

# CARACTERIZAÇÃO DOS TANINOS CONDENSADOS DA MANIÇOBA E DE DUAS ESPÉCIES AFINS

Fabiana Augusta Santiago Beltrão<sup>1</sup>, Patrícia Guimarães Béelen<sup>2</sup>, Divan Soares da Silva<sup>3</sup>, Rômulo Marino Llamoca-Zarate<sup>4</sup>, Sandra Elizabeth Santiago Beltrão Santa Cruz<sup>5</sup>.

#### **RESUMO**

O objetivo do trabalho foi caracterizar o tanino condensado (TC), as concentrações em tanino solúvel (TS), tanino ligado ao resíduo (TL) e tanino total (TT) da maniçoba (*Manihot pseudoglazovii* Pax & Hoffman), e espécies afins, estas analises foram determinadas pelo método butanol-HCL, e adstringência pelo método de difusão radial. Foram observadas diferenças significativas entres as espécies quanto à concentração e adstringência (P<0,05) dos taninos. O acesso de mandioca apresentou os maiores valores (12,7% TT). A maniçoba apresentou valores baixos (0,9% TT a 5,3% TT) e a pormuncia (10,9% TT). Os valores médios apresentados foram: para a maniçoba de 2,4% TT; para a mandioca de 12,7% TT e para o pormuncia de 10,9% TT. Não houve efeito significativo nas concentrações de TL e adstringência. Os valores observados foram inferiores aos considerados benéficos para a digestão ruminal ao nível de 5 % de probabilidade.

Palavras chaves: adstringência, conservação de forragens, forrageiras do semiárido, proantocianidina

# CHARACTERIZATION OF CONDENSED TANNINS MANIÇOBA OF TWO SPECIES AND RELATED

#### **ABSTRACT**

The objective of this study was to characterize the condensed tannin (CT), the concentrations of soluble tannin (ST), bound tannin (TL) and total tannin (TT) of (Manihot pseudoglazovii Pax & Hoffman), and related species, these analyzes were determined by butanol-HCL, and astringency radial diffusion method. It was observed differences between species in relation to the concentration and astringency (P < 0.05) of tannins. Access cassava had the highest values (12.7% TT). Manicoba showed low values (0.9% to 5.3% TT TT) and pormuncia (10.9% TT). The average value presented for maniçoba TT was 2.4%; for cassava TT 12.7%; for pormuncia 10.9% TT. There was no effect at concentrations of TL and astringency. The observed values were below those considered beneficial (5%) for ruminal digestion. The objective of this study was to characterize the condensed tannin (CT), the concentrations of soluble tannin (ST), bound tannin (TL) and total tannin (TT) of (Manihot pseudoglazovii Pax & Hoffman), and related species, these analyzes were determined by butanol-HCL, and astringency radial diffusion method. It was observed differences between species in relation to the concentration and astringency (P <0.05) of tannins. Access cassava had the highest values (12.7% TT). Manicoba showed low values (0.9% to 5.3% TT TT) and pormuncia (10.9% TT). The average value presented for maniçoba TT was 2.4%; for cassava TT 12.7%; for pormuncia 10.9% TT. There was no effect at concentrations of TL and astringency. The observed values were below those considered beneficial (5%) for ruminal digestion.

Key words: astringency, fodder conservation, fodder in the semiarid, proanthocyanidin

\_

Parte da dissertação de mestrado da primeira autora. UFPB. Areia-PB, Bolsista da CAPS/ PDIZ/UFPB. <a href="mailto:fabianasantiagobeltrao@yahoo.com.br">fabianasantiagobeltrao@yahoo.com.br</a>,

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup>Professor Adjunto - Departamento de Zootecnia – UFPE,

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup>Professor Adjunto - Departamento de Zootecnia - UFPB

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup>Professor Adjunto - Departamento de Biologia Molecular- UFPB,

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup>Aluna de Doutorado do PEDIZ/PPGZ/UFPB

## 1. INTRODUCÃO

As condições adversas de clima e processos de ocupação humana, aliada a ausência de políticas de conservação dos recursos naturais levou a região Nordeste do país a estágios de desertificação ao longo dos anos, esta seca prolongada que vem se acentuando nas últimas décadas. Os ambientes profundamente alterados revelam uma grande perda de diversidade biológica que exige ações rápidas no sentido de encontrar medidas que preservem áreas remanescentes que venham garantir a manutenção dos ecossistemas na região semiárida e subsidiar estudos de uso sustentável dos recursos, uma vez que estes ambientes mostram-se com muitas potencialidades. O conhecimento destas potencialidades bem as formas de como se manejar racionalmente esse ecossistema toma-se indispensáveis aos planos de gestão dos recursos naturais.

Com os sucessivos desmatamentos e o manejo inadequado das pastagens houve comprometimento um elementos estabilizadores do ambiente. A caatinga é a vegetação predominante no semiárido nordestino e apresenta um número muito elevado de espécies botânicas. muitas das quais (Salviano; Soares, 1993) como importantes forrageiras, sem, no entanto terem seu real potencial avaliado. Sabendo-se da

importância da manutenção e/ou recuperação da biodiversidade, torna-se evidente a necessidade de complementar estudos de composição florística do estrato herbáceo de nossa caatinga, suas condições intrínsecas e extrínsecas para subsidiar estratégias à conservação e manejo desse ecossistema. Beelen (2002), estudando leguminosas nativas (jurema preta, mororó e sabiá) detectou a presença de alta concentração de tanino condensado nestas forrageiras, sendo de 20,67% para a jurema preta, 12,73% para o mororó e 20,11% para o sabiá.

Nozella (2001), estudando plantas com potencial forrageiro para ruminantes detectou concentração de tanino condensado no angico (Anadenanthera macrocarpa benth) de 9%, feijão bravo (Capparis flexuosa, L) de 1,4%, leucena (Leucaena leucocephala) de 10%, gliricidia (Gliricidia sepium) de 0,3%, na maniçoba (Manihot pseudglaziovii Pax e Hoffmann.) de 0,9%. Segundo Longo (2002), estudando níveis crescentes de feno de leucena (Leucaena leucocephala) na dieta de ovinos afirmou que a presença de tanino condensado reduziu as excreções de N nas fezes dos animais. Os taninos têm um importante papel na nutrição animal, podendo exercer efeitos adversos e/ou benéficos na utilização de nutrientes, saúde e na produção animal. O principal impacto dos taninos na nutrição animal

deve-se às habilidades desses compostos em formar complexos com vários tipos de moléculas (Nozella, 2001). São considerados efeitos benéficos dos taninos na nutrição de ruminantes a prevenção do timpanismo; o aumento do fornecimento de proteína "by-pass" (proteína não degradada no rúmen) e digestível no intestino delgado, e a melhora da utilização de aminoácidos essenciais da dieta. Esses efeitos são observados quando o teor de tanino é até 5% (Brandes & Freitas, 1992). Efeitos negativos dos taninos sobre a nutrição incluem: redução no consumo e da digestibilidade; inibição de enzimas digestíveis e perdas de proteínas endógenas (Getachew; Makkar; Becker, 2000). A diminuição da aceitabilidade das forrageiras também pode ser provocada pelo tanino, em função de adstringência. A adstringência é a sensação causada pela formação de complexos entre os taninos e as glicoproteínas salivares, o que pode aumentar a salivação e diminuir a aceitabilidade do alimento (Reed, 1995). Quanto menor a aceitabilidade, menor a ingestão de alimento e, por consequência, a produtividade animal. De acordo com Silva e Medeiros (2003), a adoção de cultivos de espécies forrageiras nativas da caatinga, o uso eficaz de conservação de forragem, silagem feno, manipulação da caatinga, são práticas que deverão ser aplicadas nos sistemas de produção dos produtores na região semiárida do Nordeste, para se ter eficiência na pecuária de pequenos ruminantes. Considerando que poucos estudos tem se preocupado em avaliar a concentração e adstringência de taninos condensados em forrageiras nativas do semiárido, assim como encontrar formas de neutralizar seus efeitos anti-nutricionais, esse trabalho foi conduzido com os objetivos de caracterizar os taninos condensados espécies presentes das maniçoba, mandioca e um hibrido entre as duas espécies (pormuncia).

### MATERIAL E MÉTODOS

Para a determinação do tanino condensado foram estudados dezesseis acessos de plantas do gênero Manihot do Estado da Paraíba. Os locais para coleta dos acessos de maniçoba ficam as margens da BR-104 que liga as cidades de Remígio (PB) a Barra de Santa Rosa (PB), os acessos de mandioca e pormuncia foram coletadas no município de Areia (PB). Estes acessos de maniçoba, mandioca e pormuncia foram multiplicados através de estaquia em uma área experimental do Programa de Pós-Graduação em Zootecnia (PPGZ/CCA/UFPB). A coleta do material foi realizada nas plantas cultivadas, quando as mesmas apresentavam-se com seis messes, e no início da floração. Foram

coletadas 80 amostras, sendo cada uma constituída de 300 g de folhas e ramos em início de floração. Uma vez colhidas, as amostras foram picadas em forrageira e acondicionadas em sacos de papel e colocadas em estufa a 40 °C para possibilitar a moagem por um período mínimo de 72 horas. Posteriormente todas as amostras foram moídas passando por peneira de 5 mm. Em seguida foram novamente moídas passando em peneira de 1 mm e acondicionadas em recipientes de vidro devidamente identificados serem submetidas à análise química. Para a análise da concentração de tanino solúvel (TS), tanino ligado ao resíduo sólido (TL), tanino total (TT) foi utilizado o método butanol-HCl descrito por Terrill et al. (1992), no qual uma alíquota de 10 mg das amostras, em duplicata, teve seus taninos condensados solúveis extraídos por uma mistura de 2,5 mL de acetona aquosa a 70% com ácido ascórbico a 0,1% e 2,5 mL de dietil éter. Após remoção dos solventes por evaporação, o extrato foi ajustado para 5 mL com água destilada, centrifugado e separado do resíduo sólido. Em seguida foram adicionados 1,8 mL de butanol-HCL a 5% em alíquotas de 0,3 mL do extrato e levados a banho-maria a 95 °C por 70 minutos. Os taninos condensados ligados ao resíduo foram determinados por adição de 0,7 mL de água destilada e 4,2 mL de butanol-HCL a 5% e levados a banho-

maria a 95 °C por 70 minutos. Em ambos os casos, as amostras tiveram suas 550 absorbâncias lidas nm em espectrofotômetro (FENTO - 600PLUS) e o resultado convertido em % de tanino de Jurema Preta, com base na equação de regressão das curvas padrão feitas a partir do tanino condensado purificado de Jurema Preta. A concentração total em taninos condensados foi obtida pela soma das frações solúvel e ligada ao resíduo (Mupangwa al., 2000). Para et determinação da curva padrão usado no método de butanol-HCL utilizou-se o tanino purificado da Jurema Preta (*Mimosa* hostilis) por ser uma planta nativa do semiárido do Nordeste, como as plantas plantas do gênero Manihot. Α concentração em tanino condensado foi calculada com base na curva padrão de jurema preta. A equação de regressão das curvas geradas pelo ensaio de butanol-HCl foi Y = 1.18 + 0.022,  $R^2 = 0.94$ . Foram usadas alíquotas de 0,5 mg concentrações conhecidas do tanino condensado de Jurema Preta. Essas reagiram em triplicata com butanol-HCL a 5% e foram lidos em espectrofotômetro (FENTO - 600PLUS) a 550 nm para a obtenção da curva-padrão. Para determinação da adstringência dos taninos foi utilizado o método de difusão radial (Hagerman, 1987). Os taninos difundiram através de um gel de agarose com proteína sérica bovina (BSA) e formaram um precipitado em forma de anel, cujo diâmetro foi considerado proporcional a sua capacidade de precipitar proteínas (adstringência). Alíquotas de 8 µL de extrato das plantas foram colocadas em placas de petri contendo 9,5 mL de gel de uma mistura de agarose a 1% e BSA a 0,1% em solução tampão de ácido acético a 0,3% com 0,001 g de ácido ascórbico, ajustadas a um pH de 5 com hidróxido de sódio. A quantidade de taninos ativos presentes na solução que reagiu com o BSA foi determinada pela medida do anel formado após 72 horas de incubação em estufa a 35 °C e a quantidade, em mg, de proteína precipitada foi calculada pela fórmula: volume (mL) x concentração de proteína (mg/mL) / peso da amostra, onde o volume é determinado pela altura do agar

e comprimento dos raios antes e após incubação. Os dados obtidos foram submetidos à análise multivariada e fez-se uma comparação de médias pelo teste de Tukey sendo as médias obtidas pelo PROC GLM do SAS (Sas, 2001).

#### Resultados e Discussão

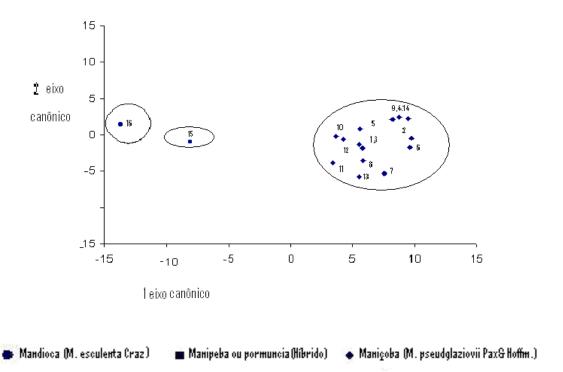
Na análise dos taninos totais, adstringência, e taninos solúveis dasplantas do gênero *manihot* observou-se diferenças significativas (p <0,05) entre os acessos, a partir da análise de variância e do teste f, que separaram claramente os três grupos. As médias em % de todos os caracteres, bem como o teste t, para contrastes entre as médias das populações para os caracteres que apresentaram diferenças significativas pelo teste f, encontram-se sumarizados na Tabela 1.

**Tabela 1.** Médias em cm para análise do teor de taninos nos caracteres analisados em 14 acessos de *Manihot pseudoglaziovii*, *M. esculenta* e do híbrido (pormuncia).

Acesso	TT (%MS)
1 Maniçoba	2,8 <sup>BC</sup>
2 Maniçoba	$4.2^{\mathrm{BC}}$
3 Maniçoba	3,9 <sup>BC</sup>
4 Maniçoba	$1.9^{\mathrm{C}}$
5 Maniçoba	$4,0^{\mathrm{BC}}$
6 Maniçoba	1,5 <sup>C</sup>
7 Maniçoba	$2.9B^{C}$
8 Maniçoba	$0,2^{\mathrm{C}}$
9 Maniçoba	$3,0^{\mathrm{BC}}$
10 Maniçoba	$0.9^{\mathrm{C}}$
11 Maniçoba	$2,8^{\mathrm{BC}}$
12 Maniçoba	$3.3^{\mathrm{BC}}$
13 Maniçoba	1,9 <sup>C</sup>
14 Maniçoba	5,3 <sup>BC</sup>
15 Pormuncia	10,9 <sup>AB</sup>
16 Mandioca	12,7 <sup>A</sup>

Pela análise discriminante canônica verificou-se que o primeiro eixo canônico, que representa 54 % da variação, separou os acessos em três grupos distintos. Embora as espécies de *M. esculenta* e o hibrido natural sejam espécies diferentes da maniçoba, estas estão em grupos separados, o primeiro e o segundo eixos

representam 98 % da variação total observada. A partir das distâncias de euclidianos médios, observa-se que em relação ao teor de tanino, as plantas do gênero *Manihot* se dividem em três grupos distintos, em concordância com os dois eixos da análise discriminante canônica (Figura 1).



**Figura 1**. Gráfico obtido pela analise discriminante canônica entre os acessos de *M. esculenta*, *M. pseudoglaziovii* e do híbrido (pormuncia).

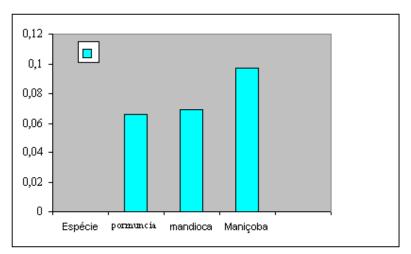
O método de agrupamento foi concordante, indicando que os grupos são bem definidos. Pela análise observou-se que o grupo 1, que contém o acesso 16, é o que possui o menor valor para o teor de tanino (12,7% TT), o que também é confirmado pela análise canônica, onde se

nota a sobreposição desses acessos de acordo com os dois eixos. O grupo 2 formado pelo acesso 15 possui valor alto de taninos totais (10,9% TT). O grupo 3 formado pelos acessos de maniçoba apresenta valores baixos de taninos totais (0,9% a 5,3% TT). Observou-se a

ocorrência de médias diferentes na análise do teor de tanino totais de todos os acessos de maniçoba (Tabela 1). A maniçoba apresentou valores de tanino ligados ao resíduo variando de 0,90% a 5,3%, enquanto que a mandioca e pormuncia apresentaram valores de 12,7% e 10,9% respectivamente. Santa Cruz (2005)observou que o teor de tanino ligado ao resíduo na maniçoba foi de 1,1%, valor inferior aos encontrados na maioria dos de manicoba avaliados neste trabalho. Os valores de Ms encontrados na

maniçoba variaram de 91% a 79%, enquanto que na mandioca e na pormuncia foram de 90,9% e 76,1% respectivamente.

Não foram observadas diferenças significativas entre as espécies quanto à concentração e adstringência dos taninos condensados. A maniçoba apresentou valores médios de taninos totais de 0,99% de adstringência, a mandioca apresentou valor de 0,0,68% de adstringência e a pormuncia apresentou 0,665 de adstringência (Figura 2).



**Figura 2**. Gráfico obtido da diferença da adstringência entre os acessos de *M. esculenta*, *M. pseudoglaziovii* e do híbrido (pormuncia).

Foram detectados valores muito baixos relativos à presença de tanino condensado e solúvel, que são a fração que se encontraria livre na planta, normalmente localizada nos vacúolos. Uma vez o tecido vegetal rompido, pelo corte mecânico de forrageiras ou pela mastigação, por exemplo, esta fração pode se complexar com proteínas e carboidratos. Segundo

Longo (2002) a temperatura é um dos fatores que pode transformar tanino solúvel em tanino ligado. Neste estudo, a présecagem do material in natura foi feito a uma temperatura de 40 °C. Mesmo assim foram observados valores de tanino ligado superiores aos de tanino solúvel, se comparado ao feno feito à sombra. Longo (2002), estudando níveis crescentes de

adição de feno de leucena (mais de 10% de tanino condensado) na dieta de ovinos da raça Santa Inês, observou que a digestibilidade das fibras diminuíram com o aumento da concentração de leucina. O mesmo autor supõe que a concentração de tanino condensado da leucena e a qualidade da fibra foram os responsáveis pela diminuição da digestibilidade.

Beelen (2002), estudando os taninos de Jurema Preta, Sabiá e Mororó, observou que a alta concentração de tanino condensado presente nessas plantas influenciou negativamente a degradação ruminal da matéria seca, proteína bruta, e fibra em detergente neutro, como também diminuiu o consumo, a adesão microbiana às folhas das forrageiras e reduziu a atividade enzimática no conteúdo ruminal em caprinos. Na fração de tanino ligado ao resíduo houve efeito significativo. A maniçoba apresentou concentração tanino ligado de 1,11% na forma in natura. A concentração de tanino total é um indicativo da presença de tanino condensado na composição química da planta. A adstringência dos taninos solúveis variou significativamente entre as geral, espécies. Em os valores adstringência dos taninos neste trabalho foram muito baixos. O tanino de maniçoba apresentou 12,3<sup>-3</sup> % de adstringência para a forma in natura. Alguns autores associam a adstringência dos taninos condensados ao

percentual de prodelfinidina. No entanto, essa associação pode ser mais complexa, uma vez que a adstringência dos taninos parece estar ligada não somente a sua composição em monômeros, como também ao arranjo espacial desses monômeros na molécula de tanino (Beelen, 2002).

#### **CONCLUSÃO**

A concentração e adstringência dos taninos condensados das forrageiras variaram entre os acessos de maniçoba, mandioca e pormuncia. Os acessos de mandioca maniçoba, pormuncia estudados possuem baixa concentração de tanino condensado podem ser consideradas boas forrageiras.

#### REFERÊNCIAS

- BEELEN, P. M. G. Taninos condensados de leguminosas nativas do semiárido nordestino. 2002. 71 f. Tese (Doutorado em Zootecnia) – Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, 2002.
- GETACHEW, G.; MAKKAR, H.P.S.; BECKER, K. Effect of polyethylene glycol on in vitro degradability of nitrogen and microbial protein synthesis from tannin-rich browse and herbaceous legumes. **British Journal of Nutrition** v.84, p.73-83, 2000.
- HAGERMAN, A. E. Radial diffusion method for determining tannins in plant extracts. *J. Chem. Ecol.*, v. 13, p. 437-439, 1987.
- LONGO, C. Avaliação do uso da Leucaena leucocephala na dieta de ovinos da raça Santa Inês sobre consumo, digestibilidade e retanção

- de Nitrogênio. 2002. Dissertação (Mestre em ciências) **Universidade de São Paulo** Piracicaba. 2002.
- MUPANGWA, J. F.; ACAMOVIC, T; TOPPS, J H.; NGONGONI, N. T.; HAMUDIKUWANDA, H. Content of soluble and bound condensed tannins of three tropical herbaceous forage legumes. *Anim. Feed Sci. Techn.*, v. 83, n. 2, p.139-144, 2000.
- NOZELLA, E. F.; Determinação de tanino em plantas com potencial forrageiro para ruminantes. Piracicaba, 2001. 58p. **Dissertação** (Mestrado) Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, 2001.
- REED, J. D. Nutritional Toxicology of tannins and related polyphenols in forage legumes. J. Anin. Sci., v73, n5, p1516-1528, 1995.
- SANTA CRUZ, S.E.S.B. Influencia do método de fenação sobre a

- Composição Química-Bromatólogica e digestibilidade de quatro especies forrageiras do semi-árido nordestino, Goiana-Goias, **Anais**, Goiana, 42<sup>0</sup> SBZ, 2005.
- SALVIANO, L.; SOARES, J. Feno de maniçoba. 2003. Disponível em:< <u>www.caprilcurralvelho.com.br/info</u> <u>-15.php</u>> Acesso em: 23/09/2003.
- SILVA, D. S; MEDEIROS, A.N. Eficiência do Uso dos Recursos da Caatinga: Produção e Conservação. II Simpósio Internacional sobre Caprinos e Ovinos de Corte João Pessoa. **Anais.** João Pessoa SINCORTE, 2003 p. 571 582.
- TERRILL, T.H.; ROWAN, A.M.; DOUGLAS, G.B.; BARRY, T. N. Determination of extractable and bound condensed tannin concentration in forage plants, protein concentrate meals and cereal grains. *J. Sci. Food Agric.*, v.58, n. 3, p. 321-329. 1992.