### MÉTODOS PARA DETERMINAR TANINOS EM SORGO, AVALIANDO-SE O DESEMPENHO DE AVES E A DIGESTIBILIDADE *IN VITRO* DA MATÉRIA SECA

WALTER ALVARENGA RODRIGUES<sup>1</sup>
PAULO CÉSAR MAGALHÃES<sup>2</sup>
FREDOLINO GIACOMINI DOS SANTOS<sup>2</sup>
ANTÔNIO GILBERTO BERTECHINI<sup>3</sup>
GERALDO A. TOSELLO<sup>4</sup>

**RESUMO** - Com o objetivo de comparar métodos para determinar a presença de taninos em sorgo [Sorghum bicolor (L.) Moench], foi conduzido um experimento com aves e realizada a análise da digestibilidade "in vitro" da matéria seca. Foram avaliados os métodos Azul da Prússia, Vanilina/HCl e Proantocianidina, e na

preparação das rações, foram utilizados dez diferentes híbridos de sorgo e uma variedade de milho. A presença de compostos fenólicos determinada pelo método Azul da Prússia apresentou maior correlação com o ganho de peso das aves e a digestibilidade "in vitro" da matéria seca.

TERMOS PARA INDEXAÇÃO: Compostos fenólicos, quantificação, qualidade nutritiva do sorgo, frangos, dieta.

# ASSAYS TO DETECT TANNINS IN SORGHUM EVALUATING CHICKS PERFORMANCE AND DIGESTIBILITY OF DRY MATTER

ABSTRACT - With the objective of comparing assays for detecting the presence of tannins in grain sorghum [Sorghum bicolor (L.) Moench], an experiment with chicks, including an analysis of dry matter "in vitro" digestibility was performed. Prussian blue, Vanillin-HCl and Proanthocyanidin. Methods were evaluated

and the chicks were feed using rations containing ten different sorghum hybrids and a variety of maize. The presence of phenolic compounds detected by the Prussian blue assay resulted in a greater correlation with chicks weight gain and "in vitro" digestibility of dry matter.

INDEX TERMS: Phenolic compounds, quantity, nutritive quality of sorghum, chicken, diet.

#### INTRODUÇÃO

Os taninos são considerados polímeros de compostos fenólicos resultantes do metabolismo secundário das plantas (Butler, 1989a). São comuns em sorgo e, quando presentes, conferem resistência a pássaros (Rodrigues et al., 1992), aos fungos causadores da podridão no grão (Harris & Burns, 1973), além de reduzir a germinação do grão antes da colheita (Harris e Burns, 1970). Entretanto, estes compostos fenólicos formam complexos com proteínas através de pontes de hidrogênio e interações hidrofóbicas, reduzindo a digestibilidade e a pala-

tabilidade dos alimentos, causando, em consequência, menor ganho de peso aos animais (Butler, 1989b).

Avaliando-se diversos cultivares de sorgo, Schaffert, Lechtenber, Whykerd (1974) verificaram o efeito da presença de taninos na digestibilidade "in vitro" da matéria seca. Os cultivares com tanino apresentaram digestibilidade de 85,5% e sem tanino 93,8%. Uma correlação negativa entre digestibilidade da matéria seca e a presença de taninos no grão também foi observada por Harris et al. (1970) e Montgomery et al. (1986), que verificaram valores de r = -0,90 e r = -0,66, respectivamente.

Eng.Agr., Dr., Prof. Adjunto, Dep. de Biologia Geral, Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Goias, Caixa Postal 131, CEP 74001-970 - Goiânia, GO.

Eng.Agr., Ph.D., EMBRAPA-Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo, Caixa Postal 151, CEP 35701-970 Sete Lagoas, MG.

Zootecnista, Dr., Prof. Titular, Dep. de Zootecnia, UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS (UFLA), Caixa Postal 37, CEP 37200-000 - Lavras, MG.

Eng.Agr., Ph.D., Prof. Titular, Dep. de Genética, ESALQ/USP, Caixa Postal 83, CEP 13418-900 Piracicaba, SP.

Estudos conduzidos por Rostagno e Burns (1973a) mostraram redução da digestibilidade de aminoácidos e maior excreção de aminoácidos endógenos quando as aves foram alimentas com dietas à base de sorgo com tanino no grão. Rostagno, Featherston e Rogler (1973b) também observou menor ganho de peso de aves quando sorgo com tanino foi utilizado na composição das dietas.

O desempenho de aves alimentadas com rações à base de sorgo com tanino foi verificado por Elkin et al. (1991), que observaram redução de 33% no ganho de peso das aves aos 17 dias de idade. Estudos conduzidos por Queiroz, et al. (1978) e Banda-Nyirenda, Vohra e Ingebretson (1987) também mostraram o efeito prejudicial da presença dos taninos na dieta para aves.

A comparação entre sete métodos para determinar a presença de taninos no grão de sorgo foi realizada por Earp et al. (1981), que avaliaram 21 cultivares, diferindo-se quanto a cor do pericarpo e presença ou ausência de pigmentação na testa. Foram comparados os métodos: Azul da Prússia (Price e Butler, 1977), Vanilina - HCl (Burns, 1971)) com e sem controle (branco) e 20 minutos de extração, Vanilina - HCl modificado (MV - HCl), descrito por Maxon e Rooney (1972) com e sem controle e 20 minutos de extração, MV -HCl com controle e 24 horas de extração e o método de inibição da α-amilase. O método Azul da Prússia apresentou valores entre 0,04 e 0,99, equivalente catequina (mg de catequina em 100 mg de amostra). O método Vanilina - HCl com controle apresentou valores entre 0,03 e 6,67, e sem controle, valores entre 0,05 e 7,45, equivalente categuina. O método MV - HCl com controle e extração por 20 minutos apresentou valores entre 0,01 e 3,48, e sem controle, valores entre 0,2 e 4,85, equivalente catequina, com extração por 24 horas, e com controle os valores obtidos foram entre 0,33 e 4,85, equivalente catequina. O método de inibição da α-amilase apresentou valores entre 1,8 e 77,0 % de inibição. Após a análise estatística dos dados, os autores concluíram que o método MV - HCl, com extração por 24 horas, discriminou melhor os cultivares e apresentou menor erro experimental avaliado pelo coeficiente de variação: porém, devido ao tempo muito longo de extração dos taninos, foi recomendado o método Vanilina - HCl, com controle e extração por 20 minutos

A determinação do teor de tanino no grão em 14 cultivares de sorgo foi realizada por Banda-Nyirenda et al. (1987), utilizando-se 4 métodos: Azul da Prússia (Price e Butler, 1977); Vanilina - HCl descrito por Price et al. (1978); Vanilina - HCl de acordo com Earp et al.

(1981) e Folin-Denis, segundo Burns (1971). O método Azul da Prússia apresentou valores menores, com média de 0,17 e valores entre 0,10 e 0,38, equivalente catequina, considerando-se todas as variedades. Os valores mais altos foram observados quando se utilizou o método Folin-Denis, que apresentou média de 0,93 e valores entre 0,03 e 2,45, equivalente ácido tânico. O método Vanilina - HCl, descrito por Price et al. (1978), apresentou resultados intermediários, com média de 0,52 e valores entre 0,27 e 1,15, equivalente catequina. Quando se utilizou este método, mas com a metodologia descrita por Earp et al. (1981), os resultados apresentaram média de 0,83 e valores entre 0,29 e 1,97. Neste estudo, verificaram-se diferenças entre variedades, metodologias e interação significativa entre variedades e metodologias.

Existe uma dificuldade em se quantificar os taninos em sorgo, isto porque os métodos disponíveis apresentam vários problemas. O primeiro é que os taninos são contaminados por compostos fenólicos que não precipitam proteínas. Assim, métodos que medem compostos fenólicos totais não são satisfatórios. O segundo maior problema é a dificuldade de isolamento de taninos, com estrutura conhecida, para usá-los como padrão. Terceiro, ambos, tanino hidrolizável e tanino condensado precipitam proteínas, mas eles são, do ponto de vista químico, completamente diferentes (Hoseney et al., 1981).

Os métodos disponíveis para quantificar taninos podem ser divididos em duas classes: aqueles que utilizam as propriedades químicas, ou seja, a capacidade dos compostos fenólicos reagirem com outras substâncias com o desenvolvimento de cor e aqueles que utilizam as propriedades físicas, isto é, a capacidade dos compostos fenólicos de precipitar as proteínas (Makkar, 1989).

A vantagem do método de precipitação de proteínas é que eles medem a atividade biológica dos taninos nos alimentos ou forragem (Makkar, 1989). Porém, diferenças no peso e conformação molecular dos taninos podem influenciar a interação entre tanino e proteína e, assim, causarem resultados divergentes (Hoseney et al.,1981).

Os métodos colorimétricos são amplamente utilizados, principalmente devido a sua simplicidade e sensibilidade. Esses incluem: Folin-Ciocalteu, Folin-Denis e Azul da Prússia, para fenóis totais; Vanilina/HCl, para catequina e butanol-HCl para proantocianidina. Entretanto, esses não são específicos e não distinguem fenóis de baixo peso molecular (que não

tem efeito adverso na qualidade nutricional) de polifenóis que afetam a qualidade nutricional, segundo revisão de Makkar (1989).

No Brasil, uma metodologia utilizada pela indústria para detectar a presença de taninos em sorgo por ocasião da comercialização do produto, utiliza soluções de hidróxido de potássio e hipoclorito de sódio que através de reações de oxidação com compostos fenólicos produzem cor escura no grão. Essa metodologia produz resultados imprecisos, uma vez que numerosos compostos químicos, que não são taninos e que estão presentes no grão de sorgo, podem participar dessas reações de oxidação e promover o desenvolvimento de cor no grão.

Atualmente, existe a necessidade de se utilizar um método para quantificar o teor de tanino em sorgo que forneça resultados rápidos e precisos, possibilitando sua utilização em programas de melhoramento genético, visando a obter sorgo com boas qualidades nutritivas e resistentes a pássaros.

Assim sendo, os objetivos deste estudo foram comparar três métodos para determinar a presença de taninos em grãos de sorgo, correlacionando-se o teor de tanino com a desempenho de aves e a digestibilidade "in vitro" da matéria seca.

#### MATERIAL E MÉTODOS

Para compararem os métodos de determinação da presença de taninos em sorgo e correlacioná-los com o desempenho de aves, foi conduzido um experimento em que se utilizaram nas rações, os materiais genéticos apresentados na Tabela 1, além da análise da digestibilidade "in vitro" da matéria seca.

Foram avaliados 10 materiais genéticos de sorgo, sendo 3 híbridos experimentais (CMSXS), 4 híbridos comerciais (BR), e como testemunha referencial foi usado a cultivar de milho BR 106, fornecidas pelo (CNPMS-Embrapa), localizado em Sete Lagoas-MG. Outros 3 híbridos comerciais de sorgo de instituições privadas também foram avaliados.

Para a determinação do teor de tanino, foram retiradas 4 amostras de cada híbrido de sorgo que constituíram as rações. As análises foram realizadas no laboratório de Fisiologia Vegetal do Centro Nacional de Pesquisa de Milho e Sorgo (CNPMS-Embrapa). Foram avaliados os métodos Azul da Prússia (Price e Butler, 1977), Vanilina/HCl (Price et al. 1978) e Proantocianidina (Hagerman e Butler, 1981).

TABELA 1 - Relação de materiais genéticos avaliados. CNPMS - Sete Lagoas, MG. 1994.

Materiais genéticos	Instituição de origem		
 BR 300	CNPMS-EMBRAPA		
CMSXS 356	CNPMS-EMBRAPA		
BR 600	CNPMS-EMBRAPA		
BR 304	CNPMS-EMBRAPA		
CMSXS 375	CNPMS-EMBRAPA		
AG 3001	AGROCERES		
A 9902	ASGROW		
CMSXS 376	CNPMS-EMBRAPA		
CONTIGRÃO 111	CONTIBRASIL		
CMSXS 359	CNPMS-EMBRAPA		
BR 106 (Milho)	CNPMS-EMBRAPA		

Para a extração dos taninos, foram adicionados 10 ml de HCl 1% em metanol, em tubos de ensaio contendo 500 mg do grão moído. As amostras foram agitadas levemente por 20 minutos e, a seguir, centrifugadas por 8 minutos a 1000 rpm, guardando o sobrenadante que se constituiu no extrato.

## 1. Descrição das metodologias de determinação de tanino

#### 1.1. Método Azul da Prússia

Para a determinação do teor de tanino no grão utilizando-se o método Azul da Prússia, foram adicionados 50 ml de água destilada e 0,2 ml do extrato em erlemeyer de 125 ml. O controle foi constituído de 0,2 ml da solução de HCl 1% em metanol.

A seguir, adicionaram-se 3 ml de cloreto férrico (FeCl<sub>3</sub>) 0,05M em HCl 0,1N. Após 3 minutos, adicionaram-se também 3 ml de ferrocianeto de potássio [FeK<sub>3</sub> (CN)<sub>6</sub>] 0,008M. A leitura de absorbância foi em espectrofotômetro a 720 nm. Para a determinação da presença de taninos nas amostras, utilizou-se uma curva padrão obtida a partir de soluções contendo diferentes concentrações de ácido tânico. Para tanto, em balão volumétrico de 100 ml adicionaram-se 100 mg de ácido tânico, completando-se o volume com uma solução de HCl 1% em metanol. Alíquotas de 0 a 1,0 ml, com diferenças de 0,1 ml, foram pipetadas em tubo de ensaio, completando-se o volume para 10 ml com a solução de HCl 1% em metanol.

A seguir, em erlemeyer contendo 50 ml de água bidestilada, pipetou-se 0,1 ml da solução de 10 ml preparada anteriormente. Para o controle, utilizou-se 0,1 ml da solução de HCl 1% em metanol. Foram adicionados 3 ml de cloreto férrico e, após 3 minutos, 3 ml de ferrocianeto de potássio. A curva de absorbância vs concentração de ácido tânico foi obtida com leituras em espectrofotômetro a 720 nm.

#### 1.2. Método Vanilina/HCl

Para determinar o teor de tanino utilizando-se o método Vanilina/HCl, preparou-se uma solução de HCl 8% em metanol e outra de vanilina 2% em metanol, sendo essas duas soluções misturadas a seguir, obtendo-se, assim, uma solução de vanilina/HCl. Para os tubos controle, preparou-se um solução de HCl 4% em metanol.

Em cada tubo de ensaio, adicionaram-se 1 ml do extrato (amostra) e 5 ml da solução de Vanilina/HCl, com intervalos de um minuto. A leitura de absorbância em espectrofotômetro foi a 500 nm. Para a determinação da presença de tanino nas amostras, utilizou-se

uma curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de catequina. Para tanto, em balão volumétrico de 200 ml foram adicionados 200 mg de catequina e completado o volume com metanol. Alíquotas de 5, 10, 25, 50 e 100 ml desta solução foram adicionadas em balão volumétrico de 100 ml, completando-se o volume com metanol. Para a obtenção da curva padrão, o procedimento foi o mesmo para a determinação do teor de tanino nas amostras que foram substituídas por estas soluções.

#### 1.3. Método da Proantocianidina

O teor de tanino determinado pelo método da proantocianidina foi realizado adicionando-se 7 ml de uma solução de HCl 30% em álcool butílico e 0,5 ml do extrato (amostra) em tubo de ensaio. Para cada tubocontrole, adicionaram-se 7 ml de uma solução contendo 15% de ácido acético 0,1 N, 15% de metanol e 70% de n-butanol, além de 0,5 ml de cada amostra. Após 1 hora em temperatura ambiente, os tubos contendo estas soluções foram fervidos durante 60 minutos para a hidrólise. Quando os tubos esfriaram, procederam-se as leituras de absorbâncias em espectrofotômetro a 550 nm. Para a determinação da presença de taninos nas amostras, utilizou-se uma curva padrão obtida a partir de diferentes concentrações de tanino purificado de quebracho. Para tanto, em balão volumétrico de 100 ml adicionou-se 1g de tanino purificado, completando-se o volume com uma solução de HCl 1% em metanol. A partir desta solução, tomaram-se alíquotas de 0 a 10 ml, com intervalos de 1 ml, completando-se o volume para 10 ml, com solução de HCl 1% em metanol. Em tubos de ensaio, adicionaram-se 7,0 ml da solução de HCl 30% em álcool butílico e 0.5 ml da solução de diferentes concentrações preparada anteriormente. hora em temperatura ambiente, os tubos contendo essas soluções foram fervidos por 60 minutos e, a seguir, realizaram-se as leituras de absorbâncias em espectrofotômetro a 550 nm, construindo-se a curva de absorbância vs concentração de tanino.

#### 2. Ensaio de desempenho com aves

O experimento foi conduzido em baterias no Departamento de Zootecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA-Lavras/MG). Foram utilizados pintos da marca HUBBARD com 1 dia de idade, pesando 37 g em média. O delineamento experimental foi em blocos ao acaso, com 4 repetições, sendo 2 repetições constituídas por parcelas contendo 23 pintos machos e 2 repetições constituídas por parcelas contendo 12 pintos fêmeas os quais foram alimentados à vontade. O perío-

do experimental foi de 28 dias, determinando-se o ganho de peso, o consumo de ração e a conversão alimentar aos 14 e 28 dias, que são considerados pontos críticos para se discriminar o desempenho das aves.

As rações constituídas pelo sorgo ou milho (Tabela 2) possuíam baixo conteúdo de proteína (18%), com os mesmos níveis de aminoácidos essenciais como lisina (0,982%) e metionina/cistina (0,723%).

A determinação da digestibilidade "in vitro" da matéria seca foi realizada no Laboratório de Nutrição Animal do Departamento de Zoologia da ESALQ/USP. A técnica utilizada foi descrita por Baumgardt et al. (1962) e consiste em colocar as amostras de sorgo ou milho em contato com o conteúdo líquido de rúmen (retículo) de bovinos por 48 horas no interior de um tubo de ensaio, no qual se procura reproduzir as condições de fermentação existentes no rúmen-retículo. Uma segunda etapa foi realizada de acordo com o procedimento descrito por Tilley e Terry (1963), na qual as amostras são fermentadas por outras 48 horas por uma solução ácida de pepsina, a fim de desdobrar a proteína do substrato, obtendo-se, assim, melhores estimativas "in vitro". Embora essa técnica seja comumemte utilizada em experimentos com ruminantes, os resultados

**TABELA 2 -** Composições das rações (%) à base de sorgo com tanino (CT), sem tanino (ST) ou milho utilizadas para frangos de corte até 28 dias de idade. Lavras, MG. 1994 <sup>1</sup>

Alimentos	Sorgo (CT)	Sorgo (ST)	Milho
Milho/Sorgo	67,000	67,050	67,587
Farelo de Soja	29,280	29,310	28,800
Fosfato bicálcio	2,080	2,113	2,041
Calcário	0,803	0,815	0,874
Sal	0,370	0,370	0,370
DL-Metionina	0,107	0,118	0,103
Suplemento Vitamínico	0,100	0,100	0,100
Suplemento Mineral	0,100	0,100	0,100
Bacitracina	0,025	0,025	0,025
Total	100,000	100,000	100,000
Composição			
Proteína Bruta	18,000	18,000	18,000
Metionina + Cistina	0,723	0,723	0,723
Metionina	0,435	0,451	0,460
Cálcio	0,956	0,960	0,960
Fósforo Disponível	0,478	0,480	0,480
Energia Metabolizável (Kcal/Kg)	2927	2945	2966

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Para a elaboração das rações, foram utilizados dados de composição de alimentos e exigências nutricionais citados na publicação da Universidade Federal de Viçosa - Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos (Rostagno et al. 1992).

obtidos serão correlacionados apenas com os teores de taninos determinados pelas diferentes metodologias avaliadas neste estudo.

#### RESULTADOS E DISCUSSÃO

O resultado da análise de variância para teores de tanino no grão mostrou que houve diferenças significativas (P<0,01) entre os híbridos de sorgo e entre as metodologias utilizadas neste estudo, como pode ser observado na Tabela 3. Segundo Makkar (1989), as metodologias utilizadas para determinar taninos em sorgo apresentam resultados diferentes devido ao fato de que cada método é específico para determinados compostos fenólicos.

Os resultados apresentados na Tabela 3 também mostraram interação significativa entre os híbridos e os métodos para determinar a presença de taninos em sorgo (P< 0,01), ou seja, alguns materiais apresentaram maior ou menor teor de tanino que outro, dependendo da metodologia utilizada. Esse resultado é importante porque, por uma metodologia, pode-se detectar a presença de taninos em um material (valores maiores que 0,8%), e por outra metodologia, os taninos seriam considerados ausentes (valores menores que 0,8%). Assim, o produtor ao comercializar o sorgo, pode ter sua mercadoria desvalorizada, dependendo da metodologia utilizada para quantificar os compostos fenólicos.

Os teores de tanino no grão, utilizando os métodos Azul da Prússia, Vanilina/HCl e Proantocianidina para os híbridos de sorgo avaliados neste estudo, são apresentados na Tabela 4. De modo geral, o método da Proantocianidina apresentou valores maiores que o método Vanilina/HCl que, por sua vez, apresentou valores maiores que o método Azul da Prússia. Esse resultado pode ser explicado devido ao fato de que cada

método detecta diferentes compostos químicos. Resultados semelhantes foram obtidos por Earp et al. (1981) e Banda-Nyirenda, Vohra e Ingebretson, que também verificaram diferenças significativas no teor de tanino em sorgo, dependendo do método utilizado. No entanto, deve-se considerar que os valores numéricos pouco acrescentam, uma vez que os cultivares de sorgo são classificados quanto a presença ou ausência de taninos.

A Tabela 4 mostra também que existe uma concordância entre os materiais genéticos quanto a presença ou ausência de tanino, considerando-se os métodos Azul da Prússia e Vanilina/HCl. No entanto. quando consideramos o método da Proantocianidina, isso não acontece, pois os híbridos CMSXS 356 e CMSXS 359, apresentaram taninos por esta metodologia, e pelas metodologias Azul da Prússia e Vanilina/HCl, os taninos estariam ausentes. Nota-se também que o híbrido BR 300 apresentou um valor muito próximo do limite em que considera a presença de tanino (0,793) para o método da Proantocianidina; entretanto, para os dois outros métodos, este híbrido não apresentaria tanino. Provavelmente esses resultados se devem à dificuldade de se utilizar substâncias adequadas para serem utilizadas como padrão para quantificar os taninos.

Como se observa na Tabela 4, o método Vanilina/HCl apresentou valores mais próximos ao método da Proantocianidina, quando se considera os materiais genéticos com presença de tanino. Segundo Price, Scoyoc e Butter (1978), o método Vanilina/HCl possui tendência de superestimar o teor de tanino. Provavelmente, este resultado é devido a outros compostos que são detectados por estas metodologias ou mesmo devido às substâncias utilizadas como padrão, catequina para o método Vanilina/HCl e tanino purificado de quebracho para o método da Proantocianidina.

**TABELA 3** - Análise de variância para teor de tanino no grão (%), considerando-se os diferentes materiais genéticos avaliados e os três métodos de análise de tanino. Sete Lagoas, MG. 1994.

FV	GL	QM
Híbridos de sorgo (H)	09	64,721**
Amostras dentro de Híbridos	30	0,087 n.s.
Métodos (M)	02	98,836**
НХМ	18	6,608**
ERRO	60	0,123

<sup>\*\*</sup>Significativo ao nível de 1% de probabilidade.

**TABELA 4 -** Teor de tanino em sorgo determinado pelos métodos Azul da Prússia (AP), Vanilina/HCl (VA) e Proantocianidina (PRO). Média de quatro repetições. Sete Lagoas, MG. 1994. 1

	Métodos				
Híbridos	AP <sup>2</sup>	$VA^3$	PRO <sup>4</sup>		
BR 300	0,257 b	0,612 ab	0,793 a		
CMSXS 356	0,218 b	0,358 b	1,167 a		
BR 600	2,185 b	7,085 a	7,210 a		
BR 304	0,513 a	0,133 a	0,128 a		
CMSXS 375	2,895 c	8,285 a	6,750 b		
AG 3001	1,863 c	5,700 b	7,647 a		
A 9902	1,935 c	5,585 b	6,462 a		
CMSXS 376	2,003 c	4,285 b	5,905 a		
CONTIGRÃO 111	1,565 c	4,737 b	5,660 a		
CMSXS 359	0,215 b	0,188 b	0,803 a		

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na linha horizontal não diferem pelo teste de DUNCAN a 5% de probabilidade.

A análise de variância mostrou que as aves alimentadas com as rações até aos 14 dias, contendo os diferentes materiais genéticos, apresentaram diferenças significativas (P<0,01) quanto ao ganho de peso, consumo de ração e conversão alimentar. Esse resultado foi semelhante aos 28 dias, exceto para o consumo de ração, que não mostrou diferenças significativas (P>0,05).

Observa-se na Tabela 5, que as aves alimentadas com rações contendo sorgo sem tanino (CMSXS 359, BR 300, CMSXS 356, BR 304) apresentaram, em geral, maior ganho de peso aos 14 e 28 dias, que as aves alimentadas com rações à base de sorgo com tanino no grão. A média do ganho de peso das aves aos 14 dias foi de 268,00 g para sorgo sem tanino e 216,66 g para sorgo com tanino, o que representa uma redução de 19,2% no ganho de peso. Aos 28 dias, a média de ganho de peso foi de 771,46 g para sorgo sem tanino e 571,76 g para sorgo com tanino, mostrando uma redução de 25,8% no ganho de peso devido à presença de tanino no grão. Elkin, Rogler e Sullivan (1991) também verificaram redução de 33% no ganho de peso de aves aos 17 dias, quando se comparou, na dieta, sorgo

com tanino e sem tanino no grão. Quando se compara sorgo sem tanino com milho, observa-se que o ganho de peso aos 14 e 28 dias foi semelhante, a exceção do híbrido BR 300, proporcionou maior ganho de peso aos 28 dias, quando utilizado na ração (Tabela 4). Segundo Gualtieri e Rapaccini (1990), as cultivares mais modernas de sorgo sem tanino possuem valor nutritivo semelhante ao milho.

Quando se considera o consumo de ração aos 14 e 28 dias, nota-se que as diferenças observadas entre os materiais genéticos não estão associadas à presença ou ausência de tanino no grão. Entretanto, observou-se que durante a condução do experimento, houve perda de ração nas parcelas que continham o híbrido CMSXS 375. Esse híbrido foi o que apresentou os maiores teores de tanino no grão detectados pelos métodos Azul da Prússia e Vanilina/HCl (Tabela 5). Essa perda se deve à rejeição, pelas aves, da ração que era lançada para fora do comedouro. Esse fato contribuiu para superestimar o consumo de ração, e, conseqüentemente a conversão alimentar deste híbrido.

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> equivalente ácido tânico  $(s_v = 0.0536)$ 

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> equivalente catequina  $(s_y = 0.1414)$ 

 $<sup>^4</sup>$  % de tanino ( $s_y = 0,2276$ )

**TABELA 5** - Médias do ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA) aos 14 e 28 dias e a Digestibilidade "in vitro" da matéria seca (DIVMS) para cada material genético avaliado. Média de quatro repetições. Lavras, MG. 1994<sup>1</sup>.

Materiais Genéticos	14 dias			28 dias			DIVMS(%)	
	GP (g)	CR (g)	CA (g)	GP (g)	CR (g)	CA (g)		
BR 106 (Milho)	277,23 a	444,19 bc	1,61 f	732,92 b	1730,76 a	2,36 de	93,37ab	
CMSXS 359 <sup>2</sup>	275,84 a	471,96 abc	1,70 ef	782,10ab	1733,04 a	2,25 e	92,31 bc	
BR 300 <sup>2</sup>	270,02 a	464,43 abc	1,72 ef	791,62a	1751,82 a	2,26 e	94,03a	
CMSXS 356 <sup>2</sup>	268,56 a	503,02 a	1,88 de	753,64ab	1846,45 a	2,46 cde	92,22 c	
BR 304 <sup>2</sup>	257,59 ab	500,22 a	1,95 cd	758,49ab	1869,62 a	2,47 cde	91,04 c	
AG 3001	241,37 bc	475,08 ab	1,97 cd	669,25 c	1839,85 a	2,75 cd	83,64 d	
CMSXS 376	237,03 с	489,59 a	2,08 cd	666,44 c	1716,87 a	2,58 cde	79,33 e	
CONTIGRÃO 111	226,32 c	491,63 a	2,18 bc	606,92 d	1683,91 a	2,78 c	84,13 d	
A 9902	204,54 d	480,45 ab	2,36 b	534,09 e	1695,34 a	3,21 b	84,57 d	
BR 600	202,34 d	427,48 c	2,12 bcd	496,10 ef	1619,72 b	3,28 b	79,90 e	
CMSXS 375	188,38 d	504,64 a	2,68a	457,76 f	1701,40 a	3,71 a	79,86 e	

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Médias seguidas de mesma letra na linha vertical não diferem pelo teste de DUNCAN a 5% de probabilidade.

A conversão alimentar foi melhor para os híbridos de sorgo sem tanino, como CMSXS 359 e BR 300 (Tabela 5). Uma vez que as diferenças observadas no consumo de ração não foram devido à presença de tanino, esse resultado pode ser explicado pelo maior ganho de peso das aves alimentadas com ração contendo sorgo sem tanino, que apresentaram valores menores que 2,0, considerando-se a avaliação aos 14 dias. Observou-se um aumento da conversão alimentar aos 28 dias para todas as aves, que apresentaram valores maiores que 2,0, isso porque houve um aumento considerável no ganho de peso, mas um consumo de ração ainda maior. Nota-se que os híbridos BR 600, A 9902 e CMSXS 375, que possuem tanino, apresentaram valores considerados altos, acima de 3,0 para a conversão alimentar. Esses resultados podem ser explicados pelo menor ganho de peso das aves alimentadas com rações contendo estes materiais.

A digestibilidade "in vitro" da matéria seca pode ser observada na Tabela 5. Nota-se que os híbridos de sorgo sem tanino apresentaram valores acima de 90%, valores comparáveis ao milho. Por outro lado, os materiais genéticos com tanino apresentaram valores menores que 85%. Segundo Schaffert, Lechtenber e Whykerd (1974), a diferença entre a digestibilidade do sorgo com tanino e sem tanino se deve à formação do complexo tanino-proteína.

As correlações entre os teores de tanino determinados pelos diferentes métodos foram altas. Os dados obtidos pelo método Azul da Prússia apresentaram maior correlação com os resultados observados, quando se utilizou o método Vanilina/HCl (r = 0,96), e menor

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Sorgo sem tanino no grão.

correlação com os valores observados, quando se utilizou o método da Proantocianidina (r=0,92). Esse valor foi semelhante quando se comparou os teores de tanino obtidos pelo método Vanilina/HCl e Proantocianidina (r=0,93). Esses resultados mostraram que os materiais genéticos avaliados neste estudo foram discriminados de forma semelhante pelos três métodos.

As correlações entre os teores de tanino analisados pelos diferentes métodos e os dados obtidos durante a condução do experimento com aves, são apresentados na Tabela 6. Nota-se que as correlações entre os teores de tanino e o ganho de peso das aves foram altas e negativas, sendo que essa associação foi maior aos 28 dias. Percebe-se, também, que o teor de tanino determinado pelos métodos Azul da Prússia e Vanilina/HCl apresentaram maiores correlações com o ganho de peso das aves aos 28 dias (r = -0,89 e r = -0,90, respectivamente), do que o teor de tanino determinado pelo método da Proantocianidina (r = -0,80).

Observa-se, na Tabela 6, que as correlações entre os teores de tanino e o consumo de ração aos 14 e 28 dias foram muito baixas, mostrando que o consumo de ração e o teor de tanino no grão, obtido pelos diferentes métodos, não estão associados.

A Tabela 6 mostra também que as correlações entre os teores de tanino obtidos pelos três métodos e a conversão alimentar foram positivas e relativamente altas. Esse resultado se deve às diferenças observadas no ganho de peso das aves, uma vez que não houve diferenças significativas no consumo de ração quando se utilizaram-se híbridos de sorgo com diferentes teores de tanino nas rações. De forma semelhante ao ganho de peso, as correlações entre a conversão alimentar e os teores de tanino obtidos pelos métodos Azul da Prússia

e Vanilina/HCl foram maiores que a correlação verificada quando se utilizou o método da Proantocianidina.

As correlações entre os teores de tanino determinados pelos três métodos e a digestibilidade "in vitro" da matéria seca foram negativas e altas (Tabela 5). Harris e Burns (1970) obtiveram resultado semelhante (r = -0,90) entre o teor de tanino determinado pelo método Vanilina/HCl e a digestibilidade. Como se observa, os teores de tanino obtidos pelo método Azul da Prússia apresentaram correlação um pouco maior com a digestibilidade do que os outros dois métodos.

Observando os resultados apresentados na Tabela 6, pode-se dizer que o teor de tanino determinado pelo método Azul da Prússia, apresentou, em geral, uma melhor correlação com a digestibilidade e também com os dados obtidos durante a condução do experimento com aves. Segundo Hagerman e Butler (1989), o método Azul da Prússia é menos susceptível à interferência de proteínas. Entretanto, este método não discrimina compostos fenólicos que são taninos e aqueles que não são taninos ou entre fenóis e outros materiais facilmente oxidáveis como o ácido ascórbico. Contudo, este método é rapido, permitindo analisar grande quantidade de amostras em pouco tempo, utilizando reagentes que podem ser encontrados com relativa facilidade no comércio a um baixo custo, como cloreto férrico e ferrocianeto de potássio, para a determinação da presença de taninos e ácido tânico, que podem ser utilizados satisfatoriamente como padrões. Dessa forma, este método seria o mais recomendado, embora os dois outros métodos, Vanilina/HCl e Proantocianidina, também podem ser utilizados com sucesso para determinar a presença de taninos em sorgo.

**TABELA 6** - Correlações entre o teor de tanino em sorgo determinado pelos métodos Azul da Prússia (AP), Vanilina/HCl (VA), Proantocianidina (PRO) e o ganho de peso (GP), consumo de ração (CR), conversão alimentar (CA), aos 14 e 28 dias e a digestibilidade "in vitro" da matéria seca (DIVMS). Lavras, MG. 1994.

Métodos	14 dias			28 dias			DIVMS
	GP	CR	CA	GP	CR	CA	
AP	-0,86	-0,02	0,70	-0,89	-0,11	0,66	-094
VA	-0,84	-0,12	0,64	-0,90	-0,21	0,60	-0,89
PRO	-0,75	-0,10	0,55	-0,80	-0,16	0,52	-0,91

#### **CONCLUSÕES**

Dentre os métodos avaliados neste estudo, o método Azul da Prússia é o melhor para detectar a presença de compostos fenólicos em sorgo.

A presença de tanino no sorgo reduziu o ganho de peso das aves e a digestibilidade "in vitro" da matéria seca, aumentando a conversão alimentar.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BANDA-NYIRENDA, D.B.G.; VOHRA, P.; INGEBRETSON, K.H. Nutritional evaluation of some varieties of sorghum [Sorghum bicolor (L.) Moench]. Cereal Chemistry, St. Paul, v. 64, n. 6, p. 413-417, Nov./ Dec. 1987.
- BAUMGARDT, B.R.; TAYLOR, M.W.; CASON, J.L. Evaluation of forages in the laboratory. II. Simplified rumen procedure for obtaining repeatable estimates of forage nutritive value. **Journal of Dairy Science**, Illinois, v. 45, n. 1, p. 62-68, 1962.
- BURNS, R.E. Method for estimation of tannin in grain sorghum. **Agronomy Journal**, Madison, v.63, p. 511-512, May/June, 1971.
- BUTLER, L.G. New perspective on the antinutritional effects of tannins. In: KINSELLA, J.E.: SOUCIE, B. Foods Products. Champaign: American Oil Chemistry Society, 1989a.
- BUTLER, L.G. Sorghum polyphenols. Toxicants of plant origin, Boca Raton, v. 4, p. 95-121, 1989b.
- EARP, C.F.; AKINGBALA, J.O.; RING, S.H.; ROONEY, L.W. Evaluation of several methods to determine tannins-in sorghum with varying kernel characteristics. **Cereal Chemistry**, St. Paul, v. 53, p. 234-238, May/June 1981.
- ELKIN, R. G.; ROGLER, J.C.; SULLIVAN, T.W. Differential response of ducks and chicks to dietary sorghum tannins. **Journal of the Science of Food Agriculture**, London, v. 57, p. 543-553, 1991.
- GUALTIERI, M.; RAPACCINI, S. Sorghum grain in poultry feeding. **World's Poultry Science Journal**, Huntingdon, v. 46, p. 246-254, Nov. 1990.
- HAGERMAN, A.E.; BUTLER, L.G. The specificity of

- proantocyanidin-protein interactions. **The Journal of Biological Chemistry,** Baltimore, v. 256, n. 9, p. 4494-4497, 1981.
- HAGERMAN, A. E.; BUTLER, L.G. Choosing apropriate methods and standards for assaying tannin. **Journal of Chemical Ecology**, New York, v. 15, n. 6, p. 1795-1810, 1989.
- HARRIS, H.B.; BURNS, R.E. Influence of tannin content on preharvest seed germination in sorghum. Agronomy Journal, Madison, v. 62, p. 835-836, Nov./Dec. 1970.
- HARRIS, H.B.; BURNS, R.E. Relationship between tannin content of sorghum grain and preharvest seed molding. **Agronomy Journal**, Madison, v. 65, p. 957-959, Nov/Dec. 1973.
- HARRIS, H.B.; CUMMINS, D. G.; BURNS, R.E. Tannin content and digestibility of sorghum grain as influenced by bagging. **Agronomy Journal**, Madison, v. 62, p.633-655, Sept./Oct. 1970.
- HOSENEY, R.C.; VARRIANO-MARSTON, E.; DENDY, D.A.V. Sorghum and millets. Advances in Cereal Science and Technology, St. Paul, v. 4, p. 71-144, 1981.
- MAKKAR, H. P. S. Protein precipitation methods for quantitation of tannins: A review. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 37, p. 1197-1202, 1989.
- MAXON, E.D.; ROONEY, L.W. Evaluation of methods for tannin analysis in sorghum grain. Cereal Chemistry, Minnessota, v.49, n.6, p. 719-729, Nov. / Dec. 1972.
- MONTGOMERY, C.R.; NELSON, B.D.; JOOST, R.; MASON, L.F. Tannin concentration and quality changes in soghum as affected by maturity and sorghum type. **Crop Science**, Madison, v. 26, p.372-375, mar. / apr. 1986.
- PRICE, M.L.; BUTLER, L.G. Rapid visual estimation and spectrophotometric determination of tannin content of sorghum grain. **Journal Agriculture** Food Chemistry, Washington, v. 25, n. 6, p. 1268-1273, 1977.

- PRICE, M. L.; SCOYOC, A.V.; BUTLER, L.G. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. **Journal Agriculture Food Chemistry**, Washington, v. 26, n. 5, p. 1214-1218, 1978.
- QUEIROZ, A.C.; ROSTAGNO, H.S.; SILVA, M.A.; FONSECA, J.B. Sorgo com diferentes conteúdos de tanino como substitutos do milho para aves. **Revista** Ceres, Viçosa, v.25, n.139, p.234-241, 1978.
- RODRIGUES, W.A.; PAIVA, E.; SANTOS, F.G.; RODRIGUES, J.A.S. Variabilidade para teor de tanino em sorgo (*Sorghum bicolor* L.) e sua associação com a resistência a pássaros. **Ciência e Prática**, Lavras, v. 16, n. 1, p. 74-77, jan./mar. 1992.
- ROSTAGNO, H.S.; FEATHERSTON, W.R.; ROGLER, J.C. Studies on the nutritional value of sorghum grains with varying tannin contents for chicks. 2. Amino acid digestibility studies. **Poultry Science**, Texas, v.52, p. 772-778, 1973a.

- ROSTAGNO, H.S.; FEATHERSTON, W.R.; ROGLER, J.C. Studies on the nutritional value of sorghum grains with varying tannin contents for chicks. 1. Growt studies. **Poultry Science**, Texas, v.52, p. 765-772, 1973b.
- ROSTAGNO, H.S.; SILVA, D.J.; COSTA, P.M.A.; FONSECA, J.B.; SOARES, P.R.; PEREIRA, J.A.A.; SILVA, M.A. Composição de alimentos e exigências nutricionais de aves e suínos (tabelas brasileiras). Viçosa: UFV, 1992. 59p.
- SCHAFFERT, R.E.; LECHTENBERG, V.L.; WHYKERD, C.L. Effect of tannin on "in vitro" dry matter and protein disappearance in sorghum grain. Crop Science, Madison, v. 14, p. 640-643, Sept./Oct. 1974.
- TILLEY, J.M.A.; TERRY, R.A. A two-stage technique for the "in vitro" digestion of forage crops. **Journal** of the British Grassland and Society, Bershire, v. 18, n. 2, p. 104-111, 1963.