

CONTENIDO DE TANINOS Y DIGESTIBILIDAD *in vitro* DE ALGUNOS FORRAJES TROPICALES

Silvia Valerio Chaves ¹



Palabras Claves : Taninos, digestibilidad *in vitro* de la materia seca, leguminosas arbóreas, análisis de fenoles, valor nutritivo.

RESUMEN

Se evaluó el efecto que pueden tener los métodos analíticos de secado de la muestra sobre los estimados de taninos en forrajes tropicales, así como la relación de la concentración de taninos presente en un forraje con la digestibilidad *in vitro* de los mismos. El estudio se hizo en el Laboratorio de Nutrición Animal del Área de Ganadería Tropical, del Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Las muestras utilizadas consistieron en hojas de 20 especies forrajeras (19 de ellas leguminosas), tanto arbóreas como herbáceas, de las cuales se conocía la DIVMS. A estas muestras se les analizó el contenido de taninos utilizando 4 métodos diferentes (Folin-Denis, Determinación gravimétrica con iterbio, Butanol en medio ácido y Vanilina en medio ácido), evaluando para cada método el efecto del tipo de secado sobre los estimados de taninos (secado en horno a 60° C y liofilizado: extracción de humedad al vacío a baja temperatura). Las mejores correlaciones entre los resultados obtenidos para cada uno de los métodos se dieron entre las siguientes pruebas: Folin-Denis e Iterbio, Folin-Denis y n-Butanol, n-Butanol y Vanilina. La mejor correlación obtenida entre DIVMS y contenido de taninos, cuando se consideraron las 20 especies independientemente del secado, se dio entre ambas variables para el método de Folin-Denis ($r = -0.82$) y en segundo lugar, para el método de Iterbio ($r = -0.77$). La mejor correlación entre DIVMS y taninos para especies herbáceas se dio en los métodos de Folin-Denis, Iterbio y Butanol. Para especies arbóreas fue Folin-Denis.

Tannin Content and *in vitro* Digestibility of some Tropical Fodders

ABSTRACT

The effect of different analytical and drying methods on tannin content of some tropical fodders, and the relationship between tannin concentration and *in vitro* dry matter digestibility (IVDMD) were evaluated. The experiment was carried out at CATIE's Animal Nutrition Laboratory, Turrialba, Costa Rica. The samples used consisted of leaves of twenty fodder species, 19 of which were leguminous, of known IVDMD. Tannin contents were analyzed by four methods (Folin-Denis (FD), gravimetric assay using Ytterbium (YB), butanol (BUT)-HCl assay and Vanillin (VAN)-HCl assay), considering the effect of sample drying (freeze-dried and oven-dried), for each method. Best correlations between the results for each method were given as follow: FD-YB, FD-BUT, BUT-VAN. FD and YB presented the best correlation ($r = -0.82$ and $r = -0.77$), between IVDMD and tannin content when the 20 species were considered (independently of drying method). Best correlation between IVDMD and tannin content for all herbaceous species was given with the methods of FD, YB and BUT; with FD for tree species.

Existen una serie de compuestos producto del metabolismo no esencial de las plantas que al ser consumidos se relacionan con problemas tales como la toxicidad potencial de algunas plantas forrajeras, deficiencias inducidas y efectos adversos sobre la respuesta animal. Los taninos y compuestos fenólicos relacionados representan algunos de estos compuestos secundarios. Aparentemente, su función principal en la planta es la de evitar la depredación por herbívoros en general. Algunos rumiantes han desarrollado mecanismos de desintoxicación para estos compuestos a partir de la coevolución que pudo haber existido entre estos animales y plantas con alta concentración de taninos (Minson y Hegarty, 1984).

La ocurrencia de taninos en plantas forrajeras tropicales es de gran interés debido a que estas sustancias pueden afectar el rendimiento animal. La presencia de taninos ha sido asociada con el control del timpanismo en rumiantes (Sarkar *et al.*, 1976), mejoras en la utilización de la proteína por animal, así como una reducción en la palatabilidad (apetecibilidad y en la digestibilidad de algunos forrajes).

Tomando en cuenta estas consideraciones, el estudio fue conducido para determinar la posible relación que existe entre la concentración de taninos presente en forrajes tropicales con la digestibilidad *in vitro* de los mismos.

¹ M.Sc. Programa de Postgrado, CATIE, Turrialba. Profesora Universidad de San José, Costa Rica. Apdo. Postal 665-2050, San Pedro, Costa Rica.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron como muestras hojas de 20 diferentes especies forrajeras, 19 de ellas leguminosas, tanto arbóreas como herbáceas, de las cuales se conocía la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), correspondiente.

Todas las especies fueron colectadas en Costa Rica (Guápiles, Atenas y Turrialba). Los cuadros 1 y 2 muestran los sitios de colecta de las muestras, hábito de crecimiento y respectiva DIVMS.

Las muestras se colocaron en bolsas de plástico oscuras cerradas y se transportaron en cajas térmicas con hielo hasta el Laboratorio de Nutrición Animal del CATIE, donde cada una se dividió en dos partes iguales (submuestras). Cada submuestra siguió una diferente forma de secado que se describe a continuación:

1. Secado en una estufa con flujo de aire forzado a 60° C, hasta alcanzar peso constante (aproximadamente 48 h.).

2. Liofilizado (también se conoce como "freeze-dried" o extracción de humedad al vacío a -20° C), entre 4 a 8 días, hasta dejarla deshidratada.

Se procedió a moler cada submuestra a 1mm en un molino de martillo, el mismo día o el día anterior al análisis de laboratorio. Se aplicaron las siguientes metodologías para el análisis cuantitativo de taninos:

Cuadro 1. Clasificación de las especies arbóreas con base en los resultados de digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) según prueba de Duncan

Especie	Edad de rebrote en meses	Sitio de muestreo	% DIVMS 1
<i>Difiza sp.</i>	3	Guápiles	59.27a
<i>Gliricidia sepium</i>	3	Guápiles	57.83a
<i>Erythrina poeppigiana</i>	3	Guápiles	51.78b
<i>E. fusca</i>	3	Guápiles	49.52b
<i>Guazuma ulmifolia</i>	3	Guápiles	44.77c
<i>Albizia falcatarea</i>	3	Guápiles	42.35d
<i>Inga sp.</i>	ND	Turrialba	23.23d
<i>Acacia angustissima</i>	3	Guápiles	23.18d
<i>Albizia sp.</i>	3	Guápiles	22.97d
<i>Calliandra calothyrsus</i>	3	Guápiles	20.68d

Letras diferentes en las columnas implican diferencia significativa (P<0.05)
1 Promedio de 6 observaciones

Cuadro 2. Clasificación de las especies arbóreas con base en los resultados de digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), según la prueba de Duncan

Especie	Edad de rebrote en meses	Sitio de muestreo	% DIVMS 1
<i>Difiza sp.</i>	3	Guápiles	59.27a
<i>Gliricidia sepium</i>	3	Guápiles	57.83a
<i>Erythrina poeppigiana</i>	3	Guápiles	51.78b
<i>E. fusca</i>	3	Guápiles	49.52b
<i>Guazuma ulmifolia</i>	3	Guápiles	44.77c
<i>Albizia falcatarea</i>	3	Guápiles	42.35d
<i>Inga sp.</i>	ND	Turrialba	23.23d
<i>Acacia angustissima</i>	3	Guápiles	23.18d
<i>Albizia sp.</i>	3	Guápiles	22.97d
<i>Calliandra calothyrsus</i>	3	Guápiles	20.68d

Letras diferentes en las columnas implican diferencia significativa (P<0.05)
1 Promedio de 6 observaciones

1. Método de Folin Dennis.

2. Determinación gravimétrica por medio de precipitación con Iterbio (Reed *et al.*, 1985).

3. Método de n-butanol en medio ácido (Harborne, 1984).

4. Método de Vanilina (Vainilina) en medio ácido.

Cada una de las metodologías se consideró independientemente, evaluándose dentro de ellas los dos métodos de secado. Las metodologías se adaptaron a las condiciones del laboratorio del CATIE (Valerio, 1990).

La digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), se realizó mediante la técnica de Tilley y Terry (1963). Esta determinación se hizo sobre todas las especies (20), considerando 3 repeticiones por muestra para los 2 métodos de secado.

Las variables de respuesta fueron la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y la concentración de taninos (totales o condensados, según la metodología utilizada), medida como porcentaje de la materia seca de la hoja o como unidades de absorbancia por gramo de muestra (Abs_{550}/g^{-1}), a saber:

1. Vainilina en medio ácido: % taninos como catequina.

2. n-Butanol en medio ácido: Abs/gM.
3. Folin-Denis: % taninos como ácido tánico.
4. Iterbio: % fenoles solubles totales.

Se efectuó un análisis de regresión de la concentración de taninos sobre la DIVMS. Se utilizó el procedimiento de Modelos Lineales Generalizados (GLM), para el análisis de varianza, las correlaciones y regresiones entre las metodologías y entre las variables planteadas.

RESULTADOS Y DISCUSION

Para poder visualizar de una forma más sencilla la posible relación de los estimados de la concentración de taninos obtenidos con cada una de las metodologías y la DIVMS del forraje analizado, se trató de clasificar a las especies en diferentes categorías.

Según la concentración de taninos presentes en ellas, se observó que *Inga* sp. tuvo el mayor contenido ($P < 0.01$), de acuerdo con las pruebas de Vainilina (34,4%) y n-Butanol (615 Abs/g). En ambos métodos fue seguida por *D. ovalifolium* (26 % y 549 Abs/g), como tipo de planta herbácea ($P < 0.05$). Tanto los resultados obtenidos con la prueba de Folin-Denis como con los de Iterbio, sugieren que *C. calothyrsus* tuvo el mayor contenido de fenoles totales (11,15% y 64,88%, respectivamente).

En general, se pudo notar que *F. macrophylla*, *C. calothyrsus*, *Inga* sp., *D. ovalifolium*, *C. gyroides* y *A. angustissima*, se consideran en las clases de mayor contenido de taninos. Cuando estos datos se compararon con los de la DIVMS, se encontró que las especies de menos digestibilidad fueron *F. macrophylla*, *C. calothyrsus*, *Inga* sp., con lo que se mostró así el efecto negativo que sobre la DIVMS tienen las altas concentraciones de taninos.

Para ilustrar las tendencias que se observaron en todas las metodologías, se presentan en los cuadros 3 y 4 los estimados de taninos por la prueba de Folin-Denis, debido a que las mejores correlaciones entre los resultados obtenidos para cada uno de los métodos se dan entre las siguientes pruebas: Folin-Denis e Iterbio, Folin-Denis y n-Butanol ($P < 0,01$). Según el tipo de material analizado, se observó que dentro de las arbóreas fueron *E. poeppigiana*, *Difiza* sp., *E. fusca* y *G. sepium* las que presentaron el menor contenido de taninos y a su vez estas mismas especies tuvieron la mayor DIVMS (Cuadro 1). Las herbáceas que muestran mayor contenido de taninos, coincidiendo en todas las metodologías son *D. ovalifolium*, *F. macrophylla* y *C. gyroides*. Para *C.*

floribunda se observa un bajo contenido de taninos así como una baja digestibilidad (Cuadro 2). En todos los casos se obtuvieron correlaciones entre método de análisis de taninos y DIVMS negativas y altamente significativas ($P < 0,01$) (Cuadro 5). La mejor correlación obtenida cuando se consideraron las 20 especies sin tomar en cuenta el secado, se dio entre ambas variables para el método de Folin-Denis ($r = -0.82$), seguido por el método de Iterbio ($r = -0.77$). Se pudo observar que una correlación alta se obtuvo para Folin-Denis, cuando se consideró el tipo de secado, dado que cuando la concentración de taninos era alta tanto para secado al horno como para liofilizado, la DIVMS era baja ($r = -0.85$ y $r = -0.80$, respectivamente). Para la prueba de Iterbio se correlacionó mejor la DIVMS con el contenido de taninos cuando se liofilizaron las muestras ($r = -0.80$). Se utilizó un modelo de regresión lineal simple ($Y = mx + b$), tomando la DIVMS como

Cuadro 3. Clasificación de las especies arbóreas con base en los contenidos de taninos obtenidos por el método de Folin-Denis, según la prueba de Duncan.

Especie	% taninos como ácido tánico
<i>Flemingia macrophylla</i>	6.5a
<i>Desmodium ovalifolium</i>	6.4ab
<i>Codariocalix gyroides</i>	5.9b
<i>Stylosanthes guianensis</i>	3.4c
<i>S. capitata</i>	3.0c
<i>Arachis pintoi</i>	2.4d
<i>Centrosema macrocarpum</i>	2.3de
<i>C. brasilianum</i>	1.9ef
<i>C. pubescens</i>	1.7ef
<i>Cratylia floribunda</i>	1.6f

Letras diferentes en las columnas implican diferencia significativa ($P < 0.05$)

Cuadro 4. Clasificación de las especies herbáceas con base en los contenidos de taninos obtenidos por el método de Folin-Denis (según prueba de Duncan)

Especie	% taninos como ácido tánico
<i>Flemingia macrophylla</i>	6.5a
<i>Desmodium ovalifolium</i>	6.4ab
<i>Codariocalix gyroides</i>	5.9b
<i>Stylosanthes guianensis</i>	3.4c
<i>S. capitata</i>	3.0c
<i>Arachis pintoi</i>	2.4d
<i>Centrosema macrocarpum</i>	2.3de
<i>C. brasilianum</i>	1.9ef
<i>C. pubescens</i>	1.7ef
<i>Cratylia floribunda</i>	1.6f

Letras diferentes en las columnas implican diferencia significativa ($P < 0.05$)

BIBLIOGRAFIA

variable dependiente y los estimados de concentración de taninos obtenidos para cada metodología, como la variable independiente. Las ecuaciones de regresión lineal que mejor lograron predecir la DIVMS de las diferentes especies arbóreas con base en el contenido de taninos, se dieron para el método de Folin-Denis, con un $r^2=0.82$, cuando las muestras fueron liofilizadas y con $r^2=0.78$, cuando se secaron en el horno a 60° C. Los modelos que mejor ajustaron se dieron para la prueba de Folin-Denis. Esto puede estar relacionado con la alta cantidad de fenoles que los forrajes arbóreas contienen y a que las diferencias en cuanto a DIVMS para estas especies, se deben principalmente, al contenido total de fenoles más que a un determinado tipo de tanino.

Cuadro 5. Coeficientes de correlación lineal entre digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS) y concentración de taninos para los diferentes métodos de análisis.

Método	Tanino vs DIVMS	Prob
FD	-0,82	**
IT	-0,77	**
BUT	-0,73	**
VAN	-0,47	**

** P < 0,01
n = 117

CONCLUSIONES

La mejor correlación obtenida entre DIVMS y contenido de taninos, cuando se consideraron las 20 especies independientemente del secado, se dio entre ambas variables por el método de Folin-Denis, y en segundo lugar, por el método de Iterbio.

Cuando se consideró el hábito de crecimiento de las muestras, la mejor correlación entre DIVMS y taninos para especies herbáceas, se obtuvo con los métodos de Folin-Denis, Iterbio y Butanol. Al considerar las especies arbóreas, la mejor correlación que se encontró fue con Folin-Denis.

Según lo discutido anteriormente, se puede inferir la existencia de una relación inversa entre el contenido de taninos y la DIVMS, en otras palabras, las especies que presentaron mayor contenido de taninos mostraron una DIVMS menor.

BURNS, J.C. 1978. Symposium: Forage quality and animal performance (antiquality factors as related to forage quality). *Journal of Dairy Science* (EE UU):61:1809-1820.

HARBORNE, J.B. 1984. *Phytochemical methods*. 2 ed. N.Y., EE UU, Chapman and Hall. p 37-99.

MINSON, D.J.; HEGARTY, M.P. 1984. Toxic factors in tropical legumes. *In Forage Legumes for Energy-Efficient Animal Production* (1984, Palmerston North, New Zealand). Proceedings of a Trilateral Workshop. Ed. by R. Barnes; P.R. Ball; R.W. Broughman; G.C. Marten; D.J. Minson. s.l., USA Agricultural Research Service. p.246-250.

PRESTON, T.R.; LENG, R.A. 1987. Matching ruminant production systems with available resources in the tropics and subtropics. Armidale, Penambul Books. 245p.

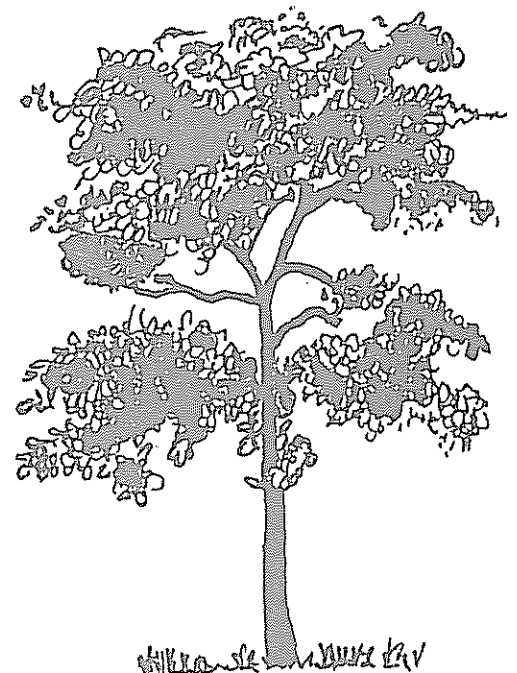
PRICE, M.L.; SCOYOC, S.VAN; BUTLER, L.G. 1978. A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain. *Journal of the Agricultural and Food Chemistry* (EE UU) 26 (5):1214-1218.

REED, J.D.; HORVATH, P.J.; ALLEN, M.S.; SOEST, P.J.VAN 1985. Gravimetric determination of soluble phenolics including tannins from leaves by precipitation with trivalent ytterbium. *J. Sci. Fd. Agric.* (G.B.) (36):255-261.

SARKAR, S.K.; HORVATH, R.E.; GOPLEN, B.P. 1976. Condensed tannins in herbaceous legumes. *Crop Science* (EE UU) 16:543-546.

VALERIO, S. 1990. Efecto del secado y método de análisis sobre los estimados de taninos y la relación de estos con la digestibilidad *in vitro* de algunos forrajes tropicales. Tesis Mag. Sc., Turrialba, C. R., CATIE 94 p.

TILLEY, J. M. A.; TERRY, R. A. 1963. A two-stage technique for the *in vitro* digestion of forage crops. *Journal of the British Grassland Society* (G.B.) 18:104.



Erythrina poeppigiana (Walp.) Cook