

Fermentación en estado sólido como método para reducir factores antinutricionales en la harina de frutos de *Artocarpus altilis*

Solid State Fermentation as a Method to Reduce Anti-Nutritional Factors in the Flour of *Artocarpus altilis* Fruits

Odelín Brea Maure¹, Luis Miguel Borrás Sandoval² y Leidy Yanira Rache Cardenal³

Resumen

Con la fermentación en estado sólido se convierten sustancias orgánicas complejas en simples por la acción de enzimas microbianas y se modifican las características físico químicas del alimento conllevando a una mejora en la biodisponibilidad y calidad de los nutrientes cuando se utilizan diferentes especies vegetales como alimento animal. Los metabolitos secundarios producidos por las plantas pueden afectar la salud de los animales cuando las consumen. Eliminar o disminuir la cantidad de los compuestos dañinos, además de mejorar el valor nutritivo es una prioridad. En el presente trabajo se evalúa la fermentación en estado sólido con algunas modificaciones como opción para eliminar o disminuir el contenido de taninos y saponinas presentes en la harina del fruto de *Artocarpus altilis* (árbol del pan). Se analiza el efecto del tiempo de fermentación, la adición de urea, vitafer y carbonato de calcio a distintas concentraciones. Los resultados del tamizaje fitoquímico y la cuantificación de taninos y saponinas en las diferentes variaciones de la fermentación, muestran que adicionando vitafer (5%) y carbonato de calcio (0.6%) disminuye la concentración de taninos y saponinas en la harina del fruto de *Artocarpus altilis*.

Palabras clave: Factores antinutricionales, Fermentación en estado sólido, Vitafer, Carbonato de calcio.

Abstract

With solid-state fermentation, complex organic substances are used in simple ones by the action of microbial enzymes and the physical chemical characteristics of the food are modified, leading to an improvement in the bioavailability and quality of the nutrients when different plant species are used as animal feed. Secondary metabolites produced by plants can affect the health of animals when they consume them. Eliminating or reducing the quantity of harmful compounds, in addition to improving the nutritional value, is a priority. In the present work, solid state fermentation with some modifications is evaluated as an option to eliminate or reduce the content of tannins and saponins present in the flour of the fruit of *Artocarpus altilis* (breadfruit). The effect of fermentation time, the addition of urea, vitafer and calcium carbonate at different concentrations was analyzed. The results of the phytochemical screening and the quantification of tannins and saponins in the different fermentation variations show that adding vitafer (5%) and calcium carbonate (0.6%) decreases the concentration of tannins and saponins in the flour of the fruit of *Artocarpus altilis*.

Keywords: Antinutritional factors, Solid state fermentation, Vitafer, Calcium carbonate.

Recepción: 10-mar-2022

Aceptación: 1-may-2022

¹Doctora en Ciencias Veterinarias, Docente Universidad de Matanzas, Cuba.

²Doctor en Ciencias Veterinarias, Docente Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, UPTC.

³Doctora en Ciencias Biología, Docente Universidad Pedagógica y Tecnológica de Colombia, UPTC.

1 Introducción

Los recursos vegetales tienen una gran relevancia en la ganadería, debido a que históricamente diferentes especies vegetales son usadas como alimento animal. La identificación y conocimiento de los beneficios nutricionales de las plantas en la salud animal ha incrementado su popularidad y consumo [1]. En los países tropicales, diversas especies vegetales, leguminosas, árboles forrajeros y arbustos, entre otros, son usados como fuentes alimenticias alternativas para los animales. Sin embargo, no todas las especies se pueden utilizar en todo su potencial nutritivo debido a la presencia de factores antinutricionales que limitan su inclusión en la alimentación animal. Evolutivamente las plantas adquirieron la capacidad de sintetizar compuestos orgánicos que les permiten realizar todos los procesos bioquímicos de crecimiento, desarrollo y reproducción sin inconvenientes [2] y, además interactuar ecológicamente con el ambiente y defenderse de patógenos como bacterias, hongos, insectos o herbívoros [3].

Como productos del metabolismo secundario de las plantas se conocen más de 1200 compuestos químicos, entre los cuales se han reportado cerca de 8000 polifenoles, 270 aminoácidos no-proteicos, 32 cianógenos, 10 000 alcaloides y varias saponinas y esteroides totales. Los efectos perjudiciales o beneficiosos de esos metabolitos secundarios en la producción animal dependen de varios aspectos, en su mayoría estrechamente interrelacionados: el tipo específico de sustancia química y su concentración; composición y tipo de dieta; especie, categoría, adaptabilidad y manejo animal, entre otros [4]. Algunos metabolitos actúan principalmente en la digestión y absorción de proteínas y carbohidratos, utilización de minerales y en la biodisponibilidad de vitaminas [5, 6, 7].

En producción animal, esos compuestos químicos son categorizados como factores antinutricionales (FAN) cuando su presencia o acción disminuye el valor nutritivo del alimento que los contiene, pero se consideran compuestos no nutritivos o factores nutricionalmente bioactivos cuando en determinadas dosis, tienen efectos beneficiosos en la digestión de

la dieta, la salud y la productividad de los animales [8, 9, 10].

Los compuestos anticalidad o factores antinutricionales más estudiados son los taninos condensados, fenoles, alcaloides, oligosacáridos y saponinas porque pueden producir una reacción violenta e inmediata, en la mayoría de los casos tienen un efecto sutil que se manifiesta con la ingestión prolongada. Se puede destacar la disminución del consumo y la eficiencia digestiva, lo que repercute negativamente en el crecimiento y productividad del animal. No obstante, en algunos casos la presencia de estas sustancias podría ser beneficiosa, especialmente en los rumiantes [4, 11].

Algunos de esos factores como los termolábiles, son inactivados o destruidos por prácticas como cocción, escaldado, tostado y extrusión; mientras que procesos como germinación, remojo, fermentación, cocción y/o escaldado, eliminan los factores termoestables y conllevan a un aumento en la digestibilidad y mejoramiento de las propiedades organolépticas del producto [10]. En semillas de *Mucuna*, por ejemplo, los tratamientos hidrotérmicos, el tostado y la germinación fueron efectivos en la reducción de algunos factores antinutricionales debido a la degradación térmica y química de los compuestos, no obstante moléculas como los taninos no fueron degradados por esas vías [12, 13].

Los taninos son un grupo heterogéneo de compuestos polifenólicos hidrosolubles de alto peso molecular (500-20 000 Da) [14, 15], con una amplia distribución en el reino vegetal y especialmente entre las leguminosas [2]. Su síntesis está sujeta a regulación genética, varía entre familias, géneros, especies e individuos, y depende del efecto de factores climáticos (temperatura, humedad, radiación solar, régimen de vientos), edáficos (composición, calidad, déficit de nutrientes), grado de madurez de los tejidos o la exposición a fitopatógenos o herbívoros [16].

Por su estructura y reactividad hacia los agentes hidrolíticos se clasifican en: taninos hidrolizables y condensados. Los primeros o galotaninos son fácilmente hidrolizables por ácidos o enzimas. Los taninos condensados (proantocianidinas) son polímeros flavonoides, no susceptibles a hidrólisis, pero pueden ser degradados por oxidación con

ácidos fuertes para producir antocianidinas. Existen reportes sobre su degradación en los procesos de fermentación anaeróbica [3, 11, 17, 18].

Los taninos, tanto hidrolizables como condensados, son insolubles en solventes no polares y solubles en solventes polares como agua y alcoholes [19, 20], aunque la solubilidad de los condensados disminuye a medida que se incrementa el grado de polimerización [21]. La principal propiedad química de los taninos es su capacidad de formar complejos con las proteínas y, en menor extensión, con polisacáridos, iones metálicos, aminoácidos, ácidos nucleicos, etc. [10, 22]. La formación de estos complejos se debe al gran número de grupos hidroxilo-fenólicos que poseen los taninos que les permite establecer múltiples uniones con otros sustratos [23]. Los complejos según Kumar y Singh [24] se pueden formar a través de uniones débiles como puentes de hidrógeno e interacciones hidrófobas, o por uniones más fuertes como uniones iónicas reversibles o enlaces covalentes irreversibles.

Entre los efectos nutricionales dañinos de los taninos se pueden mencionar menor aceptabilidad del alimento, pérdida de peso, poco crecimiento, menor retención de nitrógeno, disminución en la energía metabolizable, la absorción de hierro y la digestibilidad de la materia seca, debido a que estos compuestos cuando se encuentran en altas concentraciones pueden formar complejos con las proteínas, fibra y minerales [25, 26], lo cual resulta en el deterioro de la conversión en animales monogástricos, inhibición de las enzimas digestivas y formación de complejos con las membranas de la mucosa intestinal. No obstante, la presencia de algunas de estas sustancias puede ser beneficiosa para los rumiantes [27].

Otra de las moléculas estudiadas son las saponinas, glucósidos de alto peso molecular en que la unidad de glucosa, galactosa, ácido glucurónico, xilosa, ramnosa o mentilpentosa, está unida por un enlace glicosídico a un grupo aglicona hidrofóbico (sapogenina), que puede ser de naturaleza triterpenoide o esferooidal [28]. Estos compuestos rebajan la tensión superficial y forman una espuma estable en solución acuosa similar a los jabones, de ahí el nombre de saponinas. Se encuentran en plantas

leguminosas, escrofulariáceas, cariofiláceas, etc. [29], y se producen en diferentes partes de las plantas como raíces, tubérculos, corteza, hojas, semillas y frutos [30].

La diversidad y complejidad de las estructuras de las saponinas se debe a la variabilidad de la estructura aglicona, la naturaleza de las cadenas laterales y la posición de enlace de éstas a la aglicona [30]. La mayoría de las plantas que contienen saponinas no tienen un único compuesto sino una mezcla compleja, lo que influye directamente en su actividad biológica [31]. Se conoce un amplio rango de efectos biológicos de estos compuestos, aunque la mayoría se pueden atribuir a su acción sobre los esteroides de las membranas, particularmente por la formación de micelas entre saponinas y colesterol [32] u otras interacciones más complejas con las membranas biológicas que afectan sus principales propiedades, entre ellas la permeabilidad [28].

Los reportes sobre afectación del comportamiento y metabolismo del animal se deben a hemólisis de eritrocitos, reducción de colesterol sanguíneo y hepático, depresión de la tasa de crecimiento, inhibición de la actividad del músculo liso, inhibición enzimática y reducción en la absorción de nutrientes [33]. El abundante lavado en agua permite disminuir su efecto, aunque se pierden elementos nutritivos [3]. Las saponinas se hidrolizan por la flora ruminal y cecal, por lo que los rumiantes, al igual que los conejos, son poco sensibles a niveles altos de saponinas en la dieta. En cambio, en porcino, y sobre todo en aves, se observa un efecto negativo de las saponinas en el consumo de pienso [34]. Los principales beneficios estudiados de las saponinas son la disminución del olor de las excretas, reducción en la prevalencia de artritis, mejora el desempeño de los animales [35] e inhibe el crecimiento *in vitro* de *Escherichia coli* [36].

Artocarpus altilis (árbol del pan) podría utilizarse como nuevo alimento animal, si se mejora la biodisponibilidad y calidad de los nutrientes mientras se degradan los factores antinutricionales presentes en esta planta a través de fermentación en estado sólido. En este estudio se propuso: i) Evaluar la fermentación en estado sólido de la harina de frutos de *Artocarpus altilis* y el efecto

de cuatro componentes en la producción de taninos y saponinas como factores antinutricionales.

2 Metodología

Los ensayos fueron realizados en el laboratorio de Farmacognosia perteneciente a la Universidad Federal de Minas Gerais, Brasil y se evaluó el efecto de cuatro variables en la producción de taninos y saponinas como factores antinutricionales durante la fermentación de harina de *Artocarpus altilis*.

En el primer ensayo se evaluó el efecto del tiempo de fermentación y la adición de diferentes concentraciones de urea en la producción de esos factores antinutricionales (HFP-FES). Se realizó un diseño experimental completamente aleatorizado con arreglo factorial (4 x 4) en el cual el primer factor consistió en 4 niveles de urea (0, 0.5, 1.0, 1.5%) y el segundo factor en 4 tiempos de fermentación (0, 12, 24 y 48 h) con 3 repeticiones. La presencia/ausencia y la cantidad de cada uno de esos compuestos fue determinada y cuantificada a las 0, 12, 24 y 48h.

En el segundo ensayo se evaluó el efecto de la adición de VITAFER y carbonato de calcio solos o en combinación, a diferentes concentraciones en la presencia/ausencia de taninos y saponinas y la cantidad producida. El experimento se realizó tipo factorial (6 x 2) y 3 repeticiones por tratamiento, el factor A consistió en 3 niveles de carbonato de calcio (0, 0.3 y 0.6%) más 3 niveles de VITAFERT (0, 2.5 y 5%) y el factor B consistió en 2 tiempos de fermentación (0 y 48 h). Se utilizó un diseño completamente aleatorizado.

En cada uno de los ensayos se realizó un tamizaje fitoquímico a las diferentes variantes de fermentación de la harina, según la metodología descrita por Miranda y Cuellar [37] en el laboratorio de Farmacognosia perteneciente a la Universidad Federal de Minas Gerais, Brasil, para determinar de forma cualitativa la presencia de taninos y saponinas. Se utilizó un sistema de cruces para especificar la presencia o ausencia de los metabolitos secundarios en cada una de las muestras. En todos los análisis se siguieron los criterios de:

+++ abundante; ++ moderado; + presencia;
– ausencia.

La cuantificación de taninos condensados totales se determinó por triplicado con el método de la vainillina - HCL, propuesto por Price *et al.* [38]. La absorbancia fue leída a 720 nm en un espectrofotómetro UV-VIS. Se preparó una curva de calibración de (+) catequina y el contenido de taninos se expresó en porcentaje (%) de MS.

El contenido de saponinas se determinó por el método de la vainillina-ácido sulfúrico sugerido por Hiai *et al.* [39]. La absorbancia fue leída a 374 nm. Se preparó una curva de calibración, con la utilización de Ginseng como estándar de referencia.

El preparado microbiano VITAFERT se desarrolló bajo la metodología propuesta por Elías, A., Herrera, F. R. [40].

3 Resultados y discusión

Artocarpus altilis es una especie de interés como alimento animal debido a la cantidad de proteínas, carbohidratos, vitaminas y minerales que contiene. En Colombia, la especie es cultivada en cuatro municipios del departamento del Magdalena para satisfacer parte de las necesidades de alimentación de la población. Sin embargo, su utilidad podría aumentar ya que se considera una opción para sustituir los granos y/o cereales cuyos costos son elevados [41].

Antes de utilizar una especie vegetal como alimento animal, es fundamental identificar y cuantificar los compuestos antinutricionales producidos por ellas [42], como taninos, alcaloides, glucósidos cianogénicos y saponinas [43], con el fin de identificar los posibles efectos benéficos o perjudiciales para los animales que los van a consumir como alimento [42]. Los factores antinutricionales en su estado natural y en altas cantidades tienen efectos adversos sobre el aprovechamiento de nutrientes, o sobre la salud. Para *Artocarpus altilis*, los resultados del tamizaje fitoquímico realizado a las variantes de fermentación en estado sólido de la harina de sus frutos, se muestran en la tabla 1. La harina sin fermentación y fermentada usando diferentes concentraciones de urea presentan cualitativamente baja cantidad de taninos condensados totales y saponinas.

Tabla 1. Factores antinutricionales en la harina de *Artocarpus altilis* sin fermentar (HFP) y fermentada con la adición de urea (HFP-FES).

Factores antinutricionales	Tamizaje fitoquímico	
	HFP	HFP-FES
Saponinas	+	+
Taninos Condensados totales	+	+

Nota: (+++) Alto, (++) Moderado, (+) bajo, (-) Ausencia

La cantidad de taninos y saponinas presentes en la harina de frutos de *Artocarpus altilis* fue de 3.92 y 0.33 g.100gMS⁻¹, respectivamente (tabla 2); resultados similares fueron obtenidos por Leyva [44] quien cuantificó 4,24 g.100gMS⁻¹ de taninos y 0,33 g.100gMS⁻¹ de saponinas en la harina sin fermentar de frutos de la misma especie.

Como se observa en los resultados, la harina de frutos de *Artocarpus altilis* posee un alto contenido de taninos condensados totales lo que permite compararla con un sorgo rico en taninos [45] capaz de reducir el consumo de alimento y la velocidad de crecimiento de las aves y los cerdos cuando se incluye en niveles que superan el 20% de la dieta; estas concentraciones de taninos son aceptables por los conejos que son capaces de soportar altas concentraciones en sus dietas [34]. A pesar de que se han utilizado métodos mecánicos, físicos, químicos, biológicos y biotecnológicos para disminuir o remover las sustancias antinutritivas o factores antinutricionales en plantas [46], se ha encontrado que la presencia de taninos no se puede eliminar o reducir utilizando esas metodologías, por lo que para la harina de los frutos de *Artocarpus altilis* se evaluó la fermentación en estado sólido como alternativa no solo para disminuir la cantidad de taninos, sino para incrementar la fracción soluble del alimento, la cantidad y calidad de las proteínas expresadas en su valor biológico, e incrementar el contenido de vitaminas hidrosolubles [47].

La cantidad de taninos y saponinas presentes 48h después de la fermentación de la harina de *Artocarpus altilis* se muestra en la tabla 2. Los resultados indican que el tiempo tiene una influencia positiva en la producción de estos compuestos, cuantificándose una disminución de 0,47 y 0,09 g.100g MS⁻¹ de taninos y saponinas

respectivamente, con respecto a la 0h ($\alpha = 0.05$; $p < 0,05$), mientras que la urea a diferentes concentraciones mantiene estable la cantidad de estos dos factores antinutricionales.

Tabla 2. Efecto del tiempo de fermentación y niveles crecientes de urea en la producción de taninos y saponinas de la harina de *Artocarpus altilis*.

Factor	Taninos, g.100g MS ⁻¹	Saponinas, g.100g MS ⁻¹
Tiempo, h		
0	3.92 ^b	0.33 ^c
12	3.84 ^b	0.29 ^b
24	3.68 ^b	0.30 ^{bc}
48	3.45 ^a	0.24 ^a
EE ±	0.08	0.01
Signif.	$p = 0.0012$	$p = 0.0008$
Niveles de inclusión de Urea, %		
0	3.62	0.28
0.5	3.85	0.29
1.0	3.76	0.29
1.5	3.65	0.29
EE ±	0.08	0.01
Signif.	$P=0.1634$	$P=0.6916$

Nota: a, b, c Letras distintas indican diferencias significativas $p < 0,05$ según Duncan [48].

El tamizaje fitoquímico realizado a la fermentación en estado sólido de la harina de los frutos de *Artocarpus altilis* usando vitafer y carbonado de calcio muestra baja presencia de taninos y saponinas (Tabla 3). Al cuantificar los dos factores antinutricionales se observan efectos estadísticamente significativos en la producción. Al adicionar solo carbonato de calcio se aumenta la cantidad de taninos. Sin embargo, la combinación de vitafer y carbonato de calcio, tiene un efecto positivo en la cantidad de taninos cuantificados. Comparando los resultados obtenidos se puede evidenciar una mayor disminución (0,46 g.100gMS⁻¹) de taninos al adicionar vitafer (5%) y carbonato de calcio (0,6%) que dejando solo el tiempo como variable (0,15 g.100gMS⁻¹). Respecto a cantidad de saponinas la disminución es similar (Tabla 4, $p < 0,05$). Resultados similares fueron obtenidos por Makkar [49] realizando un tratamiento con álcalis con el cual redujo el contenido de taninos. Admassu y Kumar [50], observaron una reducción de 27% en

el contenido de taninos en *Phaseolus vulgaris* L. sometidos a una hidratación con bicarbonato de sodio durante 12 horas, mientras que este mismo tratamiento más cocción disminuyó un 68% este antinutriente. En este estudio, la disminución en mayor grado de la concentración de taninos, pudo deberse a la presencia de calcio, que se encuentra dentro del grupo de activadores metálicos de las enzimas y participa directamente en la catálisis con un cambio de valencia en el proceso de óxido-reducción y la hidroxilación del anillo bencénico de los aminoácidos aromáticos, provocando una mayor oxidación de los taninos.

Tabla 3. Factores antinutricionales en la harina del fruto de *Artocarpus altilis* en fermentación en estado sólido con niveles de vitafer y carbonato de calcio (BS).

Factores antinutricionales	Tamizaje fitoquímico	
	HFP	HFP-FES
Saponinas	+	+
Taninos Condensados totales	+	+

Nota: (+++) Alto, (++) Moderado, (+) bajo, (-) no presencia.

Tabla 4. Efecto de niveles crecientes de vitafer, carbonato de calcio y el tiempo de fermentación en la concentración de taninos del fruto de *Artocarpus altilis*.

Factor	Taninos, g.100gMS ⁻¹	Saponinas, g.100gMS ⁻¹
Tiempo, h		
0	3.27 ^a	0.32 ^a
48	3.12 ^b	0.28 ^b
EE ±	0.05	0.002
Signif.	$p = 0.047$	$p < 0.0001$
Niveles de vitafer (V) y carbonato de calcio (C), %		
0.3C	3.54 ^c	0.31 ^b
0.6C	3.34 ^{bc}	0.31 ^b
2.5V0.3C	3.21 ^b	0.30 ^{ab}
2.5V0.6C	3.16 ^b	0.30 ^{ab}
5.0V0.3C	3.12 ^b	0.29 ^a
5.0V0.6C	2.81 ^a	0.29 ^a
EE ±	0.09	0.004
Signif.	$p = 0,0003$	$p = 0.0332$

Nota: ^{a,b,c} letras distintas indican diferencias significativas $P < 0,05$ según Duncan [48].

Conclusión

La fermentación en estado sólido incluyendo vitafer y carbonato de calcio mostró ser un proceso efectivo con el cual se disminuye la concentración de taninos y saponinas presentes en la harina de frutos de *Artocarpus altilis*. Con la reducción obtenida por la fermentación en estado sólido propuesta en este estudio, se espera ofrecer un alimento con niveles adecuados de taninos en la dieta que protejan parte del nitrógeno y favorezcan su utilización en el tracto posterior, con modificación en las rutas de excreción del nitrógeno, además de un alimento rico en nutrientes que favorezca el desarrollo y crecimiento animal.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo Nacional de Financiamiento para la Ciencia, la Tecnología y la Innovación Francisco José de Caldas y a la Gobernación de Boyacá por la financiación recibida para el desarrollo del proyecto “Desarrollo de un alimento altamente digestible para la alimentación ovina desde residuos post-cosecha”, contrato de financiamiento de recuperación contingente No. 80740-658-2020 y código SGI 2993, y al laboratorio de Farmacognosia de la Universidad Federal de Minas Gerais, Brasil por la colaboración en el desarrollo del estudio.

Referencias

- [1] O. O. Oladapo, Q. A. Oladipupo, F. Chrishanthi, M. Ram, L. Xiuhua, S. Yasmina, “Effect of solid-state fermentation on proximate composition, anti-nutritional factor, microbiological and functional properties of lupin flour”, *Food Chem*, vol. 315, pp. 126238, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126238>
- [2] A. H. Patra, J. Saxena, “Dietary phytochemicals as rumen modifiers: a review of the effects on microbial populations”, *Antonie Leeuwenhoek*, vol. 96, pp. 363-375, Jul, 2009. <https://doi.org/10.1007/s10482-009-9364-1>
- [3] R. Kumar, J. P. F. DÍMello, “Antinutritional factors in forage legumes”, in *Tropical legumes*

- in animal nutrition, J. P. F. DiMello, C. Devendra, Ed. Wallingford: CAB International, pp. 95-133, 1995.
- [4] G. D. Ryan, S. Rasmussen, J. A. Newman, "Global atmospheric change and trophic interactions: are there any general responses?", in: Plant communication from an ecological perspective, F. Baluška, V. Ninkovic, Ed. Berlin: Springer-Verlag, pp. 179-214, 2010.
- [5] J. C. Carmona, "Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos", *Rev. Lasallista Investig*, vol. 4, no. 1, pp. 40-50, 2007. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=69540107>
- [6] A. Kumar, S. Lingadurai, A. Jain, N. R. Barman, "*Erythrina variegata* Linn: A review on morphology, phytochemistry, and pharmacological aspects", *Phcog. Rev*, vol. 4, no. 8, pp. 147-52, 2010. doi: 10.4103/0973-7847.70908.
- [7] P. Karolewski, A. M. Jagodzinski, J. Grzebyta, "Influence of tree age, needle age and location in the crown on the phenolic compounds content in needles of young Scots pines", *Sylwan*, vol. 155, no. 12, pp. 797-807, 2011. doi: <https://doi.org/10.26202/sylwan.2011104>
- [8] A. K. Patra, D. N. Kamra, N. Agarwal, "Effect of plant extracts on *in vitro* methanogenesis, enzyme activities and fermentation of feed in rumen liquor of buffalo", *Anim. Feed Sci. Technol*, vol. 128, no. 3-4, pp. 276-291, Jun, 2006. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2005.11.001>
- [9] G. Alexander, B. Singh, A. Sahoo, T. K. Bhat, "*In vitro* screening of plant extracts to enhance the efficiency of utilization of energy and nitrogen in ruminant diets", *Anim. Feed Sci. Technol*, vol. 145, no. 1-4, pp. 229-244, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.05.036>
- [10] A. De Dios Elizalde, Y. P. Porrilla, D. Carolina, C. Chaparro, "Factores antinutricionales en semillas", *Rev. Bio. Agro*, vol. 7, no. 1, pp. 45-54, 2009.
- [11] D. M. Verdecia, "Composición química y metabolitos secundarios en seis variedades de árboles, arbustos y leguminosas volubles en el Valle del Cauto", Tesis doctoral, Ciencias Veterinarias, Ica. La Habana, Cuba, 2014.
- [12] P. Siddhuraju, K. Becker, "Nutritional and antinutritional composition, *in vitro* amino acid availability, starch digestibility and predicted glycemic index of differentially processed mucuna beans (*Mucuna pruriens* var. *utilis*): An Under-utilized Legume", *Food Chem*, vol. 91, no. 2, pp. 275-286, 2005. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.02.044>
- [13] E. Wanjekeche, V. Wakasa, J. G. Mureithi, "Effect of germination, alkaline and acid soaking and boiling on the nutritional value of mature and immature *Mucuna (Mucuna pruriens)* beans", *Trop. Subtrop. Agroecosystems*, vol. 1, no. 2-3 pp. 183-192, 2003. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93911288019>
- [14] M. N. McLeod, "Plant tannins their role in forage quality", *Nutr. Abstr. Rev*, vol. 44, pp. 803-815, 1974. <http://hdl.handle.net/102.100.100/309310?index=1>
- [15] P. J. Mueller, M. H. Poore, W. A. Skroch, "Damage assessment in christmas tree plantations following vegetation control with sheep and geese", *South. J. Appl. For*, vol. 23, no. 1, pp. 11-15, 1999. <https://doi.org/10.1093/sjaf/23.1.11>
- [16] P. J. Van Soest, J. B. Robertson, B. A. Lewis, "Methods for dietary fiber, neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition", *J. Dairy Sci*, vol. 74, no. 10, pp. 3583-3597, 1991. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)
- [17] D. E. García, M. G. Medina, "Metodologías para la evaluación de especies arbóreas y arbustivas en sistemas silvopastoriles", Curso nacional sobre metodologías para el manejo y

- evaluación de sistemas agroforestales, Trujillo, Venezuela, (CD ROM), 2006.
- [18] F. E. Jiménez, “Morfología y potencial forrajero de leguminosas no convencionales, nativas de México, para la producción en pastoreo extensivo en el trópico”, Tesis doctoral, Ciencias, Montecillo, Texcoco, Edo. de México, 2011.
- [19] S. Mole, P. G. Waterman, “Tannic acid and proteolytic enzymes: enzyme inhibition or substrate deprivation”, *Phytochemistry*, vol. 26, no. 1, pp. 99-102, 1986. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)81490-9](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)81490-9)
- [20] A. E. Hagerman, L. G. Butler, “Tannins and lignins, in: Herbívoros: Their interactions with secondary plant metabolites, G.A. Rosental, M. R. Berenbaum, Ed. New York: Academic Press, pp. 355-388, 1991.
- [21] P. Schofield, D. M. Mbugua, A. N. Pell, “Analysis of condensed tannins: a review”, *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 91, no. 1-2, pp. 21-40, 2001. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(01\)00228-0](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(01)00228-0)
- [22] H. P. S. Makkar, “Effects and fate of tannins in ruminant animals, adaptation to tannins, and strategies to overcome detrimental effects of feeding tannin-rich feeds”, *Small Rumin. Res.*, vol. 49, no. 3, pp. 241-256, 2003. [https://doi.org/10.1016/S0921-4488\(03\)00142-1](https://doi.org/10.1016/S0921-4488(03)00142-1)
- [23] E. Haslam, “Plant polyphenols (syn. vegetable tannins) and chemical defense- A reappraisal”, *J. Chem. Ecol.*, vol. 14, no. 10, pp. 1780-1805, 1998. doi: 10.1007/BF01013477.
- [24] R. Kumar, M. Shing, “Tannins: Their adverse role in ruminant nutrition”, *J. Agric. Food Chem.*, vol. 32, no. 3, pp. 447-453, 1984. <https://doi.org/10.1021/jf00123a006>
- [25] F. Ojeda, “Factores antinutricionales presentes en los árboles forrajeros”, Memorias del Diplomado en Silvopastoreo, EEPF “Indio Hatuey”, Matanzas, Cuba, p. 18, 1996.
- [26] J. Ahn, R. Elliott, B. Norton, “Oven drying improves the nutritional value of *Calliandra calothyrsus* and *Gliricidia sepium* as supplements for sheep given low-quality straw”, *J. Sci. Agric.*, vol. 75, no. 4, pp. 503-510, 1999. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199712\)75:4<503::AID-JSFA905>3.0.CO;2-T](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199712)75:4<503::AID-JSFA905>3.0.CO;2-T).
- [27] J. Galindo, D. Delgado, R. M. Pedraza, D. E. García, “Impacto de los árboles, los arbustos y otras leguminosas en la ecología ruminal de animales que consumen dietas fibrosas”, *Rev. Pastos y Forrajes*, vol. 28, no. 1, pp. 59-68, 2005. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=269121628005>
- [28] G. Francis, Z. Kerem, H. P. S. Makkar, K. Becker, “The biological action of saponins in animal systems: a review”, *Br. J. Nutr.*, vol. 88, no. 6, pp. 587-605, 2002. doi: 10.1079/BJN2002725.
- [29] R. G. Ruiz, K. R. Price, M. E. Rose, A. E. Arthur, D. S. Petterson, G. R. Fenwick, “The effect of cultivar and environment on saponin content of Australian sweet lupin seed”, *J. Sci. Food Agric.*, vol. 69, no. 3, pp. 347-351, 1995. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740690311>
- [30] K. J. Hart, D. R. Yáñez-Ruiz, S. M. Duval, N. R. McEwan, C. J. Newbold, “Plant extracts to manipulate rumen fermentation”, *Anim. Feed Sci. Technol.*, vol. 147, no. 1-3, pp. 8-35, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.anifeedsci.2007.09.007>
- [31] B. Teferedegne, F. McIntosh, P. O. Osuji, A. Odenyo, R. J. Wallace, C. J. Newbold, “Influence of foliage from different accessions of the sub-tropical leguminous tree, *Sesbania sesban*, on ruminal protozoa in Ethiopian and Scottish sheep”, *Anim. Feed sci. Technol.*, vol. 78, no. 1-2, pp. 11-20, 1999. [https://doi.org/10.1016/S0377-8401\(98\)00272-7](https://doi.org/10.1016/S0377-8401(98)00272-7)
- [32] A. D. Bangham, R. W. Horne, A. M. Glauert, J. T. Dingle, J. A. Lucy, “Action of saponins on biological membranes”, *Nature*, vol. 196, pp. 952-955, 1962. doi: 10.1038/196952a0.

- [33] P. R. Cheeke, "Nutritional and physiological implications of saponins: a review", *Can. J. Anim. Sci.*, vol. 51, no. 3, pp. 621-632, 1971.
- [34] C. De Blas, G. G. Mateos, P. G. Rebollar, "Tablas de composición y valor nutritivo de alimentos para la fabricación de piensos completos", 2 edición, FEDNA, 2003.
- [35] P. R. Cheeke, "Biological effects of feed and forage saponins and their impacts on animal production", in *Saponins used in food and agriculture*, G. R. Waller, K. Yamasaki, Ed. Boston, Springer, pp. 377-385, 1996. https://doi.org/10.1007/978-1-4613-0413-5_32
- [36] S. Sen, H. P.S. Makkar, S. Muetzel, K. Becker, "Effect of *Quillaja saponaria* saponins and *Yucca schidigera* plant extract on growth of *Escherichia coli*", *Lett. Appl. Microbiol.*, vol. 27, no. 1, pp.35-38, 1998. Doi: 10.1046/j.1472-765x.1998.00379.x
- [37] M. Miranda, A. Cuellar, "Farmacognosia y productos naturales", Facultad de farmacia y Alimentos. Universidad de La Habana, Manual de prácticas de laboratorio, 2000.
- [38] M. L. Price, S. S. Van, L. Butler, "A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain", *J. Agric. Food Chem.*, vol. 26, no. 5, pp. 1214-1218, 1978. <https://doi.org/10.1021/jf60219a031>
- [39] S. Hiai, H. Oura, T. Nakajima, "Reaction of some sapogenins and saponins with vainillin and sulfuric acid", *Planta Med.*, vol. 29, pp. 116-122, 1976.
- [40] A. Elías, F. R. Herrera, "Producción de alimentos para animales a través de procesos biotecnológicos sencillos con el empleo de microorganismos beneficiosos activados (MEBA)", Vitafert. La Habana, Cuba, Instituto de Ciencia Animal. pp. 8-13, 2008.
- [41] E. Cabrera Durán y J. M. Castillo Martínez, "Aprovechamiento de la fruta del árbol de pan (*Artocarpus altilis*) para la obtención de un derivado alimenticio (harina)", *Investig. Innov. Ingen.*, vol. 6, no. 2, pp. 30-46, 2018. DOI: 10.17081/invinno.6.2.3110.
- [42] J. D. Reed, C. Krueger, G. Rodriguez, J. Hanson, "Secondary plant compounds and forage evaluation", Ed. Department of Animal Sciences, University of Wisconsin-Madison, USA Intern Livest Res Inst. Addis Ababa, Ethiopia, 2000, pp. 433-448.
- [43] G. Ramos, A. Ruiz, P. Frutos, F. J. Giráldez, "Los compuestos secundarios de las plantas en la nutrición de los herbívoros", *Arch. Zootec.*, vol. 47, no. 180, pp. 597-620, 1998. ISSN 0004-0592.
- [44] C. Leyva, "Caracterización química de harinas de frutos y hojas del árbol del pan (*Artocarpus altilis*) y su empleo en la alimentación de pollos, conejos y ovinos de ceba", Tesis doctoral. Instituto de Ciencia Animal, Cuba, 2010.
- [45] M. Jaramillo, "Sorgos graníferos altos en taninos condensados: significancia nutricional y factibilidad de usos en la alimentación de aves", *el Avicultor.com*, vol. 1, no. 1, pp. 24-28. 2005.
- [46] L. Savon, I. Scull, "Evaluación de compuestos fenólicos en árboles con potencialidades de uso en la alimentación del cerdo", *Revista Computadorizada de Producción Porcina*, vol. 13, supl. 1, 2006.
- [47] O. Paredes-López, G. I. Harry, R. Montes-Rivera, "Development of a fermentation procedure to produce a tempe-related food using common beans as substrate", *Biotechnol. Lett.*, vol. 9, pp. 333-338, 1987. <https://doi.org/10.1007/BF01025799>
- [48] D. B. Duncan, "Multiple range and multiple F-Test. Biometrics", vol. 11, no. 1, pp. 1-42, 1955. <https://doi.org/10.2307/3001478>
- [49] H. P. S. Makkar, "Antinutritional factors in foods for livestock", *BSAP Occasional publication*, vol. 16, pp. 69-85, 1993. doi:10.1017/S0263967X00031086.

- [50] E. Admassu, S. Kumar, “Effect of processing on antinutrients and *in vitro* protein digestibility of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.) varieties grown in East Africa”, *Food Chem.*, vol. 103, no. 1, pp. 161-172, 2007. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.08.005>