor *et al.*, 2007; De Mesa- Stonestreet *et al.*, 2010).

La velocidad a la que el alimento abandona el estómago debe igualarse con la velocidad a la que se digiere y absorbe en el intestino delgado. La digestión y absorción de algunos alimentos es más rápida que otros, por lo que la velocidad de vaciamiento del estómago está regulada por los contenidos del intestino delgado, por lo que el estómago puede utilizarse como lugar de almacenamiento (Cunningham y Klein, 2009), lo cual puede explicarnos el comportamiento de las kafirinas a través del tracto digestivo.

5.4.2.2 Desaparición de las kafirinas en el yeyuno.

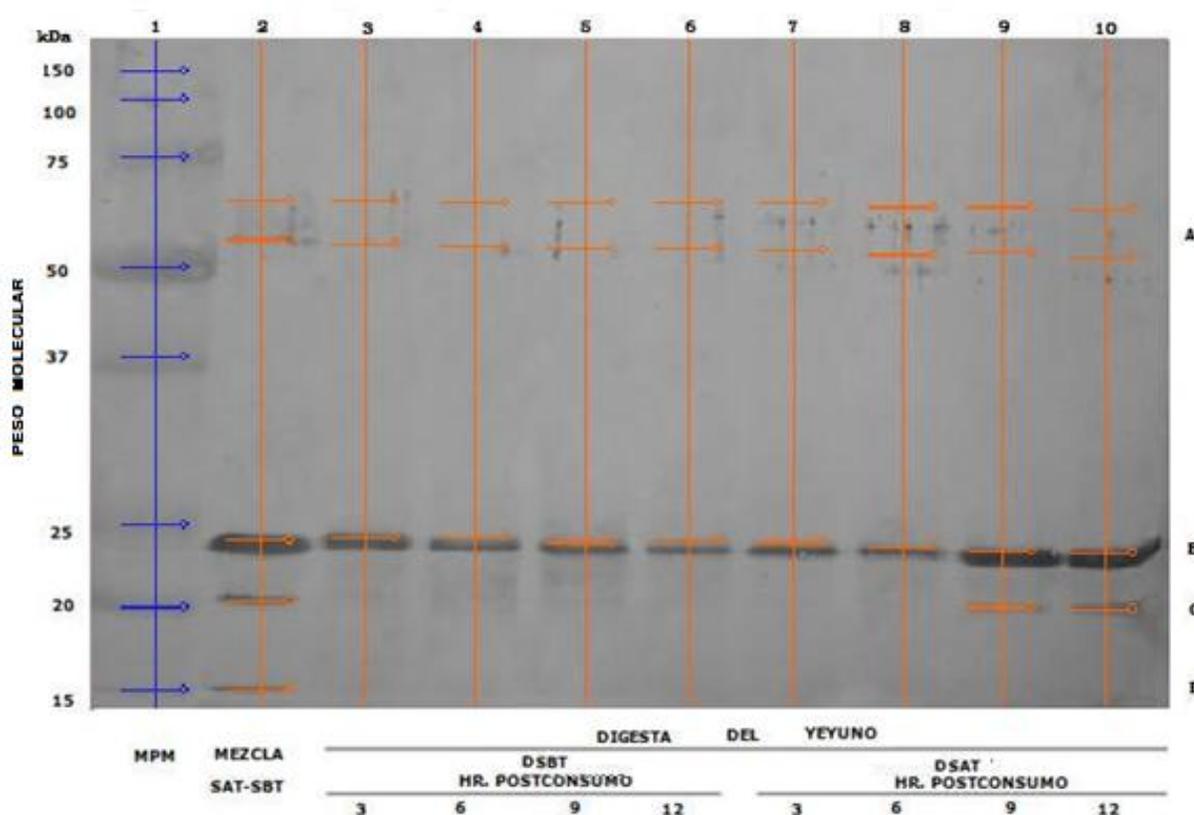
En la Figura 8 se presenta el *Western blot* de las digestas de yeyuno. Se encuentran presentes las bandas de los dímeros y trímeros de kafirinas (línea A), sin embargo, su intensidad es menor que en las del estómago, lo que sugiere que una parte de ellas ha sido digerida en el yeyuno.

El comportamiento de la desaparición de las kafirinas α_1 (línea B) en el contenido de yeyuno (Figura 8) de los animales que ingirieron la DSBT fue similar a lo que sucedió en el estómago, es decir, se observó una disminución de la intensidad de las bandas a medida que se incrementó el tiempo postconsumo. En los animales que consumieron la DSAT la intensidad de las bandas en las 9 (B9) y 12 (B10) horas postconsumo fue mayor que en las horas 3 (B7) y 6 (B8), lo anterior puede deberse a la presencia de material no digerido de la

alimentación anterior o a que la concentración de este material no digerido está más concentrada porque ya se absorbió parte del material digerido.

La presencia de las kafirinas α_2 (Figura 8, línea C) sólo fue detectada en las digestas de los lechones alimentados con la DSAT en las horas 9 (C9) y 12 (C10) postconsumo; indicando que los taninos dificultaron su digestión, pues estas dos bandas son de menor intensidad que las del sorgo (C2) o se puede deber a la presencia de material indigestible de la alimentación anterior. La ausencia de kafirinas α_2 en las digestas de los lechones alimentados con la DSBT en el yeyuno (Figura 8) sugiere que fueron absorbidas o que pasaron al íleon antes de las 3 horas postconsumo o que desde el estómago se degradaron.

Figura 8. Western blot de las digestas de yeyuno a diferentes horas postconsumo.

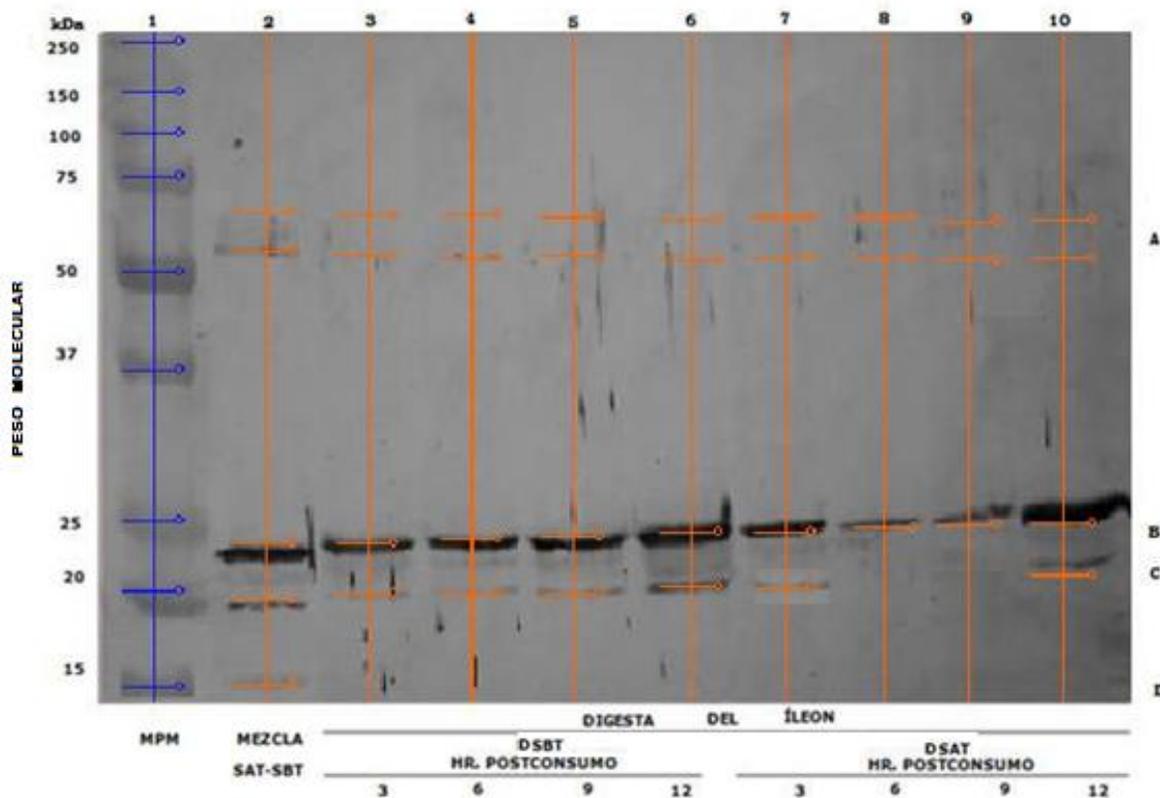


Tampoco en la digesta de yeyuno (Figura 8) de los animales que consumieron ambas dietas, se observó la presencia de kafirinas β desde la hora 3 hasta la hora 12 postconsumo.

5.4.2.3 Desaparición de las kafirinas en el íleon.

Las bandas de trímeros y dímeros de kafirinas en las digestas de íleon (Figura 9), al igual que las del estómago (Figura 7) y del yeyuno (Figura 8), fueron detectadas en todos los animales, pero con una menor intensidad, lo que demuestra que estas proteínas son digeridas parcialmente en el tracto gastrointestinal.

Figura 9. *Western blot* de las digestas de íleon a diferentes horas postconsumo.



Se observa la presencia de bandas de kafirinas α_1 en la digesta íleal (Figura 9, línea B) en todas las horas postconsumo en los animales alimentados con ambas dietas. Sin embargo, es evidente que a la hora 12 postconsumo (B6 y B10), la intensidad de coloración

de la banda es mayor que en las horas 3 (B3 y B7), 6 (B4 y B8) y 9 (B5 y B9). Lo anterior podría deberse a que el proceso de digestión enzimática y de absorción de las proteínas termina en el íleon (Gómez y Aguilera, 2008), por lo tanto, en el contenido ileal la concentración de proteínas no digeridas es elevada.

En las digestas de los animales alimentados con la DSBT, las bandas de kafirina α_1 (Figura 9) en la hora 3 (B3), 6 (B4) y 9 (B5) postconsumo son de una misma intensidad indicando un proceso digestivo similar entre los lechones sacrificados en las diferentes horas. Respecto a las digestas ileales (Figura 9) de los lechones alimentados con DSAT, se observa que en las horas 6 (B8) y 9 (B9) postconsumo las bandas de las kafirinas α_1 fueron menos intensas que las bandas de las horas 3 (B7) y 12 (B10), esto probablemente indica que los animales sacrificados en las diferentes horas tuvieron un comportamiento digestivo diferente.

Las bandas de kafirinas α_2 de las digestas de íleon (Figura 9, línea C) se detectaron en todas las horas postconsumo en los animales alimentados con la DSBT. En los lechones de la DSAT las bandas de kafirinas α_2 se presentan en la hora 3 (C7) y 12 (C10) postconsumo. Esto confirma que los lechones sacrificados a las horas 6 (C8) y 9 (C9) tuvieron un comportamiento digestivo diferente, como se observó en el caso de las kafirinas α_1 . Cunningham y Klein (2009) describen que existen ondas de fuertes contracciones peristálticas que recorren una amplia longitud del intestino delgado, y a veces, su totalidad, durante las fases interdigestivas (entre alimentos) que probablemente sean para limpiar el intestino delgado, empujando el material no digerido fuera del intestino delgado, además de cumplir una función de control de la población bacteriana en la porción craneal del intestino, lo que nos podría explicar por qué el comportamiento de la digestión de las

kafirinas se muestra de forma irregular, es decir, existe la presencia o no de dichas proteínas sin un patrón determinado a través de las horas postconsumo de alimento.

Tampoco en la digesta de íleon (Figura 9) de los animales que consumieron ambas dietas, se observó la presencia de kafirinas β desde la hora 3 hasta la hora 12 postconsumo.

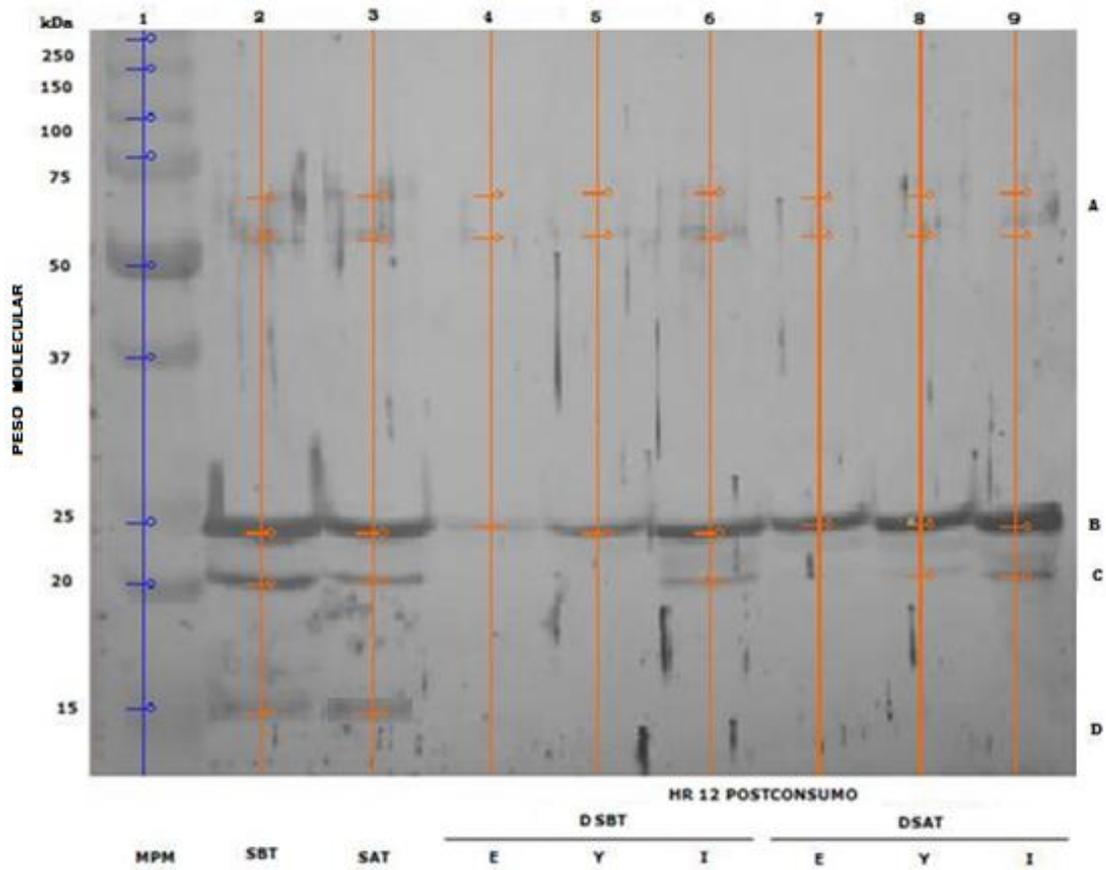
5.4.2.4 Detección de kafirinas en el tracto digestivo a las 12 horas postconsumo.

Las bandas de los trímeros y dímeros de kafirinas a las 12 horas postconsumo (Figura 10, línea A) están presentes en las diferentes porciones del tracto digestivo (estómago, yeyuno e íleon), aunque tienen una intensidad de color muy baja, sobretodo en el estómago (A4, A7).

Las bandas de kafirinas α_1 (Figura 10, línea B) en las digestas de los animales que consumieron la dieta con SBT fueron más intensas en el íleon (B6) que en el yeyuno (B5) y en el estómago (B4), indicando que éstas fueron parcialmente digeridas en las primeras porciones del tracto digestivo. Sin embargo, las bandas de kafirinas α_1 en las digestas de los animales que consumieron la DSAT, fueron detectadas con una elevada intensidad de color en los tres segmentos del tracto digestivo (estómago, yeyuno e íleon), lo que indica que la presencia de los taninos interfiere en su proceso de digestión haciéndolas altamente resistentes a la degradación enzimática durante las 12 horas postconsumo.

En los animales alimentados con la DSBT a las 12 horas postconsumo (Figura 10, línea C) sólo se logró detectar una banda de kafirinas α_2 en el íleon (C6), mientras que en los animales alimentados con la DSAT, las bandas se detectaron en yeyuno (C8) e íleon (C9), con una baja intensidad de coloración. Lo anterior sugiere que las kafirinas α_2 son menos resistentes a la digestión que las kafirinas α_1 y que el nivel de taninos de la dieta también interfiere en el proceso digestivo de dicha fracción de kafirinas.

Figura 10. *Western blot* de digestas de estómago, yeyuno e íleon a las 12 horas postconsumo.



No se observó la presencia de kafirinas β (Figura 10, línea D) en las digestas de estómago, yeyuno e íleon a la hora 12 postconsumo, lo que confirma que esta fracción es altamente digestible.

VI. CONCLUSIONES.

- La composición química, a excepción del contenido de fibra detergente neutro, y el perfil de proteínas de los sorgos empleados en el presente trabajo son muy similares, no habiendo un efecto del contenido de taninos.

- El nivel de taninos del sorgo empleado en la elaboración de las dietas para lechones no afectó el peso de los órganos digestivos, la actividad enzimática ni el pH de los contenidos de los órganos digestivos.

- El peso de los órganos digestivos de los lechones varió en función del día postdestete en que fueron sacrificados.

- La actividad enzimática no fue afectada por el día de sacrificio relativo al destete.

- El pH de los contenidos de los órganos digestivos no fue afectado por la hora postconsumo en que los lechones fueron sacrificados.

- Los trímeros y dímeros de kafirina se van digiriendo conforme pasan a través del tracto digestivo.

- Las kafirinas α_1 son la fracción de prolaminas que es más resistente a la digestión enzimática a través del paso por el tracto digestivo, persistiendo incluso a las 12 horas postconsumo de la dieta, siendo más resistente a la digestión por efecto de los taninos condensados.

- Las kafirinas α_2 no muestran un comportamiento esperado ni dependiente del nivel de taninos del sorgo, lo cuál puede ser debido a la presencia de residuos de esta fracción de la alimentación anterior o debido al tránsito del material indigestible.

- Los taninos no favorecen la digestión de las kafirinas α_2 en el estómago y yeyuno sobretodo a las 9 horas posteriores del consumo de la dieta. Respecto al íleon, no podemos

concluir qué es lo que sucede con la DSAT y los resultados pueden deberse a situaciones individuales o a situaciones fisiológicas que tienen que ver con los movimientos peristálticos durante las fases interdigestivas.

- Las kafirinas β son digeridas antes de las primeras 3 horas postconsumo sin importar la concentración de taninos de los sorgos empleados, por lo que su digestión no se ve afectada por la presencia de los taninos.

- Los taninos condensados definitivamente ejercen un efecto en el proceso digestivo de las kafirinas pero aún se necesitan hacer más estudios que permitan concluir satisfactoriamente sobre la función que realizan dichos factores antinutricionales en el proceso digestivo de las prolaminas del sorgo y del desarrollo de los órganos implicados en la digestión y absorción de los nutrientes.

VII. PROPUESTAS PARA FUTUROS TRABAJOS.

- Para observar si existe un efecto más marcado en el desarrollo de los órganos digestivos y en la actividad de la tripsina debido a la presencia de taninos del sorgo en las dietas para lechones, se podría realizar el mismo experimento pero sacrificando a los lechones con una mayor edad y utilizando concentraciones de taninos mayores a las usadas en el presente trabajo.

- Para comprender más ampliamente si los taninos afectan la actividad enzimática se deberían medir las actividades de otras enzimas, además de la tripsina.

- Lizardo *et al.* (1995) mencionan que la presencia de taninos del sorgo, cuando este grano es empleado en la alimentación de cerdos desde el destete hasta los 25 kg de peso vivo, muestra poco efecto en su crecimiento, por lo que sería interesante realizar un experimento de larga duración, tal vez hasta los 100 kg de peso vivo, e ir midiendo el peso de los órganos digestivos y la actividad enzimática a través del tiempo hasta llegar a ese peso, usando dietas elaboradas con sorgo con alto y bajo contenido de taninos.

- Mazhar *et al.* (1993) mencionan que el terbutanol al 60% con 5% de 2-mercaptoetanol, es la mejor concentración de alcohol y reductor para extraer las kafirinas del sorgo de manera general, sin embargo, describe un procedimiento para extraer cada una de las fracciones de kafirinas. Dicha metodología se podría emplear en estudios posteriores para asegurar que al inocular en los conejos dichas fracciones se obtengan anticuerpos contra los tres tipos de kafirinas, siguiendo la misma metodología descrita por García-Casanova (2008), pero asegurando la inoculación de las tres fracciones, ya que la autora anterior sólo realizó la extracción con terbutanol al 60% y menciona que usando esos

anticuerpos en digestas ileales sólo se reconocen las bandas de 24 kDa y de menos de 10 kDa

- Para saber exactamente a qué fracción de kafirina pertenecen las bandas mostradas en el *Western blot*, se pueden correr las muestras en un gel de poliacrilamida y teñir con plata (para que se revelen las bandas, aunque su concentración sea mínima). Posteriormente extraer y purificar cada una de las bandas y secuenciar la fracción proteica, para determinar a qué fracción de kafirina pertenecen.

VIII. ANEXOS.

Anexo 1. Peso molecular (kDa) de las bandas del *Western blot* de las digestas de estómago a diferentes horas postconsumo

	Mezcla SAT- SBT	Digesta de estómago							
		Hora Postconsumo (DSBT)				Hora Postconsumo (DSAT)			
		3	6	9	12	3	6	9	12
Trímeros y dímeros	65.22	66.3	66.3	65.22	65.22	64.13	66.3	69.57	70.65
	54.89	56.52	55.98	55.43	55.98	55.43	58.15	61.41	60.87
Kafirinas α_1	23.53	25	25.35	25.17	25.52	25.52	26.22	26.39	26.39
Kafirinas α_2	20	20.15	20.15	-	-	-	21.32	21.47	20.88
Kafirinas β	14.69	-	-	-	-	-	-	-	-

DSBT: Dieta elaborada en base al sorgo bajo en taninos condensados. DSAT: Dieta elaborada en base al sorgo alto en taninos condensados. Los espacios con línea (-) indican que no se detectó la presencia de esa fracción de kafirina.

Anexo2. Peso molecular (kDa) de las bandas del *Western blot* de las digestas de yeyuno a diferentes horas postconsumo

	Mezcla SAT- SBT	Digesta de yeyuno							
		Hora Postconsumo (DSBT)				Hora Postconsumo (DSAT)			
		3	6	9	12	3	6	9	12
Trímeros y dímeros	65.35	65.35	64.91	64.91	64.91	64.91	64.04	64.04	63.16
	56.58	55.7	54.82	54.39	54.39	53.95	53.07	53.51	52.63
Kafirinas									
α_1	24.05	24.17	24.17	23.93	24.05	23.93	23.69	23.45	23.33
Kafirinas									
α_2	20.36	-	-	-	-	-	-	19.88	19.77
Kafirinas									
β	15	-	-	-	-	-	-	-	-

DSBT: Dieta elaborada en base al sorgo bajo en taninos condensados. DSAT: Dieta elaborada en base al sorgo alto en taninos condensados. Los espacios con línea (-) indican que no se detectó la presencia de esa fracción de kafirina.

Anexo 3. Peso molecular (kDa) de las bandas del *Western blot* de las digestas de íleon a diferentes horas postconsumo

	Mezcla SAT- SBT	Digesta de íleon							
		Hora Postconsumo (DSBT)				Hora Postconsumo (DSAT)			
		3	6	9	12	3	6	9	12
Trímeros y dímeros	65.43	64.89	64.89	64.36	63.83	64.36	64.36	63.3	63.83
	55.32	54.26	53.72	54.26	53.19	53.72	53.72	53.19	53.72
Kafirinas									
α_1	23.23	23.29	23.57	23.86	24.14	24.14	24.43	24.57	24.71
Kafirinas									
α_2	19.48	19.79	19.9	19.79	20.29	20.30	-	-	21.14
Kafirinas									
β	15.21	-	-	-	-	-	-	-	-

DSBT: Dieta elaborada en base al sorgo bajo en taninos condensados. DSAT: Dieta elaborada en base al sorgo alto en taninos condensados. Los espacios con línea (-) indican que no se detectó la presencia de esa fracción de kafirina.

Anexo 4. Peso molecular (kDa) de las bandas del *Western blot* de las digestas de estómago, yeyuno e íleon a las 12 horas postconsumo

	SBT	SAT	Hora 12 postconsumo					
			DSBT			DSAT		
			Estómago	Yeyuno	Íleon	Estómago	Yeyuno	Íleon
Trímeros y dímeros	65.52	65.95	65.95	66.81	66.38	65.52	65.95	66.81
	56.9	56.03	56.47	56.9	56.47	56.9	56.9	56.9
Kafirinas α_1	24.22	24.22	24.69	24.22	24.22	24.84	24.84	24.69
Kafirinas α_2	20	20.16	-	-	20.16	-	20.63	20.63
Kafirinas β	14.85	14.92	-	-	-	-	-	-

DSBT: Dieta elaborada en base al sorgo bajo en taninos condensados. DSAT: Dieta elaborada en base al sorgo alto en taninos condensados. Los espacios con línea (-) indican que no se detectó la presencia de esa fracción de kafirina.

IX. BIBLIOGRAFÍA.

- Aguilera BMAT, Reis de Souza TC, Mariscal LG, Borbolla AG, Aguilera BA. 2005. Digestibilidad de nutrimentos en lechones alimentados con dietas con aislado o concentrado de proteína de soya. Tec. Pecu. Méx., 44:301-311.
- Allee GL, Touchette KJ. 1999. Efectos de la nutrición sobre la salud intestinal y el crecimiento de lechones. XV Curso de especialización Avances en nutrición y alimentación animal. FEDNA. Barcelona. 125- 144.
- AOAC, 2002. Official Methods of Analysis. 17th ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington, VA.
- Avellaneda CJH. 1999. Efecto de cuatro sorgos con diferentes niveles de taninos sobre la digestibilidad ileal de la proteína, aminoácidos y actividad enzimática en cerdos en crecimiento. Tesis. UNAM. FES Cuautitlán. México. 13-23.
- Bansal S, Mishra A, Tomar A, Sharma S, Kumar Khanna V, Krishan Garg G. 2008. Isolation and temporal endospermal expression of g-kafirin gene of grain sorghum (*Sorghum bicolor* L. Moench) var. M 35-1 for introgression analysis of transgene. J. Cereal Sci. 48: 808-815.
- Bateman, J.V. 1970. Nutrición animal. Manual de métodos analíticos. Herrero Hnos., Sucesores, S.A. México. 269-280.
- Baxter NJ, Lilley TH, Haslam E, Williamson MP. 1997. Multiple interactions between polyphenols and a salivary proline-rich protein repeat result in complexation and precipitation. Biochemistry. 36: 5566-5577.
- Belmar CR, Nava MR. 2005. Factores antinutricionales en la alimentación de animales monogástricos. Curso preevento: Alimentación no convencional para monogástricos en el trópico. 51-

61. UNELLEZ. Venezuela. Ubicado en: avpa.ula.ve/eventos/viii_encuentro_monogastricos/curso_alimentacion_no_convencional/conferencia-5.pdf. Fecha de consulta: 25 de Agosto del 2009.

- Belton PS, Delgadillo I, Halford NG, Shewry PR. 2006. Kafirin structure and functionality. *J. Cereal Sci.* 44: 272-286.

- Cagampang GB, Kierls AW. 1984. Relationship of sorghum grain hardness to selected physical and chemical measurements of grain quality. *Cer. Chem.* 61: 100-105.

- Chamba EB, Halford NG, Forsyth J, Wilkinson M, Shewry PR. 2005. Molecular cloning of β -kafirinin, a methionine-rich protein of sorghum grain. *J. Cereal Sci.* 41:381-383.

- Chandrashekar A, Mazhar H. 1999. The biochemical basis and implications of grain strength in sorghum and maize. *J. Cereal Sci.* 30: 193-207.

- Cunningham JG. 2009. *Fisiología veterinaria*. Elsevier. 4 ed. 316-319.

- Danielsen V. 1998. Nutrición y alimentación de lechones en condiciones de manejo del norte de Europa. XIV Curso de Especialización Avances en Nutrición y Alimentación Animal. FEDNA. Barcelona. Ubicado en: www.etsia.upm.es/fedna/capitulos/98CAPXII.pdf. Fecha de acceso: 24 de Agosto del 2009.

- De Mesa-Stonestreet JN, Alavi S, Bean SR. 2010. Sorghum proteins: the concentration, isolation, modification, and food applications of kafirins. *J. Food Sci.* 75: 90- 104.

- De Pasillé B, Pelletier G, Ménard J, Morisset J. 1989. Relationships of weight gain and behavior to digestive organ weight and enzyme activities in piglets. *J. Anim. Sci.* 67:2921-2929.

- Duodu KG, Nunes A, Delgadillo I, Parker ML, Mills ENC, Belton PS, Taylor JRN. 2002. Effect of grain structure and cooking on sorghum and maize *in vitro* protein digestibility. *J. Cereal Sci.* 35: 161-174.

- Duodu KG, Taylor JRN, Belton PS, Hamaker BR. 2003. Factors affecting sorghum protein digestibility. Mini review. *J. Cereal Sci.* 38: 117-131.
- Eissenthal R, Danson MJ. 1992. Enzyme assays. A practical approach. IRL PRESS. Reino Unido. 1, 23.
- Elkin RG, Freed MB, Hamaker BR, Zhang Y, Parsons CM. 1996. Condensed Tannins Are Only Partially Responsible for Variations in Nutrient Digestibilities of Sorghum Grain Cultivars *J. Agric. Food Chem.* 44: 848–853.
- Emmambux NM, Taylor JRN. 2003. Sorghum kafirina interaction with various phenolic compounds. *J. Sci. Food. Agric.* 83: 402- 407.
- Escobar GK. 2008. Pasta de ajonjolí y pasta de soya: fuentes de proteínas de calidad para la alimentación de lechones recién destetados. Tesis Maestría. UNAM. 104 p.
- Farías J. 2005. Almacenamiento de sorgo en climas tropicales. *Revista Claridades Agropecuarias.* Núm. 138. P.C.: 31-47.
- FEDNA. 2003. Tablas FEDNA de composición y valor nutritivo de alimentos para la formulación de piensos compuestos. Fundación española para el desarrollo de la nutrición animal. De Blas C, Mateos GG, Rebollar PG (editores). 2 ed. España.
- Fialho ET, Rodrigues PB, Lima JAF, Silva HO, Oliveira V. 2004. Performance and nutrient digestibility of low tannin sorghum fed to pigs from 10 to 30 kg. *J. Anim. Sci.* 82 (Suppl. 1): 22.
- García-Casanova L, Jiménez-Severiano H, Hernández CL, Mariscal-Landín G, Reis de Souza TC, Mar-Botello B. 2008. Producción y caracterización de un anticuerpo policlonal contra kafirinas del sorgo. Mérida Yucatán, México, Noviembre 3 a 5. 187.
- Gómez S, Angeles ML, Cuarón JA. 1997. Growth performance and enzyme development in weanling pigs injected with dexamethasone. *J. Anim. Sci.* 75:993-1000.

- Gómez SJG, Aguilera BA. 2008. Bioquímica. Texto. Tesis. Universidad Autónoma de Querétaro. México. 103-105. 351 p.
- Goodband RD. 2000. Nutrición de cerdos. Principios generales. Universidad de Guadalajara. Primera edición. México. 13-17, 30-34.
- Griffiths DW. 1980. The role of field bean polyphenolics in digestive enzyme inhibition. In *Vicia faba*: feeding value. Processing and viruses. 145-157. (Bond DA, editor). The Hague. The Netherlands: Martinus Nijhoff.
- Hagerman AE, Butler LG. 1978. Protein precipitation method for the quantitative determination of tannins. J. Sci. Food Agric. 26: 809-812.
- Hamaker BR, Kirleis AW, Mertz ET, Axtell JD, 1986. Effect of cooking on the protein profiles and in vitro digestibility of sorghum and maize. J. Agric. Food Chem. 34: 647-649.
- Hamaker BR, Kirleis AW, Butler LG, Axtell JD, Mertz ET. 1987. Improving the *in vitro* protein digestibility of sorghum with reducing agents. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 84: 626-628.
- Hamaker BR, Mohamed AA, Habben JE, Huang CP, Larkins BA. 1995. Efficient procedure for extracting maize and sorghum kernel proteins reveals higher prolamin contents than the conventional method. Cereal Chem. 72: 583-588.
- Hosney RC. 1994. Principles of Cereal Science and Technology. 2 ed. American Association of Cereal Chemists, St. Paul, MN. 139-141.
- Ibar L. 1984. Sorgo: cultivo y aprovechamiento. Aedos. 1 ed. México. 16, 119, 120. 166 p.
- Ioerger B, Bean SR, Tuinstra MR, Pedersen JF, Erpelding J, Lee KM, Herrman TJ. 2007. Characterization of polymeric proteins from vitreous and flourey sorghum endosperm. J. Agric. Food Chem. 55: 10232- 10239.

- Jansman AJM. 1993. Tannins in feedstuffs for simple-stomached animals. *Nutr. Res. Reviews.* 6: 209-236.
- Jansman AJM, Enting H, Verstegen MWA, Huisman J. 1994. Effect of condensed tannins in hulls of faba beans (*Vicia faba* L.) on the activities of trypsin (EC 2.4.21.4) and chymotrypsin (EC 2.4.21.1) in digesta collected from the small intestine of pigs. *Br. J. Nutr.* 71:627-641.
- Kelly D, Smyth JA, McCracken KM. 1991. Digestive development of the early-weaned pig. 1. Effect of continuous nutrient supply on the development of the digestive tract and on changes in digestive enzyme activity during the first week post-weaning. *Br. J. Nutr.* 65: 169-180.
- Laemmli UK. 1970. Cleavage of structural proteins during the heat of bacteriophage T4. *Nature* 227: 680-685.
- Le Gall M, Quillien L, Guéguen J, Rogniaux H, Sève B. 2005. Identification of dietary and endogenous ileal protein losses in pigs by immunoblotting and mass spectrometry. *J. Nutr.* 135:1215-1222.
- Lindemann ND, Cornelius SG, El Kandelgy SM, Moser RL, Pettigrew JE. 1986. Effect of age, weaning and diet on digestive enzyme levels in the piglet. *J. Anim. Sci.* 62: 1298-1307.
- Lizardo R, Peiniau J, Aumaitre A. 1995. Effect of sorghum on performance, digestibility of dietary components and activities of pancreatic and intestinal enzymes in the weaned piglet. *Anim. Feed Sci. Technol.* 56: 67- 82.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL. 1951. Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. Biol. Chem.* 193: 263-270.
- Mariscal LG, Avellaneda JH, Reis de Souza TC, Aguilera BA, Borbolla GA, Mar B. 2004 Effect of tannins in sorghum on amino acid ileal digestibility and on trypsin (E.C.2.4.21.4) and chymotrypsin (E.C.2.4.21.1) activity of growing pigs. *Anim. Feed Sci. Technol.* 117: 245-264.

- Mazhar H, Chandrashekar A, Shetty HS. 1993. Isolation and immunochemical characterization of the alcohol-extractable proteins (kafirins) of *Sorghum bicolor* (L.) Moench. J. Cereal Sci. 17: 83- 93.
- Mazhar H, Chandrashekar A. 1995. Quantification and distribution of kafirins in the kernels of sorghum cultivars varying in endosperm hardness. J. Cereal Sci. 21: 155- 162.
- NRC., 1998. Nutrient requirements of swine. 10th ed. National Academy Press. Washington, DC. 189 p.
- Nunes A, Correia I, Barros A, Delgadillo I. 2005. Characterization of kafirin and zein oligomers by preparative sodium dodecyl sulfate-polyacrilamide gel electrophoresis. J. Agric. Food Chem. 53: 639-643.
- Optimal Formula 2000®. 2005. v 0.0. Optimal Informatical Ltda. Brasil.
- Oria MP, Hamaker BR, Shull JM. 1995. Resistance of sorghum α -, β - and γ -kafirins to pepsin digestion. J. Agric. Food Chem. 43: 2148-2153.
- Oria, MP, Hamaker BR, Axtell JD, Huang CP. 2000. A highly digestible sorghum mutant cultivar exhibits a unique folded structure of endosperm protein bodies. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. 97: 5065–5070.
- Osman RO, Abd El Gellil FM, El-Noamany HM, Dawood MG. 2000. Oil content and fatty acid composition of some varieties of barley and sorghum grains. Grasas y aceites. 51- 3: 157-162.
- Pluske JR, Kerton DJ, Cranwell PD, Campbell RG, Mullan BP, King RH, Power GN, Pierzynowski SG, Westrom B, Rippe C, Peulen O, Dunshea FR. 2003. Age, sex, and weight at weaning influence organ weight and gastrointestinal development of weanling pigs. Australian J. Agric. Res. 54: 515-527.
- Price ML, Van Scoyoc S, Butler LG. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain, J. Agric. Food Chem. 26:1214-1218.

- Reboud JP, Ben AA, Desnuelle P. 1962. Variations de la teneur en enzymes de pàncreas de rat en fonction de la composition des règimes. *Bioch. Biophys. Acta.* 58: 326-327.
- Reed DJ. 1995. Nutritional toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. *J. Anim. Sci.* 73: 1516-1528.
- Reis de Souza TC, Mariscal LG, Aguilera BA. 2005. Efecto de diferentes cereales en dietas de iniciación para lechones sobre la digestibilidad de los nutrimentos y la preferencia alimentaria. *Vet. Méx.*, 36: 11-24.
- Reis de Souza TC, Mariscal LG, Aguilera BA, Cervantes HJG. 2007. Digestibilidad de la proteína y energía en dietas para lechones, complementadas con tres diferentes tipos de suero de leche deshidratado. *Vet. Méx.*, 38: 141-151.
- Reyes SE, Cortéz CA, Morales BE, Ávila GE. 2000. Adición de DL-Metionina en dietas con sorgo alto en taninos para pollos de engorda. *Téc. Pecu. Méx.*, 38: 1-8.
- Robertson JB, Van Soest PJ. 1981. The detergent system of analysis and its application to human foods. En: *The analysis of dietary fiber in food.* W. T. James O. Theander, eds. Markel Dekker, Inc. N.Y. Pp.: 123-158.
- Rooney LW, Clark LE. 1968. The chemistry and processing of sorghum grain. *Cereal Sci. Today.* 13: 259-285.
- SAS. 1990. *SAS/STAT User's Guide (Version 6, 4th Ed.)*. Cary NC: SAS Inst Inc.
- Sauvant D, Pérez J-M, Trans G. 2004. *Tablas de composición y de valor nutritive de las materias primas destinadas a los animals de interés ganadero. Cerdos, aves, bovinos, ovinos, caprinos, conejos, caballos y peces.* Mundi-Prensa. España. P.C.: 90, 91.

- Serna-Saldivar S, Rooney LW. 1995. Structure and chemistry of sorghum millets. 69-124. En: Sorghum and millets. Chemistry and technology. D.A.V. Dendy, American Association of Cereal Chemists: St.Paul, MN.

- Serrano J, Puupponen-Pimia R, Dauer A, Aura A-M, Saura-Calixto F. 2009. Tannins: current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. Mol. Nutr. Food Res. 53: 1-20.

- Shahidi F, Naczk M. 2004. Phenolics in food and nutraceuticals. CRS PRESS. USA. 13. Consultado en:

[www.books.google.com.mx/books?id=vHOJKw4umikC&pg=PA349&lpg=PA349&dq=Hagerman+y+Butler+\(1978\)&source=bl&ots=xbOaYxCvZ5&sig=Dkkck1WJZWleSvyn5ci0A5ALVH8&hl=es&ei=d0VZTNrZN5PSsAOCweTyCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CBkQ6AEwADgK#v=onepage&q=Hagerman%20y%20Butler%20\(1978\)&f=false](http://www.books.google.com.mx/books?id=vHOJKw4umikC&pg=PA349&lpg=PA349&dq=Hagerman+y+Butler+(1978)&source=bl&ots=xbOaYxCvZ5&sig=Dkkck1WJZWleSvyn5ci0A5ALVH8&hl=es&ei=d0VZTNrZN5PSsAOCweTyCQ&sa=X&oi=book_result&ct=result&resnum=1&ved=0CBkQ6AEwADgK#v=onepage&q=Hagerman%20y%20Butler%20(1978)&f=false). Fecha de consulta: 12 de septiembre del 2009.

- Taylor J, Bean SR, Ioerger BP, Taylor JRN .2007. Preferential binding of sorghum tannins with γ -kafirina and the influence of tannin binding on kafirina digestibility and biodegradation. J. Cereal Sci. 46: 22-31.

- USDA, 2009. USDA home page. Consultado en: www.usda.gov. Fecha de consulta: marzo 2009.

- Verbruggen MA, Beldman G, Voragen AGJ, Hollemans M. 1993. Water-unextractable cell wall material from sorghum: isolation and characterization. J. Cer. Sci. 17:71-82.

- Wall JS, Blessin CW. 1969. Composition and structure of sorghum grains. Cereal Sci. Today. 6 (8): 264- 270.

- Wong JH, Lau T, Cai N, Singh J, Pedersen JF, Vensel WH, Hurkman WJ, Wilson JD, Lemaux PG, Buchanan BB. 2009. Digestibility of protein and starch from sorghum (*Sorghum bicolor*) is linked to biochemical and structural features of grain endosperm. J. Cereal Sci. 49: 73-82.

- Youssef AM. 1998. Extractability, fractionation and nutritional value of low and high tannin sorghum proteins. Food Chem. 63: 325-329.