

SECCIÓN III

TANINOS EN NUTRICIÓN DE RUMIANTES

Autores

**Ceballos Alejandro
Montoya Giovanni
Posada Sandra L.**

SECCIÓN III

LA MINORÍA EN MÉJICO DEBRI MAYER

1969

1969
1969
1969

Capítulo 7

CARACTERIZACIÓN DE LOS TANINOS EN LA NUTRICIÓN DE RUMIANTES

*Sandra L Posada, Zoot, Esp¹; Giovanni Montoya, Zoot; Esp²;
Alejandro Ceballos, MVZ, MSc³.*

Resumen

Los taninos son sustancias fenólicas solubles en agua, de estructura química y pesos moleculares variables, que se encuentran presentes en distintas concentraciones en algunas plantas, especialmente en las dicotiledóneas. Ellos representan uno de los medios que las plantas tienen para defenderse contra factores externos. Con base en sus propiedades químicas estas sustancias se dividen en taninos condensados e hidrolizables, siendo los primeros los más comunes en la naturaleza, y se presentan en forma extractable o ligada a la proteína y los carbohidratos de la pared celular. Los taninos tienen la propiedad de formar complejos insolubles con las proteínas nutricionales y con aquellas de origen endógeno, pero los formados con los condensados, a diferencia de los hidrolizables, son más estables y menos susceptibles a la hidrólisis en el rumen. La reactividad de los taninos con las proteínas está determinada por varios factores, entre los que se destaca el valor del pH. También se les atribuye capacidad de precipitar alcaloides, esteroides, saponinas y carbohidratos.

Los taninos tiene una actividad bactericida sobre la población ruminal y ejercen un efecto inhibitor sobre la actividad de las enzimas diges-

¹ Escuela de Producción Agropecuaria, Facultad de Ciencias Agrarias, Universidad de Antioquia, AA 1226, Medellín, Colombia, slposada@epm.net.co

² Schering Plough, Nutricionista Línea Veterinaria, giova1973@hotmail.com, Medellín, Colombia

³ Facultad de Ciencias Agropecuarias. Universidad de Caldas, ceballos_alejandro@hotmail.com, Manizales, Colombia

tivas y microbianas, lo que disminuye la digestibilidad de la materia orgánica, la fibra y la proteína. También se les atribuye una actividad bactericida sobre la población ruminal. Al adherirse a las membranas de las bacterias inducen cambios morfológicos y deficiencias nutricionales en ellas, especialmente en las gram positivas, en las que inhibe el crecimiento. Este capítulo pretende revisar la clasificación, la función, las propiedades químicas y las interrelaciones de los taninos con otras moléculas.

Palabras clave: *polifenoles, dicotiledóneas, complejos, compuestos secundarios*

Characterization of tannins as nutritional factors in ruminants.

Summary

Tannins are phenolic substances soluble in water, with variable chemical structure and molecular weights; they are present in different concentration in some plant tissues, especially in the dichotiledons and represent one of the ways that plants have to defend against external factors. Based on their chemicals properties, tannins are divided in condensed and hidrolizable, being the condensed form the most common in nature. Condensed tannins can be found in extractable form or bound to cell wall protein and carbohydrates. Tannins are able to form insoluble complexes with dietary and endogenous proteins; these complexes are more stable and less susceptible to rumen hidrolisis when formed with condensed than with hidrolizable tannins. Their reactivity with proteins is determined by several factors, pH being the most important one. They are also implicated on alkaloid, steroid, saponin and carbohydrate precipitation.

In relation to microbial and digestive enzymes, tannins exert an inhibitory effect, reducing organic matter, neutral detergent fiber and protein digestibility. On ruminal population, some tannins have bactericide activity, they can adhere to bacterial membranes, especially in the case of gram positive bacteria, inducing morphological changes, nutritional deficiencies and reducing their growth. In this paper we will review the classification, the function and the chemical properties of tannins and their relationship with other molecules.

Key words: *phenols, dichotiledons, complexes, secondary plant tissue components.*

Un gran número de árboles forrajeros y ramoneables, la mayoría leguminosos, están disponibles como recursos en la alimentación de los rumiantes y se caracterizan especialmente por el contenido de proteína cruda (12,5-20,7% en BS). Además de su favorable composición nutricional, estos árboles tienen otras propiedades positivas, entre las que se mencionan el incremento en el contenido nutricional del suelo, la protección contra la erosión y su factible utilización como combustible y materiales de construcción (14). Sin embargo, muchos de ellos tienen altos contenidos de componentes secundarios, particularmente compuestos fenólicos, los cuales pueden alcanzar hasta un 40% de la materia seca y tener un efecto negativo sobre el valor nutricional (14, 26, 33). Además de la lignina, los taninos son el mayor grupo de compuestos polifenólicos, (15). Una encuesta conducida por Bathe-Smith y Metcalf (1957), reseñada por Muller-Harvey y McAllan (1992) y citada por Carulla (1994), indicó que el 80% de las dicotiledóneas perennes leñosas y el 15% de la dicotiledóneas anuales y herbáceos contienen taninos (6).

Definición y estructura

Los taninos de las plantas son un grupo distintivo de polifenoles solubles en agua, de relativo alto peso molecular, los cuales—aparte de las reacciones fenólicas—tienen la propiedad de precipitar alcaloides, ácidos nucleicos, esteroides, saponinas, gelatinas, proteínas, minerales y carbohidratos. En general ellos están subdivididos en taninos hidrolizables y condensados sobre la base de su estructura y reactividad (Fig. 1) (13, 14, 18, 22, 25). Los taninos hidrolizables son de bajo peso molecular (500-3.000), más solubles en agua que los condensados y pueden ser desdoblados bajo condiciones enzimáticas o ácidas a monosacáridos (glucosa) y ácido gálico (galotaninos) o egálico (elagitaninos) (18, 25). El ácido tánico comercialmente disponible consiste principalmente de taninos hidrolizables (14).

Kummar y Vaithyanathan (1990), citados por Carulla (1994), sugieren que los taninos hidrolizables, al igual que los condensados, son comúnmente encontrados en los árboles forrajeros empleados en la alimentación animal (6); mientras que, Norton (1999) afirma que ellos son relativamente escasos en la naturaleza (18).

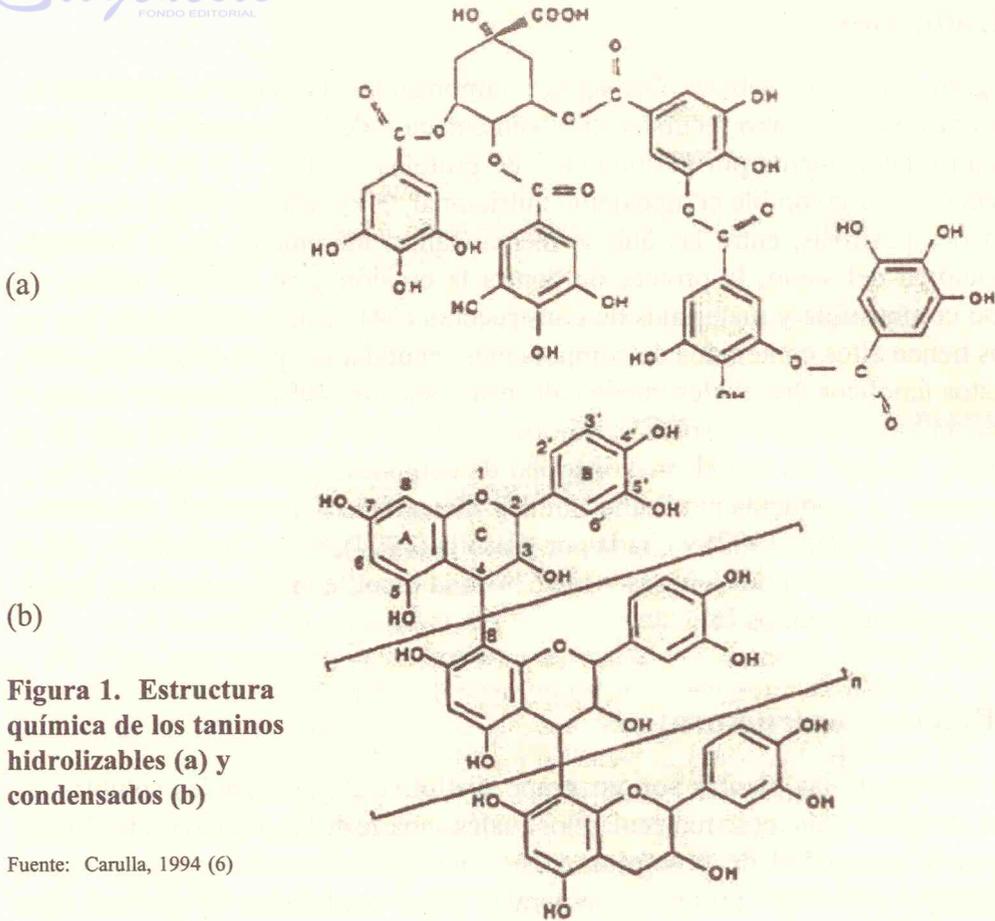


Figura 1. Estructura química de los taninos hidrolizables (a) y condensados (b)

Fuente: Carulla, 1994 (6)

Los taninos condensados no tienen carbohidratos y son polímeros compuestos de flavan 3-ol (catequinas), flavan-3,4-diol (leucoantocianidina) y sus derivados (14, 18). Tienen un peso molecular entre 1.900 y 28.000 (8, 11), son los más predominantes en la colección de germoplasma del CIAT (6), no son fáciles de hidrolizar, y por el contrario, tienden a polimerizarse en productos insolubles amorfos, especialmente en presencia de ácidos minerales. El desdoblamiento hidrolítico de los taninos condensados produce antocianidinas, razón por la cual son descritos como proantocianidinas o más comúnmente como poliflavonoides (18, 9). Las antocianidinas más comúnmente producidas son la cianidina y la delphinidina, las cuales se derivan de las proantocianidinas llamadas procianidina y prodelfinidina (25). El quebracho comercialmente disponible tiene un porcentaje alto de taninos condensados (9). Los taninos condensados pueden presentarse en forma libre – soluble o extractable- o ligada a la proteína o los carbohidratos de la pared celular; solamente la primera –la soluble- es la responsable de la depresión en la digestibilidad de la proteína y de la fibra (1, 27). Barahona, *et al.* (1996) afirman

que existen por lo menos tres tipos o fracciones de taninos condensados extractables (TCE) en las leguminosas, una fracción no reactiva ni con polietilén glicol (PEG) ni con proteína y, dos con diferente capacidad para reaccionar con dichas sustancias (1).

Cano, *et al.* (1994) evaluaron las leguminosas *Desmodium ovalifolium*, *Dioclea guianensis*, *Flemingia macrophylla*, *Phyllodium spp.* y *Tadehagi spp.*, encontrando que el 79% de los taninos en estas especies fueron extractables, mientras que el 14% estuvieron ligados con la proteína y el 7% lo estuvieron con la fibra. Estos resultados difieren de los obtenidos por Terrill, *et al* (1992), citado por Cano *et al* (5), quienes al trabajar con algunas leguminosas de climas templados encontraron que en promedio la fracción de los taninos extractables constituyó el 65% de los taninos condensados, mientras que los taninos ligados con la proteína y la fibra representaron el 32% y el 3%, respectivamente (5).

Trabajos citados por Barahona, *et al.* (1997), en donde se analizaron los taninos condensados de hojas jóvenes y maduras de leguminosas tropicales, mostraron que en todas ellas entre el 65% y el 90% de los taninos presentes estaban en forma soluble, mientras que solamente entre el 10% y el 35% se encontraban ligados a la pared celular (2).

Existen plantas donde todos los taninos son extractables (e.g. *Acacia boliviana*, *Senna velutinum*) y otras en donde todos son ligados (e.g. *Gliricidia sepium*) (2, 13). La distribución de ellos también varía de acuerdo con el estado de madurez de los materiales, como lo sustentan Lascano y Barahona (1997), ya que en hojas maduras de *Desmodium ovalifolium* CIAT 350 se ha encontrado que un 50% de los taninos son extractables y el otro 50% son ligados, en contraste con las hojas inmaduras, en las cuales hay más presencia de taninos extractables (67%) que de ligados (33%) (13).

Factores que causan variación en el contenido de taninos de las plantas

Los taninos están presentes en casi todas las plantas, pero son particularmente importantes en las dicotiledóneas y, de éstas, en las leguminosas. Su distribución al interior de ellas varía entre especies y en la célula vegetal se encuentran en las vacuolas citoplasmáticas o en la pared celular (14). La genética, la especie, el grado de madurez, la estación climática, la humedad, el estado de crecimiento, la luminosidad, el corte y la defoliación por herbívoros, son factores que influyen en el contenido de taninos. (14, 18, 24).

La fertilidad del suelo también ha sido identificada como un factor determinante de su concentración, y por ende de la respuesta animal (34). Corroborando el anterior argumento, Barry y Forss (1983) reportaron una concentración de taninos condensados de 8% a 11% (base seca) en *Lotus pedunculatus* creciendo en suelos ácidos sin aplicación de fertilizante, mientras que en condiciones de mejor calidad, señalaron valores de tan solo 2% a 3%. Los autores reportan que la aplicación de fósforo y azufre, a suelos ácidos, aumenta el contenido de nitrógeno de la plantas y disminuye la presencia de taninos condensados en las mismas, por lo que la relación taninos condensados: proteína se reduce (3).

Perdomo (1991), citado por Carulla (1994), demostró la falta de adaptación de especies como *Gliricidia sepium*, *Erythrina poeppigiana* y *Leucaena leucocephala* a suelos ácidos y con alta saturación de aluminio, logrando bajas producciones de materia seca a partir de los mismas, mientras que con otras leguminosas como *Flemingia macrophylla*, *Cratylia argentea* y *Calliandra grandiflora* obtuvo mejores rendimientos bajo estas condiciones. Lascano y Carulla (1992), reseñados por el mismo autor, indican que algunos árboles leguminosos adaptados a suelos ácidos tienen altos niveles de taninos (6). Schultze-Kraft y Benavides (1988), citados por Schmidt, *et al.* (1997) (29), señalaron que el contenido de taninos en una misma especie de planta, bajo idénticas condiciones ambientales, puede también variar entre accesiones, como fue reportado en *Desmodium ovalifolium* por Lascano y Barahona (1997) (13). Adicionalmente, la variación en los contenidos de taninos reportados puede ser causada por las diferentes técnicas analíticas usadas, los patrones de referencia para estas técnicas y por los métodos de preparación de los tejidos para el análisis (18).

Taninos en leguminosas y árboles forrajeros tropicales

Mientras que los taninos de algunos forrajes leguminosos templados, tales como *Medicago* spp., *Lotus* spp., *Lespedeza cuneata*, *Acacia aneura* y *Onobrychis viciifolia*, han sido estudiados en detalle, muy poco es conocido sobre los forrajes leguminosos tropicales (18, 22). Sin embargo, se sabe que con la excepción de dos géneros (*Clitoria*, *Mimosa*), el contenido de taninos de los forrajes leguminosos es bajo cuando se compara con el encontrado en las hojas de los árboles y, es menor que el considerado inhibitorio en las especies leguminosas templadas (18). Se encuentra una variación en los contenidos de fenoles totales y taninos condensados en algunos forrajes y árboles leguminosos tropicales (Tablas 1 y 2) (18).

Tabla 1. Fenoles totales y contenido de taninos en algunos forrajes leguminosos tropicales (g/Kg materia seca)

Especies	Fenoles totales	Taninos condensados ¹
Con taninos		
<i>Aeschynomene americana</i>	16	8
<i>Clitoria laurifolia</i>	84	20-60
<i>Desmodium heterophyllum</i>	34-39	17-26
<i>Desmodium intortum</i>	nm ³	32-34 ²
<i>Desmodium ovalifolium</i>	nm	83-194
<i>Indigofera spicata</i>	12-26	6-10
<i>Mimosa pigra</i>	90	80
<i>Peuraria phaseoloides</i>	9	3
<i>Vigna hosei</i>	7	4
Sin taninos		
<i>Calopogonium mucinoides</i>	5	nd
<i>Centrosema pubescens</i>	nm	nd
<i>Chamaecrista rotundifolia</i>	nm	nd
<i>Desmodium triflorus</i>	nd ⁴	nd

¹Taninos medidos por precipitación de pepsina usando ácido tánico como estándar.

²Taninos estimados con Butanol/HCl.

³nm= no medido

⁴nd= no detectado

Fuente: Norton, 1999 (18)

Tabla 2. Fenoles totales y contenido de taninos en algunos árboles leguminosos tropicales (g/Kg materia seca)

Especies	Fenoles totales	Taninos condensados		
		Precipitación pepsina	Vanilina-HCl	Butanol-HCl
Con taninos				
<i>Acacia aneura</i>	86	-	31-44	11-14
<i>Acacia angustissima</i>	161	-	59-66	nd ²
<i>Acacia auriculiformis</i>	80-130	11-83	-	-
<i>Acacia cyanophylla</i>	nm ¹	40-70	-	-

Continúa...

Tabla 2. Continuación

Acacia nilotica	nm	79-90	-	-
Acacia senegal	nm	4	-	-
Acacia seyal	nm	2-4	-	-
Acacia sieberiana	nm	37	-	-
Acacia tortilis	nm	40-61	-	-
Acacia villosa	120-130	6	-	-
Albizia chinensis	7-68	10-22	24-33	12-15
Albizia falcataria	50-60	22	-	-
Calliandra calothyrsus	30-90	40-90	79-111	15-21
Cadariocalyx gyroides	82-120	-	42-71	26-28
Flemingia macrophylla	34-118	130-190	155	-
Gliricidia sepium	24-46	0	0-30 ³	0-17 ³
Leucaena spp.	9-92	7-40	37-43	1-262
Prosopis juliflora	nm	-	-	-
Prosopis cineraria	nm	-	-	105
Prosopis tamarugo	nm	105	-	-
Ziziphus nummularia	nm	-	-	130

Sin taninos

Albizia lebbek	22-24	0	nd	nd
Enterolobium cyclocarpum	0-10	0	nd	nd
Samanea saman	16	0	nd	nd
Sesbania grandiflora	9	0	-	nd
Sesbania sesban	25-30	-	nd	-
Tipuana tipu	22-198	-	0-42	nd

¹nm= no medido.

²nd= no detectado.

³No se detectaron taninos en muestras secas

Fuente: Norton, 1999 (18)

Función de los taninos en las plantas

Los componentes secundarios de las plantas, y los taninos en particular, han sido considerados los medios que tienen para defenderse contra la invasión de microorganismos (hongos patógenos, virus y bacterias) y la destrucción por herbívoros (insectos y vertebrados) (14). Robbins, *et al.* (1987) demostraron que los taninos defendieron a las plantas contra el ataque de los herbívoros, por su habilidad para precipitar las enzimas digestivas y las proteínas del alimento, lo que finalmente provocó disminución en la disponibilidad de este nutriente (28).

Se sospecha que los taninos podrían funcionar como reguladores del crecimiento en las plantas. El incremento de ellos en las células periféricas y en condiciones

de alta luminosidad, sugiere un mecanismo protector contra el estrés causado por la luz del sol. También se sostiene la hipótesis de que los taninos tienen efectos antioxidantes y que gracias a su estructura helicoidal impiden el rompimiento celular en caso de deficiencias de agua (14).

Métodos de determinación

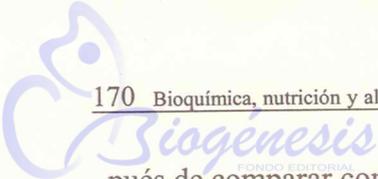
Como los taninos no tienen una estructura única hay numerosos métodos para determinarlos. Los más comúnmente probados y los tipos de taninos que pueden ser caracterizadas por cada uno de ellos son:

Determinación química de los taninos. Se basa en la habilidad de los taninos para formar complejos coloreados con iones metálicos y otras sustancias, las cuales pueden ser identificadas colorimétricamente.

- Determinación colorimétrica:
 - o Vainillina-HCl: Cuantifica taninos condensados (los monoméricos más que los poliméricos)
 - o Folin-Denis, Folin Ciocalteu: Ambos métodos cuantifican fenoles totales
 - o Azul de Prusia: Cuantifica fenoles totales
 - o (n)-Butanol HCl: Cuantifica taninos condensados solubles e insolubles, estos últimos por extracción de los residuos de FDN.
- Determinación gravimétrica:
 - o Precipitado de Iterbio: Cuantifica fenoles totales
- Otros métodos físico-químicos: Cromatografía contra corriente (corriente inversa), cromatografía líquida de alta resolución y espectrometría de masa.

Métodos de precipitación de proteína. Entre los varios métodos existentes para la precipitación de proteína están el Hemoanálisis y la Precipitación de la albúmina del suero bovino (14). Estos dos métodos se basan en la habilidad de los taninos para formar complejos con las proteínas. La ventaja de éstos ensayos, comparados con la determinación química, se apoya en el hecho de que solo los polifenoles y no sus formas monoméricas u otros fenoles son determinados.

Para evaluar y seleccionar leguminosas forrajeras tropicales con base en el contenido de taninos, es necesario emplear métodos de conservación de las muestras que alteren lo menos posible el nivel y la actividad biológica de éstos. Cano, *et al.* (1994) indicaron que la liofilización es el mejor método de conservación de las muestras para el análisis de taninos, conclusión a la que llegaron des-



pués de comparar con el secado al horno (60°C) y la conservación de hojas frescas y congeladas. Estos autores encontraron que en varias leguminosas secadas al horno hubo reducción de los taninos extractables y aumento de los ligados en comparación con las muestras liofilizadas (5).

Interacción de los taninos con macromoléculas y estructuras celulares

Polímeros sintéticos. Polímeros sintéticos tales como el PEG, la polivinilpirrolidona (PVP) y la polivinilpolipirrolidona insoluble en agua (PVPPP), pueden formar fuertes enlaces con los taninos, neutralizando parcial o completamente los efectos antinutricionales de éstos (22, 30). Barahona, *et al.* (1996) encontraron que el mayor efecto de la adición de PEG en *Flemingia macrophylla* y *Desmodium ovalifolium* se presentó sobre los taninos condensados extractables y no sobre los ligados (1).

Enzimas. La estructura proteica de las enzimas permite la formación de complejos con los polifenoles. Los taninos exhiben un efecto inhibitorio sobre la actividad de las enzimas, tales como proteasas, zimógenos, lipasa, alfa-amilasa, celulasa, beta-glucosidasa y ureasa (14, 18). La inhibición de la actividad celulolítica por los taninos puede explicarse por el descenso en la digestibilidad ruminal de la materia orgánica, la fibra en detergente neutro y la fibra en detergente ácido en ovejas que recibieron dietas con diferente concentración de taninos condensados (Pérez-Maldonado y Norton, 1996, citados por Norton, 1999) (18). Los taninos también inhiben la degradación de la proteína dietaria en el rumen disminuyendo las concentraciones de amonio, lo cual sugiere una inhibición de las enzimas proteolíticas a este nivel (19).

Nastis y Malechek (1988), trabajando con roble (*Quercus spp.*) (8,7% de taninos), observaron que la actividad *in vitro* de la pepsina se redujó, lo cual ocurrió con más intensidad en la medida en que dicha especie estuvo presente en mayor porcentaje que la alfalfa (*Medicago sativa*) (1% de taninos). Los mismos autores llegaron a la conclusión que los taninos de la hoja de roble madura fueron más efectivos en reducir la actividad de la enzima que los presentes en la hoja inmadura (17)

La cinética del acomplejamiento enzimático indica una inhibición no competitiva por taninos, es decir, el sustrato y los taninos se enlazan simultáneamente con la enzima. Como ambos, la enzima y el sustrato, pueden reaccionar conjuntamente con los taninos, se observa un efecto negativo en la actividad enzimática,



bien sea porque el sustrato llega a ser menos accesible o por la inhibición de la enzima en sí misma (14).

Zucker (1983), citado por Leinmüller, *et al.* (1991), afirmó que la precipitación de una enzima no tiene porque comprometer una pérdida de su actividad. Así, de un precipitado tanino-enzima, de 0% a 71% de la actividad pudo ser restaurada, dependiendo de los taninos y las enzimas usadas (14).

Waterman, *et al.* (1980), realizaron un trabajo en dos selvas lluviosas africanas (Cameroon y Uganda), observando que los taninos condensados estuvieron negativamente correlacionados con la digestibilidad *in vitro* de la materia seca (DIVMS), lo cual pudo deberse a la inactivación de las enzimas microbianas por parte de estos compuestos. Los autores sospechan que en la presencia de los taninos, las enzimas bacteriales son dañadas al principio de la incubación, pero que, con incrementos en el tiempo de incubación y con una buena disponibilidad de nutrientes a nivel ruminal, más enzimas son formadas y entonces la actividad digestiva puede ser restaurada (35). Silanikove, *et al.* (2001) indican que la interacción de los taninos con las enzimas digestivas, origina un postergamiento en el pasaje de fluido y material particulado a través del tracto gastrointestinal (30)

Células y estructuras celulares. Los taninos tienen la propiedad de adherir a membranas y se unen a la pared celular de bacterias y hongos. De esta forma y también por la inducción a deficiencias nutricionales, ellos son perjudiciales para la fermentación ruminal al inhibir el crecimiento microbiano (14).

Las bacterias gram positivas reaccionan más sensiblemente a los taninos que las bacterias gram negativas. El efecto antimicrobiano de los taninos puede ser debido al enlace de los taninos con la proteína contenida en la célula bacteriana, por el daño de los mecanismos de transporte (para glucosa, aminoácidos, amonio, etc.) y por la inhibición de las enzimas asociadas con la pared celular (14).

Es improbable que los polifenoles penetren la membrana celular de una célula bacteriana intacta, ya que solamente los compuestos de bajo peso molecular podrían hacerlo (14). Sin embargo, Smith (1974) señaló que los taninos tienen la capacidad de reaccionar con iones de calcio de la pared celular, lo cual causa un cambio en la permeabilidad de la misma y permite la penetración de estos compuestos. Lo anterior puede significar que los taninos inactivan las permeasas del periplasma involucradas en el transporte de aminoácidos y carbohidratos. El mismo autor señala que los grupos fenólicos de los taninos se pueden también

enlazar con proteínas y fosfolípidos de la membrana externa de la pared celular, lo cual posiblemente explique porque las bacterias gram negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella* y *Salmonella*), a diferencia de las gram positivas (*Micrococcus*, *Sarcina* y *Staphylococcus*), son relativamente más resistentes a la acción de estos compuestos (32)

Experimentos realizados por Singh y Arora (1980) mostraron una reducción de la síntesis de proteína microbial y de la incorporación de azufre, como un índice de la misma, en la medida en que se incrementó la proporción de taninos provenientes de harina de *Shorea robusta*. Mas allá de las indicaciones de una inhibición en la actividad microbial causada por los polifenoles, los autores no descartaron reducción en el contenido de RNA y DNA de la bacteria y, a su vez, menor consumo de fósforo por parte de ésta, lo que disminuye su tasa de fermentación. Igualmente señalaron que la reducción en la síntesis de proteína microbiana es menor cuando la celulosa es empleada como sustrato energético, ya que ella no suple rápidamente las necesidades de este nutriente para la multiplicación bacteriana (31).

Formación de enlaces con proteínas. Las formas de enlace discutidas son cuatro, puentes de hidrógeno, enlaces iónicos, enlaces covalentes e interacciones hidrofóbicas (14, 25). Los enlaces iónicos y los covalentes no son de significancia en los complejos naturales, mientras que los puentes de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas son las de mayor ocurrencia (7, 14). Con excepción de los enlaces covalentes tanino-proteína, los complejos son considerados reversibles (14).

Factores que determinan la afinidad de los taninos por las proteínas. La reactividad de los taninos con las proteínas está determinada, entre otros factores, por la concentración, la estructura y el peso molecular –o grado de polimerización– de los taninos, la configuración de las proteínas, el punto isoeléctrico de las mismas, la relación tanino:proteína y la compatibilidad de los sitios de unión (4, 14, 25). Sin embargo, el valor del pH tiene el mayor efecto sobre la formación de los complejos. Estudios realizados por Oh, *et al.* (1985) y Oh and Of. (1987), citados por Leinmüller, *et al.* (1991), han mostrado que la precipitación de las proteínas por los taninos es más alta en el punto isoeléctrico de la proteína en cuestión (14). Hagerman, *et al.* (1992) afirman que los taninos no precipitan proteínas a valores de pH por encima del pKa del grupo fenólico, el cual es de 9 (9).

La opinión que se tiene del pH y su influencia sobre la formación de complejos tanino-proteína en el tracto digestivo, es que los mismos tienen lugar en el rumen

(pH 5.5-7.2), volviendo las proteínas indigestibles por la población ruminal y, que solo llegan a ser solubles en el pH del abomaso (pH < 3.5) y del intestino delgado (pH > 8), liberando dichas proteínas para la digestión y absorción por parte del animal (14, 22). Sin embargo, las altas cantidades de taninos ligados a la proteína en las heces y la baja o negativa digestibilidad de la proteína en ovejas, testifica la presencia de complejos estables de los taninos con las proteínas nutricionales y aquellas de origen endógena (saliva, mucosa, enzimas digestivas) (14, 16).

La cantidad de complejos precipitados incrementa con aumento en el grado de polimerización de los taninos, pero hasta un determinado punto. Esto es sustentado por Salunkhe, *et al.* (1990), citados por Barahona, *et al.* (1996), al afirmar que los compuestos de bajo peso molecular forman enlaces cruzados con las proteínas, mientras que aquellos con alto peso molecular parecen ser ineficientes. A propósito, los mismos autores citan dos trabajos que confirman esta apreciación. El primero de ellos realizado por Oh y Holf (1979), quienes encontraron que la astringencia de los taninos de uva (*Vitis vinifera L.*) aumentó desde un mínimo, cuando el peso molecular era de 500, hasta un máximo cuando era de 2100, y que luego ella descendió a medida que el peso molecular fue superior. El segundo trabajo fue desarrollado por Jones *et al.* (1976), quienes reportaron que los taninos de *O. viciifolia*, de mayor peso molecular, fueron menos astringentes que los de *Lotus spp.*, de más bajo peso molecular (1)

También en concordancia con la anterior apreciación, Cano *et al.* (1994) desarrollaron un trabajo con leguminosas tropicales, en el que encontraron que la mayor actividad biológica –astringencia– se produjo a partir de especies que presentaron menor polimerización (menor número de unidades de monómero) de los taninos condensados (*Calliandra spp.*, *Dioclea guianensis* y *Tadehagi spp.*) ($r = -0.77$), con respecto a las de mayor valor en esta característica (*Flemingia macrophylla* y *Phyllodium spp.*) (5).

Para la formación del complejo tanino proteína se requiere que los taninos tengan un peso molecular mínimo de 350 daltons. En forrajes leguminosos el peso molecular ha sido determinado entre 2.000 y 4.000, aunque valores más altos (28.000) han sido determinados. También el peso molecular de las proteínas es importante, los polipéptidos con pesos por debajo de 20.000 tienen solamente una débil afinidad por los taninos (14).

Considerando la importancia que sobre la formación de complejos con las proteínas tiene el tamaño molecular de los polifenoles y el pH del medio de reacción,

Osborne y McNeill (2001) evaluaron la habilidad de los taninos condensados del género *Leucaena spp.* para ligar proteínas y, para tal efecto, cuatro genotipos fueron utilizados, *L. leucocephala*, *L. pallida*, *L. trichandra* y *L. collinsii*. Fue encontrado que los taninos condensados de mayor tamaño molecular, correspondientes a las accesiones de *L. pallida* y *L. trichandra*, precipitaron más proteína que los taninos condensados de menor tamaño. Con respecto al valor del pH de la solución, se observó que incrementos o disminuciones del mismo a partir de un valor de cinco (5), que fue aproximadamente el punto isoelectrico de la proteína, redujo la habilidad de los taninos condensados de todas las especies para precipitar la misma, siendo la reducción mayor a un pH de 2.5, que a uno de 7.5. También se encontró que la capacidad de los taninos condensados de precipitar proteína a un mismo valor de pH difiere entre especies. Así, a un pH de 5, los taninos condensados de *L. leucocephala* tuvieron aproximadamente el 50% de la capacidad presentada por los de *L. pallida* y *L. trichandra* (20).

Hagerman, *et al.* (1992) señalaron que las preparaciones purificadas de taninos condensados y de galotaninos con similar peso molecular, precipitan muy idénticas cantidades de proteína (9). En el caso de las proteínas, las que presentan estructura abierta y poco compacta, elevada presencia de aminoácidos hidrofóbicos y alto contenido de prolina, exhiben una más alta afinidad por los taninos que las proteínas globulares (14, 9).

A bajas concentraciones de proteína con respecto a los taninos, la capacidad de precipitación de las mismas se aumenta (14). Esto fue demostrado por Kumar y Singh (1984), quienes concluyeron que la inhibición de la proteólisis por efecto del ácido tánico, *in vitro*, dependió de la concentración de este último con respecto a la proteína. Una concentración del 50% de ácido tánico inhibió completamente la degradación de la proteína, mientras que una del 20% y del 30% la deprimieron de manera parcial y mucho más que una del 10% (12).

En un estudio de Pérez-Maldonado, *et al.* (1995) fue posible demostrar diferencias en la afinidad taninos- proteína, dependiendo del tipo de tanino y proteína considerados. Ellos observaron que independientemente del pH, la albúmina del suero bovino tuvo una afinidad constante por todos los taninos (ácido tánico y taninos condensados de *Desmodium intortum* y de *Lotus pedunculatus*), correspondiente a 2.6 g de proteína por cada gramo de ellos. Sin embargo, la proteína purificada de la hoja si presentó diferente afinidad con cada uno de los taninos utilizados y dependiendo del pH del medio; así, a pH 5.5 se precipitaron 3.48, 2.08 y 0.771 g de proteína por cada gramo de ácido tánico, de taninos condensados de *Desmodium intortum* y de taninos condensados de *Lotus*



pedunculatus, respectivamente. En este trabajo también se detectó que los taninos condensados de *Desmodium intortum* precipitaron más proteínas de la planta que los de *Lotus pedunculatus*. Como se sabe que diferencias estructurales en los taninos, específicamente en las subunidades de flavonoles, son correlacionadas con la capacidad para enlazar proteínas, los autores fraccionaron los taninos condensados de ambas especies, buscando dar respuesta a la diferencia presentada. Se reveló que las dos especies presentaban diferencias en la composición de proantocianidinas, así, para *Desmodium intortum* una relación de procianidina a prodelfinidina de 65: 23 fue detectada, mientras que para el *Lotus peduncularus* la relación correspondió a 37:63. Los anteriores resultados contrastaron con los reportados en la literatura, ya que los taninos condensados con mayor contenido de delfinidina deberían ser los que más eficientemente enlacen las proteínas de la planta (22)

Otro factor que incrementa la formación de complejos insolubles entre la proteína de la planta y los taninos, es la presencia de iones inorgánicos como el calcio, el magnesio, el sodio y el potasio, en el tracto digestivo (22).

Carbohidratos. También hay indicaciones del enlace de los taninos con los carbohidratos, particularmente con la celulosa, la hemicelulosa, el almidón y la pectina. En contraste con los enlaces tanino-proteína, el enlace con los polisacáridos parece ser independiente del pH (14).

Diversos trabajos han pretendido mostrar el efecto negativo de las sustancias inhibitorias, principalmente los taninos, sobre la digestibilidad de la pared celular a nivel ruminal. Uno de ellos fue realizado por Pichard, *et al.* (1988), quienes al evaluar las hojas de 13 especies de árboles madereros consumidos por rumiantes, observaron relaciones no consistentes sobre la degradación de la fibra hasta valores del 4% de sustancias inhibitorias, pero sí a partir de este valor (23).

Leinmüller *et al.* (1991) cita dos estudios en el que los taninos no afectaron marcadamente la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) y el PH ruminal. Los primeros fueron publicados por Zelter y Leroy (1966), quienes encontraron leves diferencias (10.3 y 11.9 mmoles/100 ml de jugo ruminal) en la concentración de AGV dos horas después del suministro de proteína tratada y sin tratar con taninos, respectivamente. En el otro estudio, Lohan, *et al.* (1983) tampoco detectaron influencia alguna sobre las cantidades de AGV y el pH del rumen en una ración que contenía 25% de hojas de roble (*Quercus incana*; 2.5% taninos en la materia seca) (14).

De otra parte, Chiquette, *et al.* (1988) al incubar similares variedades de *Lotus* spp. observaron que la producción de AGV y de gas en las variedades con alto contenido de taninos (4.9% MS) tendió a ser más baja que en las variedades de bajo contenido (1% MS) (tabla 3), lo cual fue consistente con una menor fermentación de la materia seca (7). Makkar, *et al.* (1995), citados por Provenza, *et al.* (2000), también han señalado que la producción de energía a partir de los subproductos de la fermentación microbiana, como son los ácidos grasos volátiles, puede ser reducida por la ingestión de taninos (24).

Tabla 3. Extensión de la desaparición in vitro de la materia seca, el incremento en la presión de gas y la producción de ácidos grasos volátiles (AGV) después de 24 horas de incubación de forraje de *Lotus corniculatus* conteniendo dos diferentes concentraciones de taninos

	Alto contenido de taninos		Bajo contenido de taninos		No. de observaciones por tratamiento	Diferencia entre medias
	Media	SEM ¹	Media	SEM		
Taninos (% de la materia seca)	4.9	0.3	1.0	0.1		
Desaparición de la materia seca (%)	45.7	0.4	54.4	0.4	84	**
Incremento en la presión de gas (Kpa)	50.9	1.1	58.0	1	42	**
Producción de AGV (mmol L ⁻¹)	65	3	75	2	58	*

¹Error estándar de la media

*, ** Significativamente diferentes a $p < 0.05$ y $p < 0.01$, respectivamente

Fuente: Chiquette, *et al.*, 1988 (7)

En estudios realizados por Hill, *et al.* (1987), más bajos contenidos de propionato y más altos de acetato y butirato fueron obtenidos en bueyes después de la alimentación con cascarilla de cacahuete rica en taninos (20.1% en base seca), lo cual fue corroborado al comparar con la dieta control (10).

Pedraza, *et al.* (1999) adicionaron 0, 2, 4 y 6% de taninos de castaño (*Castanea spp.*) a un suplemento de torta de soya, el cual fue garantizado a razón de 10 g por Kg^{0.75} a ovinos recibiendo una dieta basal de heno de Angleton (*Dichanthium aristatum*). Después de un mes de estar garantizando los diferentes tratamientos, el ácido isovalérico disminuyó de 3.1 nM/L sin taninos ($p < 0.05$) a 2.6 mM/L con



6% de taninos ($p < 0.05$), el ácido isobutírico disminuyó de 2.6 mM/L con 0% de taninos a 2.3 mM/L con 6% de taninos ($p < 0.05$), el ácido acético aumentó de 49.9 mM/L sin taninos a 51.6 mM/L con 6% de taninos ($p < 0.05$) y el ácido butírico disminuyó de 17.2 mM/L sin taninos a 15.2 mM/L en los tratamientos con 2 y 4% de taninos ($p < 0.05$) pero aumentó a 17.1 mM/L en el tratamiento con 6% de taninos (21).

Barahona, *et al.* (1997) indicaron resultados muy diferentes en los parámetros de fermentación de siete leguminosas tropicales. Así, la degradación de la materia seca de *Flemingia macrophylla* fue extremadamente baja (22%) en comparación con la de las demás leguminosas, las cuales presentaron valores entre 41 y 62%. Por otra parte, la degradación de *Leucaena macrophylla* (48%) – que no tiene taninos condensados medibles – fue menor que la de *L. leucocephala* (62%), pero similar a la de *L. pallida* (46%) – que sí tiene taninos. Como se esperaba, los ácidos grasos volátiles (AGV) totales se correlacionaron ($r = 0.77$) con la degradabilidad de la materia seca, siendo menor en el caso de *Flemingia macrophylla* y mayor en *Leucaena leucocephala*. Adicionalmente, la concentración de AGV de cadenas ramificadas, principalmente aquellas formadas a partir de la degradación de la proteína, varió entre especies leguminosas. Los mayores niveles de AGV ramificados se encontraron en las especies sin taninos (*L. macrophylla*) o en las que, aparentemente, tienen menos taninos reactivos (*L. leucocephala*). Esto sugiere que, cuando hay presencia de taninos, ocurre un incremento en la utilización de AGV ramificados por parte de los microorganismos del rumen para la síntesis de proteína bacteriana (tabla 4) (2).

Tabla 4. Total de ácidos grasos volátiles (AGV) después de 144 horas de incubación de diferentes especies de leguminosas con microorganismos del rumen

Leguminosa	Total	Ácidos grasos volátiles (moles/l)					
		Cadenas simples				Cadenas ramificadas	
		Acético	Propiónico	Butírico	Valérico	Isobutírico	Isovalérico
<i>F. macrophylla</i>	19.5	13.8	4.9	0.9	0.1	0.01	-0.17
<i>D. ovalifolium</i>	20.5	15.3	4.4	1.0	0.2	-0.10	-0.26
<i>C. callothyrsus</i>	23.7	19.1	3.8	0.6	0.5	-0.07	-0.20
<i>L. pallida</i>	28.3	20.1	6.7	1.2	0.3	0.05	-0.06
<i>L. macrophylla</i>	31.9	20.4	7.5	1.8	0.8	0.46	0.94
<i>C. fairchildiana</i>	31.9	22.1	7.6	1.7	0.1	0.28	0.13
<i>L. leucocephala</i>	42.6	29.2	8.7	2.5	1.1	0.36	0.76

No se midieron taninos

Fuente: Barahona *et al.*, 1997 (2)

Con respecto a la producción de gas, Leinmüller (1991) cita un trabajo realizado por ella en 1989, en el cual determinó el curso que siguió la formación del mismo al incubar varios carbohidratos (100 mg de cada uno) solos y combinados con plantas forrajeras que contenían taninos. Ella encontró que independiente de la fuente de carbohidrato empleada, la inhibición más grande en la formación de gas ocurrió al tiempo de máxima fermentación de la celulosa, almidón, pectina y glucosa, después de 12, 6, 3, y 2 horas, respectivamente. A esos tiempos, la inhibición de la degradación de la celulosa en la presencia de plantas forrajeras con taninos fue la más grande (28.7% sobre el control), seguido por almidón (54%), glucosa (63.2%), y pectina (71%). En este mismo trabajo, la degradación del almidón, la pectina y la glucosa fue particularmente afectada en la presencia de *A.nilotica adansonii*, mientras *C.collinum* y *A.decurrrens* inhibieron más fuertemente la degradación de la celulosa. Estos resultados sugieren interacciones tanino-carbohidrato específicas (14).

Consideraciones finales

- Uno de los limitantes de la producción ganadera en trópico es el bajo consumo de materia seca por parte del animal. Los taninos al incidir negativamente sobre la digestibilidad de la materia orgánica a nivel ruminal originan una menor concentración de ácidos grasos volátiles y de amonio en el proceso fermentativo, lo que afecta adversamente la síntesis de proteína cruda microbiana y la tasa de pasaje de fluido y material particulado a través del tracto gastrointestinal. Sin embargo, cuando las concentraciones de nitrógeno en la dieta son altas, sirven para aumentar la proteína pasante y disminuir los niveles ruminales de amonio.
- Se sabe que a bajas concentraciones de proteína con respecto a los taninos, la capacidad de precipitación de las mismas se aumenta. En trópico bajo el nivel de este nutriente en la dieta es, por lo general, bajo y especialmente en períodos climáticos adversos; por esta razón la suplementación con árboles leguminosos debe considerar el establecimiento de un valor límite en su consumo, de acuerdo a la cantidad de polifenoles presentes, lo cual, varía a su vez, con la especie vegetal, la fertilidad del suelo y factores de orden medio ambiental.

Agradecimientos

Los autores agradecen a la biblioteca del Centro de Investigación de Agricultura Tropical (CIAT) por su colaboración en la búsqueda de información y a los profesores Hernando Marín Montoya y Angel M. Giraldo Mejía, por su asistencia durante la ejecución y evaluación del trabajo.

- (1) Barahona, R.; Lascano, C.E.; Cochran, R. y Morrill, J. 1996. Efecto de manejo poscosecha del forraje y la adición de polietileno glicol en la concentración y la astringencia de taninos condensados en leguminosas tropicales. *Pasturas Tropicales*, 18: 41-45
- (2) Barahona, R.; Theodoru, M.; Morris, P.; Owen, E.; Narváez, N y Lascano, C. 1997. Gramíneas y Leguminosas Tropicales...Proyecto IP-5. Circular No.2. p 1-3.
- (3) Barry, T.N. and Forss, D.A. 1983. The condensed tannin content of vegetative *Lotus pedunculatus*, its regulation by fertilizer application, and effect upon protein solubility. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 34: 1047-1056
- (4) Barry, T.N. and McNabb, W.C. 1999. The implications of condensed tannins on the nutritive value of temperate forages fed to ruminants. *British Journal of Nutrition*, 81: 263-272
- (5) Cano, R.; Carulla, J. Y Lascano, C.E. 1994. Métodos de conservación de muestras de forraje de leguminosas tropicales y su efecto en el nivel y en la actividad biológica de los taninos. *Pasturas Tropicales*, 16: 2-7
- (6) Carulla, J.E. 1994. Forage intake and N utilization by sheep as affected by condensed tannins. Ph.D. Dissertation. University of Nebraska, Lincoln, Nebraska, USA
- (7) Chiquette, J.; Cheng, K.J.; Costertong, J.W. and Milligan, L.P. 1988. Effect of tannins on the digestibility of two isosynthetic strains of birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus L*) using in vitro and in sacco techniques. *Canadian Journal of Animal Science*, 68: 751-760.
- (8) Foo, L.Y., Jones, W.T., Porter, L.J. and Williams, K.M. 1982. Proanthocyanidin polymers of fodder legumes. *Phytochemistry*, 21: 933-938
- (9) Hagerman, A.E.; Robbins, C.T.; Weerasuriya, Y.; Wilson, T.C. and McArthur, C. 1992. Tannin chemistry in relation to digestion. *Journal of Range Management*, 45: 57-62
- (10) Hill, G.M.; Utley, P.R. and Newton, G.L. 1987. Dietary urea influences on digestibility and utilization of diets containing peanut skins by steers. *Journal of Animal Science*, 64: 1-7
- (11) Jones, W.T., Broadhurst, R.B. and Lyttleton, J.W. 1976. The condensed tannins of pasture legume species. *Phytochemistry*, 15: 1407-1409
- (12) Kumar, R. and Singh, M. 1984. Recovery from tannic-acid-inhibited proteolysis in the tumen by urea. *Indian Journal of Animal Sciences*, 54: 438-445
- (13) Lascano, C.E. y Barahona, R. 1997. Análisis de calidad en genotipos de *Desmodium ovalifolium*. Memorias del primer taller de trabajo del proyecto "La interacción genotipo con el medio ambiente en una colección seleccionada de la leguminosa forrajera tropical *Desmodium ovalifolium*". CIAT, Cali, Colombia, p. 53-55
- (14) Leinmüller, E., Steingass, H. and Menke, K.H. 1991. Tannins in Ruminant Feedstuffs. *Animal Research and Development*, 33: 9-62.
- (15) McSweeney, C.S.; Palmer, B.; McNeill, D.M. *et al.* 2001. Microbial interactions with tannins: Nutritional consequences for ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 83-93
- (16) Menke, K.H. and Leinmüller, E. 1991. Tannins in ruminal feeds. *In vivo* effects. *Übersichten zur Tierernahrung*, 19: 71-85
- (17) Nastis, A.S. and Malechek, J.C. Estimating digestibility of oak browse diets for goats by in vitro techniques. 1988. *Journal of Range Management*, 41: 255-258
- (18) Norton, B.W. 1999. The Significance of Tannins in Tropical Animal Production. *ACIAR Proceedings No.92*, Canberra, Australia, 14-23
- (19) Norton, B.W. and Ahn, J.H. 1997. A comparison of fresh and dried *Calliandra calothyrsus* supplements for sheep given a basal diet of barley straw. *Journal of Agricultural Science*, 129: 485-494
- (20) Osborne, N.J.T. and McNeill, D.M. 2001. Characterisation of *Leucaena* condensed tannins by size and protein precipitation capacity. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81: 1113-1119
- (21) Pedraza, J., Gutiérrez, A., De la Vega, E., Galvis, J., Moreno, D., Guerra, M y Carulla, J. 1999. Uso de taninos para controlar la degradación de las proteínas en el rumen. I. Efecto de la adición de taninos de castaño a un suplemento de torta de soya, consumido por ovinos, en la digestibilidad de la dieta, los niveles plasmáticos de aminoácidos y el consumo voluntario. V Encuentro Nacional de Investigadores de las Ciencias Pecuarias. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 12: 53
- (22) Pérez Maldonado, R.A.; Norton, B.W. and Kerven, G.L. 1995. Factors affecting in vitro formation of tannin-protein complexes. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 69: 291-298
- (23) Pichard, G.; Reategui, K. and Campos, R. 1988. Chemical composition and ruminal breakdown of the tissues of woody plants in the Mediterranean rangeland of Chile. *Ciencia e Investigación Agraria*, 15: 23-30
- (24) Provenza, F.D.; Burritt, E.A.; Perevolotsky, A. and Silanikove, N. 2000. Self-regulation of intake of polyethylene glycol by sheep fed diets varying in tannin concentrations. *Journal of Animal Science*, 78: 1206-1212.
- (25) Reed, J.D. 1995. Nutricional Toxicology of tannins and Related Polyphenols in Forage Legumes. *Journal of Animal Science*, 73: 1516 - 1528.

- (26) Reed, J.D. 1986. Relationship among soluble phenolics, insoluble proanthocyanidins and fibre in East African browse species. *Journal of range Management*, 39: 5-7
- (27) Rittner, U. and Reed, J.D. 1992. Phenolics and in vitro degradability of protein and fibre in West African browse. *Journal of the science of Food and Agriculture*, 58: 21-28
- (28) Robbins, C.T.; Hanley, T.A.; Hagerman, A.E. *et al.* 1987. Role of tannins in defending plants against ruminants: Reduction in protein availability. *Ecology*, 68: 98-107
- (29) Schmidt, A.; Maass, B.L.; Rao, I. M. y Lascano, C.E. 1997. Efecto de suelos diferentes en los niveles de taninos en dos genotipos de *Desmodium ovalifolium*. Memorias del primer taller de trabajo del proyecto "La interacción genotipo con el medio ambiente en una colección seleccionada de la leguminosa forrajera tropical *Desmodium ovalifolium*". CIAT, Cali, Colombia, p. 68-69
- (30) Silanikove, N.; Perevolotsky, A.; Provenza, F.D. *et al.* 2001. Use of tannin binding chemicals to assay for tannins and their negative postingestive effects in ruminants. *Animal Feed Science and Technology*, 91: 69-81
- (31) Singh, K. and Arora, S.P. 1980. Effect of salseed-meal tannins on protein synthesis, S incorporation and cellulose digestibility by rumen microbes in vitro. *Indian Journal of Animal Sciences*, 50: 821-825
- (32) Smith, D.G. 1975. Inhibition of searmining in *Proteus* spp. by tannic acid. *Journal of Applied Bacteriology*, 38: 29-32
- (33) Tanner, J.C., Reed, J.D. and Owen, E. 1990. The nutritive value of fruits (pods with seeds) from four *Acacia* spp. compared with noug (*Guizotia abyssinica*) meal as supplements to maize stover for Ethiopian highland sheep. *Animal Production*, 51: 127-133.
- (34) Waghorn, G.C. and Shelton, I.D. 1992. The nutritive value of Lotus for Sheep. *Proceedings of the New Zealand Society of Animal Production*, 52: 89-92.
- (35) Waterman, P.G.; Mbi, C.N.; McKey, D.B. and Gartlan, J.S. 1980. African Rainforest Vegetation and Rumen Microbes: Phenolic Compounds and Nutrients as Correlates of Digestibility. *Oecologia*, 47: 22-33.