

Fósforo total, fósforo fítico y actividad fitásica en los frutos de árboles forrajeros de los Llanos Centrales de Venezuela

P. Pizzani¹, Susmira Godoy², Adelis Arias³, D.E. García^{4*} y Zoraida Linares²

¹ Universidad Rómulo Gallegos, Área Agronomía, Apdo. 4563, San Juan de Los Morros, edo. Guárico, Venezuela

² Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas (INIA), Lab. de Nutrición Animal, Maracay, edo. Aragua, Venezuela

³ Universidad Nacional Experimental de los Llanos Centro Occidentales “Ezequiel Zamora”, edo. Barinas, Venezuela

⁴ INIA, Estación Experimental del estado Trujillo, Pampanito, edo. Trujillo, Venezuela

E-mail: *dagamar8@hotmail.com

Resumen

Con el objetivo de conocer la concentración de fósforo total (PT), fósforo fítico (PF) y la actividad fitásica intrínseca (AFi) de algunos frutos de árboles de interés forrajero de los Llanos Centrales de Venezuela: samán (*Pithecellobium saman*), carocaro (*Enterolobium cyclocarpum*), cují hediondo (*Acacia macracantha*), cañafistolillo (*Cassia emarginata*), caruto (*Genipa americana*), dividive (*Caesalpinia coriaria*), granadillo (*Caesalpinia granadillo*), guamacho (*Pereskia guamacho*), tiamo (*Acacia glomerosa*), guácimo (*Guazuma ulmifolia*), merecure (*Licania pyrifolia*) y cují blanco (*Prosopis juliflora*), se realizó un ensayo mediante un diseño totalmente aleatorizado y diez réplicas. Los resultados indicaron valores de PT entre 0,08 y 0,38% y los contenidos de PF oscilaron entre 0,02 y 0,28%; ambas variables presentaron diferencias significativas entre especies ($P < 0,05$). *P. guamacho* mostró la mayor concentración de PT y PF. El 91,7% de los frutos registraron AFi superiores a 100 Ukg^{-1} ; el resto mostró valores entre 94 y 95 Ukg^{-1} . El contenido de PF estuvo altamente correlacionado con la concentración de PT ($r = 0,97$; $P < 0,01$). Sin embargo, la AFi no presentó relación significativa con los valores de PT y PF. Solo *L. pyrifolia* registró un valor inferior (0,08%). El contenido de PF, como porcentaje de la concentración del PT, fue superior en *C. granadillo* (92%), *P. juliflora* (75%) y *C. coriaria* (75%), e inferior en *L. pyrifolia* (25%). Se considera que los frutos de los árboles evaluados representan un recurso con potencialidades nutricionales para complementar los requerimientos de fósforo de los rumiantes en la época de sequía.

Palabras clave: Fitatos, fósforo, fruto

Introducción

En la mayoría de las áreas de pastoreo de los países tropicales, los suelos y los forrajes presentan marcadas deficiencias de algunos elementos minerales, principalmente de fósforo (P). Los estudios realizados en Venezuela sobre la concentración mineral en el suelo, las plantas y los animales señalan que la carencia de P es predominante en las sabanas del país (Chicco y Godoy, 1987). Bajo estas condiciones, los rumiantes en pastoreo deben ser suplementados con mezclas minerales que contengan alrededor de 50-60% de una fuente inorgánica de P. Por otro lado, los pastos y otros forrajes presentan deficiencias de nitrógeno y baja digestibilidad, por lo que

los animales de elevados requerimientos, en las épocas más críticas del año, deben ser suplementados con alimentos concentrados, elaborados con granos de cereales, oleaginosas y sus subproductos. En estos ingredientes alimenticios el p se encuentra principalmente en forma de fitatos (70–80%), el cual es considerado un factor antinutricional que limita su utilización por los animales no rumiantes (Godoy *et al.*, 2005).

Los rumiantes utilizan estas fuentes orgánicas de p, mediante la hidrólisis enzimática, a partir de las fitasas producidas por los microorganismos del rumen y, en menor proporción, por las fitasas propias de las fuentes de origen vegetal. Sin embargo, los costos de estos ingredientes limitan su utilización. Es por ello que en los países latinoamericanos se han realizado numerosas investigaciones tratando de incorporar otros sustratos nutritivos como estrategias de alimentación, para incrementar la producción animal en condiciones tropicales; específicamente ofreciéndole al ganado una mayor cantidad de proteína, energía y minerales que, en sentido general, se encuentran de forma deficitaria en los pastos (Pizzani *et al.*, 2006). En este sentido, los frutos de los árboles de interés forrajero representan una excelente alternativa para la alimentación de los rumiantes en pastoreo y, a su vez, ha sido un recurso poco evaluado desde el punto de vista nutricional en Venezuela y en otros países suramericanos, por lo que el objetivo del presente trabajo fue determinar la concentración de fósforo total (PT), fósforo fítico (PF) y la actividad fitásica intrínseca (AFi) de algunos frutos de los árboles de interés forrajero de los Llanos Centrales de Venezuela.

Materiales y Métodos

Localización, recolección y preparación de la muestra. El área de muestreo estuvo representada por cinco fincas (Los Araguanes, Los Dividives, La Felipera, Las Puyitas y La Zamoreña), localizadas en el municipio José Tadeo Monagas, estado Guárico, Venezuela, las cuales presentan condiciones edafoclimáticas muy similares entre sí. El área se caracteriza por la presencia de colinas de poca altura (159 y 350 msnm), con una gran heterogeneidad orográfica, florística y de vegetación. Geográficamente, esta zona pertenece a la sección norte de los Llanos Centrales Altos, enmarcada entre los 9°35'00''-9°58'00'' de latitud Norte y 66°05'00''-66°35'00'' de longitud Oeste. En el momento de la recolección (de enero a marzo) todas las especies se encontraban en estado avanzado de fructificación y para la colección de los frutos maduros se consideraron todos los estratos de la planta (basal, medio y apical). Los frutos se secaron en una estufa con ventilación forzada a 55°C durante 48 h, se molieron en un molino de martillo (Thomas, USA) con una criba de 1 mm de diámetro y se almacenaron en frascos herméticos hasta el momento del análisis.

Las especies arbóreas en estudio fueron: samán (*Pithecellobium saman*), carocaro (*Enterolobium cyclocarpum*), cují hediondo (*Acacia macracantha*), cañafistolillo (*Cassia emarginata*), caruto (*Genipa americana*), dividive (*Caesalpinia coriaria*), granadillo (*Caesalpinia granadillo*), guamacho (*Pereskia guamacho*), tiamo (*Acacia glomerosa*), guácimo (*Guazuma ulmifolia*), merecure (*Licania pyrifolia*) y cují blanco (*Prosopis juliflora*).

Cuantificación de fósforo total y fósforo fítico. La cuantificación de PT y PF en los frutos maduros de los árboles se realizó de acuerdo con la metodología propuesta por la AOAC (1990) y el procedimiento descrito por Harland y Oberleas (1977), respectivamente. Para la determinación del PF, en la etapa de intercambio iónico, el proceso

de precipitación fue eliminado y la extracción del fitato se realizó directamente. La solución resultante fue pasada a través de una resina de intercambio iónico, eluyendo primero el P y después el fitato.

Determinación de la actividad enzimática. La actividad fitásica intrínseca se determinó por el método de Bitar y Reinhold (1972). La muestra molida y tamizada de cada fruto (1g) fue diluida en una solución tampón tris-HCl (0,02 M) a un pH de 7,5; homogeneizada y centrifugada a 400 rpm durante 30 minutos. Las muestras fueron incubadas a 37°C durante 5, 15 y 30 minutos, para lo cual se utilizó una solución tampón de acetato (0,25 M) a un pH equivalente al del tracto digestivo (pH: 5,2–5,6). Posteriormente, las muestras se incubaron con el sustrato fitato de sodio 5 mM (A), y sin fitatos (B), más un blanco con fitato de sodio (C). Al finalizar el período de incubación, se interrumpió la reacción con 3 mL de ácido tricloroacético al 20%; las muestras se centrifugaron a 1 000 rpm durante 10 minutos, y el P inorgánico (Pi) liberado en el sobrenadante se determinó por el método de Fiske y Subbarrow (1925).

El P liberado de la molécula de fitato de la muestra A fue corregido, restando el Pi presente en la muestra B y en el blanco C, y se expresó como μmol de Pi liberado/g/mL/min. La actividad fitásica se calculó de la siguiente manera: $\text{unidad de fitasa kg}^{-1} = (P \times 1\,000)/(\text{peso} \times \text{tiempo})$, donde P es el fósforo, expresado en micromoles de P liberado por la fitasa en 60 minutos, peso de la muestra (g) y tiempo de 60 minutos de incubación. Según este método, se define como la unidad de fitasa la cantidad de Pi liberado por minuto, de una solución de fitato de sodio (5mM) a una tasa de $1\mu\text{mol/minuto}$, y pH de 5,5, a 37°C.

Diseño experimental y análisis estadístico. Se utilizó un diseño totalmente aleatorizado con diez réplicas por especie. Los frutos evaluados constituyeron los tratamientos. El análisis de los datos se realizó mediante el paquete estadístico SPSS versión 10.0 para Windows (Visauta, 1998) y se usó la prueba de comparación de Duncan para $P < 0,05$. Las correlaciones lineales se realizaron con el mismo paquete estadístico y se empleó el coeficiente de correlación de Pearson.

Resultados y Discusión

El contenido de PT y PF de los frutos de los árboles de interés forrajero en estudio se presenta en la tabla 1. Los valores de PT oscilaron entre 0,08% y 0,38%. Los menores contenidos de PT los presentaron los frutos de *L. pyrifolia* (0,08%), *A. glomerosa* (0,12%) y *C. coriaria* (0,12%), el mayor valor de este mineral lo registró *P. guamacho* (0,38%), con diferencias significativas ($P < 0,05$) respecto al resto. Resultados similares, en cuanto a las diferencias entre las especies, fueron informados también por Benezrra *et al.* (2003), al evaluar el nivel de este macroelemento en *P. saman*, *E. cyclocarpum*, *A. macracantha* y *C. granadillo*. El 92% de los frutos presentó contenidos superiores al valor promedio reportado para los pastos tropicales (0,10% PT).

Tabla 1. Contenido de fósforo total, fósforo fítico y actividad fitásica de algunos frutos de árboles de interés forrajero en Venezuela.

Frutos	P Total (%)	P Inorgánico (%)	P Fítico (%)	P Fítico (% del P total)	AFi U/kg
<i>A. glomerosa</i>	0,12 ± 0,002 ^c	0,05 ± 0,001	0,07 ± 0,001 ^c	58 ± 0,10 ^c	104 ± 2,50
<i>L. pyrifolia</i>	0,08 ± 0,001 ^c	0,06 ± 0,001	0,02 ± 0,001 ^c	25 ± 0,02 ^d	95 ± 1,55
<i>C. coriaria</i>	0,12 ± 0,001 ^c	0,03 ± 0,001	0,09 ± 0,001 ^c	75 ± 0,10 ^b	103 ± 2,50
<i>P. guamacho</i>	0,38 ± 0,003 ^a	0,10 ± 0,001	0,28 ± 0,003 ^a	74 ± 0,10 ^b	104 ± 1,22
<i>C. granadillo</i>	0,13 ± 0,002 ^c	0,01 ± 0,001	0,12 ± 0,001 ^c	92 ± 0,10 ^a	105 ± 1,55
<i>A. macracantha</i>	0,29 ± 0,001 ^b	0,08 ± 0,001	0,21 ± 0,001 ^b	72 ± 0,22 ^b	106 ± 1,77
<i>G. americana</i>	0,15 ± 0,001 ^c	0,05 ± 0,001	0,10 ± 0,001 ^c	67 ± 0,23 ^b	107 ± 1,50
<i>G. ulmifolia</i>	0,22 ± 0,001 ^b	0,07 ± 0,001	0,15 ± 0,001 ^c	68 ± 0,24 ^b	109 ± 1,50
<i>C. emarginata</i>	0,14 ± 0,001 ^c	0,04 ± 0,001	0,10 ± 0,001 ^c	71 ± 0,10 ^b	111 ± 0,50
<i>E. cyclocarpum</i>	0,25 ± 0,001 ^b	0,07 ± 0,001	0,18 ± 0,001 ^b	72 ± 0,11 ^b	109 ± 0,50
<i>P. juliflora</i>	0,16 ± 0,001 ^c	0,04 ± 0,001	0,12 ± 0,001 ^c	75 ± 0,22 ^b	113 ± 1,44
<i>P. saman</i>	0,25 ± 0,001 ^b	0,07 ± 0,001	0,18 ± 0,001 ^b	72 ± 0,20 ^b	109 ± 0,56

Media ± Error estándar (n=10).

a, b, c Promedio en la misma columna con distintas letras presentan diferencias entre sí (P<0,05).

Es importante destacar que no se encontró literatura relacionada con el contenido de PF y AFi en los frutos de los árboles de interés forrajero. En tal sentido, las comparaciones se realizaron con el follaje de los árboles forrajeros y con otros sustratos alimenticios.

Los contenidos de PF oscilaron entre 0,02 y 0,28%; un rango similar reportaron García *et al.*, (2006), quienes evaluaron el follaje de especies arbóreas tropicales (*Albizia caribaea*, *Albizia lebbbeck*, *Cassia fistula*, *Cassia grandis*, *Pithecellobium dulce* y *P. saman*) en el estado Trujillo (PF: 0,10-0,22%), y coincide también con lo informado por García *et al.* (2008a) en el follaje de numerosas accesiones de *Leucaena leucocephala* (PF: 0,07-0,10%). Sin embargo, los resultados del presente estudio fueron superiores a los informados por García *et al.*, (2008b) en los folíolos de *Leucaena macrophylla* (PF: 0,03-0,04%) y a los reportados por García *et al.* (2008c) en 19 accesiones de *L. leucocephala* pertenecientes a la línea CIAT (PF: 0,03-0,05%). Considerando los resultados de esta investigación y los informados por otros autores, es posible que el nivel de PF en los frutos de las especies tropicales sea superior al de los follajes, aspecto que coincide con las descripciones generales realizadas por Godoy *et al.* (2005) y por García *et al.* (2006), con relación a que los fitatos se encuentran en mayor concentración en las semillas, comparados con otros órganos de las plantas.

La mayor concentración de PF correspondió a los frutos de *P. guamacho* (0,28%) y los menores valores los registraron los frutos de *A. glomerosa* (0,07%) y *L. pyrifolia* (0,02%). El contenido de PF, como porcentaje de la concentración del PT, fue superior para *P. juliflora* (75%) y *C. coriaria* (75%), e inferior para *L. pyrifolia* (25%). Similares proporciones obtuvieron Godoy *et al.* (2005), quienes evaluaron el contenido de PF en los cereales, las semillas oleaginosas y en algunos de sus subproductos agroindustriales.

El 91,7% de los frutos evaluados registraron AFi superiores a 100 Ukg⁻¹ (103-113 Ukg⁻¹). Estos valores son similares a los reportados por Godoy *et al.* (2005) para el arroz (112 Ukg⁻¹) y la pulitura de arroz (134 Ukg⁻¹). El resto de los frutos mostró valores entre 94 y 95 Ukg⁻¹, por lo que se consideran sin AFi, según las aseveraciones realizadas por Bitar y Reinhold (1972), Eeckhout y de Paepe (1994) y Maenz y Classen (1998). En tal sentido, es

de esperar que el PF sea hidrolizado, tanto a nivel ruminal como posruminal, por acción de las fitasas endógenas en el rumen y en el epitelio intestinal (Park *et al.*, 2002, Pizzani *et al.*, 2008) y por las enzimas presentes en los diferentes materiales evaluados.

Por otra parte, el contenido de PF estuvo altamente correlacionado ($r=0,97$; $P<0,01$) con la concentración de PT de los frutos (tabla 2). Sin embargo, en este trabajo no se encontraron correlaciones significativas entre el nivel de PF y la AFi; similares resultados fueron reportados por Eeckhout y De Paepe (1994) en alimentos de amplio uso en los animales.

Tabla 2. Correlación entre el contenido de fósforo total, fósforo fítico y actividad fitásica de algunos frutos de árboles de interés forrajero en Venezuela.

	Pi	PF	AFi
PT	0,085	0,972**	0,263
Pi		0,004	0,113
PF			0,174

**($P<0,01$)

Godoy *et al.* (2005) encontraron altas correlaciones entre PT y PF en diversos ingredientes nutricionales utilizados tradicionalmente. En tal sentido, algunos investigadores proponen que el contenido en PF podría ser estimado a través de la cuantificación del PT (Lolas *et al.*, 1976). No obstante, actualmente la determinación del contenido de PF, a través de la concentración de PT, no es del todo admisible. Sin embargo, la existencia de otras variables tales como la concentración de glucosa, almidón, etc. podría estar correlacionadas con la concentración de PF y representaría una mayor aproximación a la realidad. Asimismo, en las cuantificaciones de PT y PF en los follajes no siempre se han obtenido relaciones sustanciales entre ambas variables (García *et al.*, 2008a, b, c). Sin embargo, la ausencia de correlación entre las fracciones de P y la actividad enzimática podría estar relacionada con aspectos inherentes a los métodos de cuantificación de cada componente o con el procedimiento de secado ($\geq 60^{\circ}\text{C}$) que se utilizó para los frutos enteros, el cual pudo afectar la concentración o la extracción de los fitatos y, de forma irreversible, la actividad de algunas enzimas (Agte *et al.*, 1999). Por otra parte, el estado de madurez de los frutos en el momento de la recolección constituye otro aspecto importante a considerar, ya que es bien conocido la influencia de este factor en el perfil fitoquímico de las especies vegetales y en la actividad enzimática y biológica de algunas macromoléculas de elevada repercusión fisiológica (García *et al.*, 2008a, b).

Probablemente, el contenido de glucosa y de otros polisacáridos no estructurales en los frutos tropicales, sea una variable promisorio para establecer relaciones pertinentes con el contenido de PF, debido a que el PF se sintetiza en las plantas a partir de la glucosa 6-P (McCance y Widdowson, 1935).

Conclusión

Los frutos de los árboles de interés forrajero representan un recurso valioso para complementar los requerimientos de P de los rumiantes. Los contenidos de PF en los frutos fueron bajos si se comparan con los de otros componentes utilizados para la alimentación animal en el trópico y el subtrópico. Sin embargo, en sentido

general, la cantidad de P en forma de fitatos en los alimentos estudiados no es despreciable, aspecto que se debe considerar cuando estos frutos formen parte importante de las dietas de los rumiantes.

Referencias bibliográficas

- Agte, V.V. *et al.* 1999. Phytate degradation during traditional cooking: significance of the phytic acid profile in cereal-based vegetarian meals. *Journal of Food Composition and Analysis*. 12: 161
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th ed. Association of Official Agricultural Chemistry. Washington, D.C., USA. 500 p.
- Benezrra, M. *et al.* 2003. Selección de especies leñosas en un bosque seco tropical por vacunos adultos usando análisis histológico fecal. *Zootecnia Trop.* 21 (1):73.
- Bitar, K. & Reinhold, H. 1972. Phytase and alkaline phosphatase activities in intestinal mucosa of rat, chicken, calf and man. *Biochem. Biophys Acta*. 268: 442
- Chicco, C.F. & Godoy, Susmira. 1987. Suplementación mineral de bovinos de carne a pastoreo. En: III Cursillo de Ganado de Carne. (Eds. D. Plasse y M. Peña). Universidad Central de Venezuela. Facultad de Ciencias Veterinarias. Maracay, Venezuela. p. 47
- Eeckhout, E. & De Paepe, A. 1994. Total phosphorus, phytate-phosphorus and phytase activity in plant feedtuffs. *Animal. Feed. Sci. Technol.* 47:19
- Fiske, C. & Subbarrow, E. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. *J. Biological Chem.* 66:375
- García, D.E. *et al.* 2006. Composición proximal, niveles de metabolitos secundarios y valor nutritivo del follaje de algunos árboles forrajeros tropicales. *Archivos de Zootecnia*. 55 (212):373.
- García, D.E. *et al.* 2008a. Evaluación de la calidad nutritiva de siete ecotipos de *Leucaena macrophylla* (Benth.) en un Suelo Ferralítico Rojo Lixiviado. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 25:43
- García, D.E. *et al.* 2008b. Variación interespecífica de la calidad nutricional de diecisiete accesiones de *Leucaena*. *Avances en Investigación Agropecuaria*. 12 (1):57
- García, D.E. *et al.* 2008c. Evaluación de diecinueve ecotipos de *Leucaena leucocephala* (Lam.) de Wit basada en la calidad nutritiva del forraje. *Zootecnia Trop.* 26(1):1
- Godoy, Susmira *et al.* 2005. Phytic phosphorus and phytase activity of animal feed ingredients. *Interciencia*. 30:24
- Harland, B.F. & Oberleas, D. 1977. A modified method for phytate analysis using an ion-exchange procedure: application to textured vegetable proteins. *Cereal Chem.* 54:827
- Lolas, G.M. *et al.* 1976. The phytic acid-total phosphorus relationship in barley, oats, soybeans and wheat. *Cereal Chem.* 53:867
- McCance, R.A. & Widdowson, E.M. 1935. Estimation of phytic acid. *Biochem J.* 29:2694
- Maenz, D. & Classen, H. 1998. Phytase activity in the intestinal brush border membrane of the chicken. *Poultry Sci.* 77:557

- Park, W.Y. *et al.* 2002. Heat treatment of rapeseed meal increases phytate flow into the duodenum of sheep. *Anim. Feed. Sci. Technol.* 88:31
- Pizzani, P. *et al.* 2006. Composición fitoquímica y nutricional de algunos frutos de árboles de interés forrajero de los Llanos Centrales de Venezuela. *Rev. Fac. Cienc. Vet.* 47 (2):43
- Pizzani, P. *et al.* 2008. Efecto de concentraciones crecientes de fósforo fítico sobre la actividad de las enzimas fitasa y fosfatasa alcalina en el epitelio intestinal de ovinos jóvenes. *Revista Científica, FCV-LUZ.* 18:59
- Visauta, B. 1998. Análisis estadístico con SPSS para Windows. En: Estadística multivariante. Mc-Graw-Hill-Interamericana. Madrid, España. 200 p.

Recibido el 14 de enero del 2009

Aceptado el 8 de abril del 2009