

Potentiality of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* as a nutraceutical for animal feeding

Potencialidad de la harina de forraje de *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum* como nutraceutico para la alimentación animal

Idania Scull Rodríguez¹, Lourdes Savón Valdés¹, Iraida Spengler Salabarría²,
Magalys Herrera Villafranca¹ and V. L. González Canavaciolo³

¹Dpto. Fisiología Digestiva y Bioquímica, Instituto de Ciencia Animal, Apartado Postal 24, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba

²Centro de Estudios de Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la Habana, Ciudad de La Habana, Cuba

³Centro de Productos Naturales, Centro Nacional de Investigaciones Científicas, Ciudad de La Habana, Cuba
Email: idascull@ica.co.cu

A completely randomized design with five repetitions was used to evaluate the nutraceutical value of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* for their use in animal feeding. The experiment was performed in September, on a brown soil with carbonate, without irrigation or fertilization. There were differences ($P < 0.05$) between the plant materials evaluated for the nutritional and nutraceutical indicators studied. The highest values of crude protein, true protein and neutral detergent fiber were obtained for *S. niveum* meal (277.97, 255.42, 625.51 g/kg DM). The content of linoleic, linolenic, stearic and palmitic acids in this meal suggests higher quality. The concentration of total carotenoids, total polyphenols, total tannins and total saponins was higher for *S. aterrimum* (136.08 ug/g, 25.20, 15.93 g/kg DM, 10.09 mg/100g), while the condensed tannins associated with fiber were lower (5.68 g/kg DM). The forage meal of *S. niveum* and *S. aterrimum* has high nutritional and nutraceutical value so it could favor the control of animal health, as well as improve their productivity and welfare. It is proposed to continue *in vivo* researchers that include meals in different formulations of diets.

Key words: nutritive, mucuna, polyphenols, fatty acids, tannins, carotenoids

Stizolobium spp. (common name mucuna) is a legume native from India, China and Malaysia, places where it has great acceptance as animal and human food not only for its low production cost and adaptability to different types of climates, but for its excellent nutritive properties (Chandra *et al.* 2016). It is a multipurpose species, known and used as a cover crop worldwide (Castillo and Caamal 2011), it is used as a nutritional supplement for animals (Caro and Dihigo 2012) and in traditional medicine for its hypoglycemic, anti-inflammatory and aphrodisiac properties (Tavares *et al.* 2015).

The mucuna seeds are consumed in some regions of Africa, as an alternative food to satisfy the growing protein demand of its inhabitants and improve its nutrition due to its high content of protein and other nutrients essential for the organism (Tresina and Mohan 2013). Forages are less used for these purposes; however, they also refer formidable

Se utilizó un diseño completamente aleatorizado, con cinco repeticiones para evaluar el valor nutraceutico de la harina de forraje de *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum* para su uso en la alimentación animal. El experimento se realizó en el mes septiembre, en un suelo pardo con carbonato, sin riego ni fertilización. Hubo diferencias ($P < 0.05$) entre los materiales vegetales evaluados para los indicadores nutritivos y nutraceuticos estudiados. Los valores mayores de proteína bruta, proteína verdadera y fibra detergente neutro se obtuvieron para la harina de *S. niveum* (277.97; 255.42; 625.51 g/kg MS). El contenido de los ácidos linoleico, linolénico, esteárico y palmítico en esta harina sugiere mayor calidad de la misma. La concentración de carotenoides totales, polifenoles totales, taninos totales y saponinas totales fue superior para el *S. aterrimum* (136.08 ug/g, 25.20, 15.93 g/kg MS, 10.09 mg/100g), mientras que los taninos condensados asociados a la fibra fueron inferiores (5.68 g/kg MS). La harina de forraje de *S. niveum* y *S. aterrimum* tiene alto valor nutricional y nutraceutico por lo que pudiera favorecer el control de la salud en los animales, así como mejorar su productividad y bienestar. Se propone continuar investigaciones *in vivo* que incluyan las harinas en diferentes formulaciones de las dietas.

Palabras clave: nutritivo, mucuna, polifenoles, ácidos grasos, taninos, carotenoides

El *Stizolobium spp.* (nombre común mucuna) es una leguminosa oriunda de la India, China y Malasia, lugares donde tiene gran aceptación como alimento animal y humano no sólo por su bajo costo de producción y adaptabilidad a diferentes tipos de climas, sino por sus excelentes propiedades nutritivas (Chandra *et al.* 2016). Es una especie multipropósito, conocida y utilizada como cultivo de cobertura en todo el mundo (Castillo y Caamal 2011), se emplea como suplemento alimenticio para los animales (Caro y Dihigo 2012) y en la medicina tradicional por sus propiedades hipoglicémicas, antiinflamatorias y afrodisiacas (Tavares *et al.* 2015).

Las semillas de mucuna se consumen en algunas regiones de África, como alimento alternativo para satisfacer la creciente demanda de proteína de sus habitantes y mejorar su nutrición debido a su alto contenido de proteína y otros nutrientes esenciales para el organismo (Tresina y Mohan 2013). Los forrajes son menos utilizados con estos fines, sin embargo, también

nutritional properties because they are a source rich in proteins, minerals and fibers. They also have a variety of secondary compounds such as flavonoids, phenolic acids, saponins and alkaloids that can have benefits for health and welfare, more than the basic diet can provide, these compounds give value added to meals as a functional food. In this context, a new relation between nutrition and health appears, which are the nutraceutical products. These can be defined as active chemical or biological components of a food or part of it that provides an added benefit to health including the prevention and treatment of diseases (Celis 2009).

The presence of phytochemical components linked to other bioactive ingredients of the plant such as fatty acids, carotenes and phytosterols are those can determine their nutraceutical properties and their significant role in the control and prevention of diseases and in the productive indicators of animals.

The objective of this study was to evaluate and compare the nutraceutical value of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* for their use in animal feeding.

Materials and Methods

Research area. The study was carried out in September, in an area of Ayala farm, from the Instituto de Ciencia Animal, located at 22°81' north latitude and 82°01' west longitude in San José de las Lajas Mayabeque province (Academia de Ciencias de Cuba 1989). Plants of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* were used, which were planted in brown soil with carbonate (Hernández *et al.* 2015), in a land of two hectares. No fertilization or irrigation was applied.

Meals preparation. The cut of the plants was carried out after 80 days of sowing, was manually done using knives, at 5 cm above the soil level when 100 % of the plants that were in the area were flowered (Díaz *et al.* 2003). The sampling was performed by the total cut of the plot and 50 cm of border effect was eliminated. Five points were randomly sampled for each of the varieties and ten plants were taken at each point, which constituted the samples for the analysis. The whole plant (leaves and stems) was cut and chopped, then dried at room temperature, in a ventilated room until approximately 20 % DM was obtained. The samples (n=5) were milled at a particle size of 1 mm and stored in amber bottles until the time of analysis.

Bromatological analysis. The dry matter (DM), crude protein (CP) and ash were determined according to AOAC (1995). The true protein was analyzed according to Bernstein (1983) cited by Meir (1986).

Mineral composition. The macro and microelements were analyzed by atomic absorption spectrophotometry according to the procedures of the data book (Atomic

refieren formidables propiedades nutritivas ya que son una fuente rica en proteínas, minerales y fibras. Además, poseen gran variedad de compuestos secundarios como flavonoides, ácidos fenólicos, saponinas y alcaloides que pueden tener beneficios para la salud y el bienestar, más allá de lo que puede proporcionar la dieta básica, estos compuestos le confieren valor agregado a las harinas como alimento funcional. En este contexto aparece una nueva relación entre la nutrición y la salud que son los productos nutracéuticos. Los cuales se pueden definir como sustancias químicas o biológicas activas componentes de un alimento o parte del mismo que aporta un beneficio añadido para la salud incluyendo la prevención y tratamiento de enfermedades (Celis 2009).

La presencia de componentes fitoquímicos unidos a otros ingredientes bioactivos de la planta tales como ácidos grasos, carotenos y fitoesteroles son los que pueden determinar sus propiedades nutracéuticas y su papel significativo en el control y prevención de enfermedades y en los indicadores productivos de los animales.

De ahí, que el objetivo de este trabajo fue evaluar y comparar el valor nutracéutico de la harina de forraje de *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum* para su uso en la alimentación animal.

Materiales y Métodos

Área de la investigación. El estudio se llevó a cabo en el mes de septiembre, en un área de la finca Ayala, del Instituto de Ciencia Animal, ubicado en los 22°81' de latitud norte y 82°01' longitud oeste en San José de las Lajas en la provincia Mayabeque (Academia de Ciencias de Cuba 1989). Se emplearon plantas de *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum* que se sembraron en suelo de tipo pardo con carbonato (Hernández *et al.* 2015), en un terreno de dos hectáreas. No se aplicó fertilización, ni riego.

Elaboración de las harinas. El corte de las plantas se efectuó a los 80 días de sembradas, se realizó de forma manual mediante el empleo de cuchillos, a 5 cm sobre el nivel del suelo cuando el 100 % de las plantas que se encontraban en el área estaban florecidas (Díaz *et al.* 2003). La toma de las muestras se realizó mediante el corte total de la parcela y se eliminó 50 cm de efecto de borde. Se muestrearon de forma aleatoria cinco puntos por cada una de las variedades y se tomaron en cada punto diez plantas, lo que constituyó las muestras para el análisis. La planta entera (hojas y tallos) se cortó y troceó, posteriormente, se secó a temperatura ambiente, en un local ventilado hasta lograr aproximadamente un 20 % de MS. Las muestras (n=5) se molinaron a tamaño de partícula de 1 mm y se almacenaron en frascos ámbar hasta el momento del análisis.

Análisis bromatológico. La materia seca (MS), proteína bruta (PB) y la ceniza se determinaron según AOAC (1995). La proteína verdadera se analizó según Bernstein (1983) citado por Meir (1986).

Composición mineral. Los macro y microelementos se analizaron por espectrofotometría de absorción atómica según los procedimientos del libro de datos

Absortion Data Book 1991).

The analysis was carried out on Philips equipment from the Pye Unican firm with serial number PV 9100. The height of the burner was 10mm. The composition of gases was air-acetylene and the flow was 4.5 mm/min. The determination of phosphorus was performed according to the Amaral (1972) methodology.

Fractionation of the fiber. The neutral detergent fiber (NDF), acid detergent fiber (ADF), lignin (Lig) and cellulose (Cel) were determined according to the procedure described by Van Soest *et al.* (1991).

Determination of the profile of long chain fatty acids (LCFA). The extraction of the meal lipids was carried out using a Soxhlet extractor. Diethyl ether was used as solvent and the extraction time was 4 hours (AOAC 1995).

The determination of the fatty acid profile was carried out in the Centro de Productos Naturales from the Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CENIC), Havana, Cuba. The oils were analyzed as methyl esters according to method 108.003 of the Institute for Nutraceutical Advancemen.

An Agilent 7890 A gas chromatograph was used, with capillary column: BPX-70 (30 m x 0.25 di), provided with Flame Ionization Detector (FID). Initial temperature: 80°C (2 min isothermal) at 10 °C/min up to 180°C, from 180 °C at 1°C/min up to 200 °C, 200°C to 10°C/ min up to final temperature: 240 °C (60 min isothermal). Detector temperature equal to the injector temperature (260 °C). Flow: 0.8 mL/min, hydrogen flow: 35 mL/min and air flow: 350 mL/min. The chromatographic profile of each sample was compared with the chromatograms of the corresponding standards to perform the identification of the LCFA.

Determination of phenolic compounds. To determine the concentration of total polyphenols (TP) and total tannins (TT) a reference solution of tannic acid (Sigma Aldrich) concentration (0.5 g/L) was used. The TP and TT analysis was carried out using the Folin-Ciocalteu reagent, before and after the treatment of the extracts with polyvinylpyrrolidone (Makkar 2003). The total condensed (TCT) and fiber-bound tannins (FBT) were expressed in leucocyanidin and catechin equivalents respectively, according to Makkar's (2003) methodology and the flavonoids were determined according to the procedure proposed by Kostennikova (1983), modified by Méndez (1996).

Total carotenes. The procedure for extracting the carotenes was performed in a bain- marie (60 °C) with stirring and a mixture of tetrahydrofuran-methanol (1:1) v/v was used according to the Odriozola(2009) methodology.

Total saponins. The content of total saponins was quantified by measuring in a spectrophotometer the color developed during blood hemolysis by this type of compound. The technique described by Guerra *et al.*

(Atomic Absortion Data Book 1991).

El análisis se realizó en un equipo Philips de la firma Pye Unican con número de serie PV 9100. La altura del quemador fue de 10mm. La composición de los gases fue aire - acetileno y el flujo fue de 4.5 mm/min. La determinación de fósforo se realizó según la metodología de Amaral (1972).

Fraccionamiento de la fibra. La fibra detergente neutro (FDN), fibra detergente ácido (FDA), lignina (Lig) y celulosa (Cel) se determinaron de acuerdo con el procedimiento descrito por Van Soest *et al.* (1991).

Determinación del perfil de ácidos grasos de cadena larga (AGCL). La extracción de los lípidos de la harina, se realizó mediante el empleo de un extractor Soxhlet. Se utilizó éter dietílico como solvente y el tiempo de extracción fue de 4 horas (AOAC 1995).

La determinación del perfil de ácidos grasos se realizó en el Centro de Productos Naturales del Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CENIC), La Habana, Cuba. Los aceites se analizaron como ésteres metílicos según el método 108.003 del Institute for Nutraceutical Advancemen.

Se empleó un cromatógrafo de gases Agilent 7890 A, con columna capilar: BPX-70 (30 m x 0.25 di), provisto con Detector de Ionización por Llama (FID). Temperatura inicial: 80 °C (2 min isotérmicos) a 10 °C/min hasta 180 °C, de 180 °C a 1 °C/min hasta 200 °C, 200 °C a 10 °C/min hasta temperatura final: 240 °C (60 min isotérmicos). Temperatura del detector igual a la temperatura del inyector (260 °C). Flujo: 0.8 mL/min, flujo de hidrógeno: 35 mL/min y flujo de aire: 350 mL/min. El perfil cromatográfico de cada muestra se comparó con los cromatogramas de los patrones correspondientes para realizar la identificación de los AGCL.

Determinación de compuestos fenólico. Para determinar la concentración de polifenoles totales (PT) y taninos totales (TT) se utilizó una disolución de referencia de ácido tánico (Sigma Aldrich) de concentración (0.5 g/ L). El análisis de PT y TT se realizó mediante el uso del reactivo de Folin-Ciocalteu, antes y después del tratamiento de los extractos con polivinilpirrolidona (Makkar 2003).

Los taninos condensados totales (TCT) y unidos a la fibra (TCF) se expresaron en equivalentes de leucocianidina y de catequina respectivamente, según metodología de Makkar (2003) y los flavonoides se determinaron acorde con el procedimiento propuesto por Kostennikova (1983), modificado por Méndez (1996).

Carotenos totales. El procedimiento de extracción de los carotenos se realizó en un baño de María (60 °C) con agitación y se empleó una mezcla de tetrahydrofurano-metanol (1:1) v/v de acuerdo con la metodología de Odriozola (2009).

Saponinas totales. El contenido de saponinas totales se cuantificó midiendo en un espectrofotómetro el color desarrollado durante la hemólisis de la sangre por este tipo de compuesto. Se empleó la técnica descrita por

(2001) was used.

Statistical analysis. Analysis of variance was carried out according to a completely randomized design. For the analysis of the results, the statistical system Infostat (Di Rienzo *et al.* 2012) was used.

Results and Discussion

To evaluate the nutraceutical components of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* and its possible use as a functional food it is necessary to consider its nutritional composition (table 1).

Guerra *et al.* (2001).

Análisis estadístico. Se realizó análisis de varianza según un diseño completamente aleatorizado. Para el análisis de los resultados se utilizó el sistema estadístico Infostat (Di Rienzo *et al.* 2012).

Resultados y Discusiones

Para evaluar los componentes nutraceuticos de la harina de forraje de *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum* y su posible uso como alimento funcional se hace necesario considerar su composición nutricional (tabla 1).

Table 1. Nutritional composition of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* (n=5)

Indicators (g/kg DM)	<i>S. niveum</i>	<i>S. aterrimum</i>	SE(±) Signif
DM	866.62	861.04	2.25 P=0.1177
Ash	92.08	88.57	0.79 P=0.0137
CP	277.97	257.70	2.40 P=0.0003
TP	255.42	243.13	1.74 P=0.0011
NDF	625.51	611.52	2.45 P=0.0037
ADF	438.50	464.21	1.20 P=0.0011
Lignin	104.14	100.38	1.71 P=0.1581
Cellulose	327.36	334.46	0.73 P=0.0001
Hemicellulose	187.01	147.31	2.06 P<0.0001

The concentration of crude protein (CP), true protein (TP) and ash (As) showed differences between the *S. niveum* and *S. aterrimum* varieties. A greater amount of ash was found in the *S. niveum* cultivar, this is an indicator of the proportion of inorganic compounds present in the plant. In the meals, from both plant materials were values above those found by Ujowundu *et al.* (2010) and Ihedioha and Okoye (2011), which may be due, among other factors, to the characteristics of the soil in which the crops were grown, the variety, management of the cultivars and the climatic conditions.

The average CP was higher for *S. niveum*. However, in both materials the CP was higher than 200 g/kg DM, so it can be considered as protein-rich materials, comparable with other tropical legumes from Cuba and Mexico with potential for use in animal production systems (Delgado *et al.* 2007 and Cab *et al.* 2015). The high content of protein is related to the characteristic of legumes to fix atmospheric nitrogen in their radical nodules and, through metabolism, store

La concentración de proteína bruta (PB), proteína verdadera (PV) y ceniza (Cen) mostró diferencias entre las variedades de *S. niveum* y *S. aterrimum*. Se encontró mayor cantidad de Cen en el cultivar de *S. niveum*, este es un indicador de la proporción de compuestos inorgánicos presentes en la planta. En las harinas, de ambos materiales vegetales se hallaron valores por encima de los encontrados por Ujowundu *et al.* (2010) y Ihedioha y Okoye (2011), lo que puede deberse entre otros factores a las características del suelo en que se desarrollaron los cultivos, la variedad, manejo de los cultivares y a las condiciones climáticas.

La PB promedio fue superior para el *S. niveum*. Sin embargo, en los dos materiales la PB fue superior a 200 g/kg MS, por lo que se pueden considerar materiales ricos en proteínas, comparables con otras leguminosas tropicales de Cuba y México con potencial para su uso en sistemas de producción animal (Delgado *et al.* 2007 y Cab *et al.* 2015). El alto contenido de proteína está relacionado con la característica de las leguminosas de fijar nitrógeno atmosférico en sus nódulos radicales y, a

it in its forage component (leaves, young stems and fruits) which allows to calculate the crude protein with help of a factor (generally 6.25), this content varies between 10 to 35 %.

The CP values found agree with those reported by Delgado *et al.* (2007) and Chikagwa-Malunga *et al.* (2009) when determining the bromatological composition of *Mucuna pruriens* forage. Ujowundu *et al.* (2010) and Ifemeje (2016) showed protein contents higher to those obtained in this study, while the protein levels reported (133.6 g/kg DM) by Ihedioha and Okoye (2011) are considered less and lower for this legume. These differences can be related to the variety used, phenological state of the plants, crop conditions and with variations in the environmental conditions.

As can be seen in the table, the major component of meals is insoluble fiber. The concentration of NDF, ADF and cellulose in forages showed differences between the species, being *S. niveum* the one that showed the highest NDF value, higher to that indicated by Fluck *et al.* (2013) for the foliage of three varieties of this plant. The NDF is constituted by three structural polymers fundamentally; cellulose, lignin and hemicellulose, while the ADF is composed of cellulose and lignin, hence the main difference between these fractions is the inclusion of hemicellulose in the calculation of the NDF. These indicators allow determining the amount of energy that the food contains and its quality. The obtained results are similar to those found by Savón *et al.* (2004), when evaluating a group of legumes and other forage tree plants. These authors report that the high fiber content in this legume can be due to complexes formed between carbohydrates and phenolic compounds. These associations may be the cause of analytical interference in the measurement of cell wall components.

In spite of the fact that fiber in foods is related to the indigestible fraction of the diet, it promotes beneficial physiological effects such as laxation, attenuation of cholesterol and blood glucose. This fiber could also be associated with phytochemical compounds or other components present in the food such as polyphenols, carotenoids and phytosterols, which can give antioxidant capacity (Saura-Calixto and Jiménez-Escrig, 2001).

Minerals are other compounds of great nutraceutical importance since they intervene in important functions in the enzymatic metabolism and strengthen the immune system, which makes them essential nutrients for the animal organism (Li *et al.* (2016). The previous reaffirms the need to know its content when it is intended to use meals for this purpose. From the results of the mineral composition of the forage meal of *Stizolobium niveum* and *Stizolobium aterrimum* (table 2) it can be pointed out that both species have high amounts of minerals, a typical characteristic of tropical legumes (Román *et al.* 2014).

It was found that the concentrations of calcium

través del metabolismo, almacenarlo en su componente forrajero (hojas, tallos tiernos y frutos) lo que permite calcular la proteína cruda con ayuda de un factor (generalmente 6.25), este contenido varía entre 10 a 35%.

Los valores de PB encontrados concuerdan con los que informaron Delgado *et al.* (2007) y Chikagwa-Malunga *et al.* (2009) al determinar la composición bromatológica de forraje de *Mucuna pruriens*. Ujowundu *et al.* (2010) e Ifemeje (2016) indicaron contenidos proteínicos superiores a los obtenidos en este estudio, mientras que los niveles de proteína informados (133.6 g/kg MS) por Ihedioha y Okoye (2011) se consideran menores y bajos para esta leguminosa. Estas diferencias pueden estar relacionadas con la variedad utilizada, estado fenológico de las plantas, las condiciones del cultivo y con variaciones en las condiciones medioambientales.

Como se puede observar en la tabla el componente mayoritario de las harinas es la fibra insoluble. La concentración de FDN, FDA y celulosa en los forrajes mostró diferencias entre las especies, siendo *S. niveum* la que presentó el mayor valor de FDN, superior a lo indicado por Fluck *et al.* (2013) para el follaje de tres variedades de esta planta. La FDN está constituida por tres polímeros estructurales fundamentalmente; celulosa, lignina y hemicelulosa, mientras que la FDA está compuesta por celulosa y lignina de ahí que la principal diferencia entre estas fracciones es la inclusión de la hemicelulosa en el cálculo de la FDN. Estos indicadores permiten determinar la cantidad de energía que contiene el alimento y su calidad. Los resultados obtenidos son similares a los encontrados por Savón *et al.* (2004), al evaluar un grupo de leguminosas y otras plantas arbóreas forrajeras. Estos autores refieren que el alto contenido de fibra en esta leguminosa puede deberse a los complejos formados entre los carbohidratos y los compuestos fenólicos. Estas asociaciones puede ser la causa de interferencias analítica en la medición de los componentes de la pared celular.

A pesar, que la fibra en los alimentos está relacionada con la fracción indigestible de la dieta, promueve efectos fisiológicos benéficos tales como laxación, atenuación del colesterol y glucosa de la sangre. Esta fibra también, pudiera estar asociada a los compuestos fitoquímicos u otros componentes presentes en el alimento como polifenoles, carotenoides y fitoesteroles, los que le pueden conceder capacidad antioxidante (Saura-Calixto y Jiménez-Escrig, 2001).

Los minerales son otros de los compuestos de gran importancia nutraceutica puesto que intervienen en importantes funciones en el metabolismo enzimático y fortalecen el sistema inmunológico, lo que los convierte en nutrientes fundamentales para el organismo animal (Li *et al.* (2016). Lo anterior reafirma, la necesidad de conocer su contenido cuando se pretende utilizar las harinas con este fin. A partir de los resultados de la composición mineral de la harina de forraje de *Stizolobium niveum* y *Stizolobium aterrimum* (tabla 2) se puede señalar que ambas especies presentan cantidades elevadas de minerales, característica

Table 2. Mineral composition of the forage meal of *S. niveum* and *S. aterrimum* (n=5)

Minerals	<i>S.niveum</i>	<i>S. aterrimum</i>	SE(±) Signif.
Calcium (g/kg DM)	8.83	8.90	0.02 P=0.0322
Phosphorus (g/kg DM)	3.74	2.97	0.02 P<0.0001
Magnesium (g/kg DM)	3.67	3.59	0.01 P= 0.0029
Cobalt (ppm)	20	80	0.0001 P<0.0001
Zinc (ppm)	70	21	0.0003 P<0.0001
Manganese (ppm)	33	48	0.01 P<0.0001
Copper (ppm)	12	7	0.0003 P<0.0001
Iron (ppm)	14.8	15.3	0.02 P<0.0933

(Ca) and of the cobalt (Co) and manganese (Mn) microelements were higher for *S. aterrimum* meal, which could be due to differences in the absorption of soil ions, due to variations in cell metabolism and different growth forms (Raven *et al.* 1992). However, the results show that both species could make a significant contribution of minerals to the animals diets.

Results similar to those in this experiment were found by Chikagwa-Malunga *et al.* (2009) when they evaluated plants with 77 days of sowing, while the values of the Fe, Zn and Cu microelements were lower than those indicated by Ifemeje (2016) in plants grown in Nigeria. The differences could be related to the type of soil, the varieties used and the climatic conditions in which the plants were developed in each experiment.

Among the compounds that can provide added benefits to the animals diets are fatty acids, which are related to the decrease of cholesterol and blood triglycerides (Valenzuela and Sanhueza 2009). In this study, differences were found in the FA composition among the forage meals under study, except for capric and tricyclic acids (table 3).

The palmitic was the most abundant FA in both species, and reached higher values for *S. niveum*. Other characteristic compounds in the FA profile of the forage meal were linoleic, linolenic and stearic acid, the highest values of these acids were obtained for *S. niveum* meal. Tavares *et al.* (2015) when analyzing flowers of plants of this same species found the palmitic, linoleic and linolenic acids representative in their FA composition, results similar to those of this study.

Carrillo *et al.* (2012) stated that linoleic acid is recommended in diets of laying hens for its effect on egg quality and its high reducing power of total

típica de las leguminosas tropicales (Román *et al.* 2014).

Se encontró que las concentraciones de calcio (Ca) y de los microelementos cobalto (Co) y manganeso (Mn) fueron mayores para la harina de *S. aterrimum*, lo que pudiera deberse a diferencias en la absorción de iones del suelo, por variaciones en el metabolismo celular y formas de crecimiento diferentes (Raven *et al.* 1992). Sin embargo, los resultados demuestran que ambas especies pudieran realizar un aporte significativo de minerales a las dietas de los animales.

Resultados similares a los de este experimento hallaron Chikagwa-Malunga *et al.* (2009) cuando evaluaron plantas con 77 días de sembradas, mientras que los valores de los microelementos Fe, Zn y Cu resultaron inferiores a los que indicó Ifemeje (2016) en plantas cultivadas en Nigeria. Las diferencias pudieran estar relacionadas con el tipo de suelo, las variedades utilizadas y las condiciones climáticas en que se desarrollaron las plantas en cada experimento.

Entre los compuestos que pueden aportar beneficios añadidos a las dietas de los animales se encuentran los ácidos grasos, los que están relacionados con la disminución de colesterol y triglicéridos sanguíneo (Valenzuela y Sanhueza 2009). En este trabajo se encontraron diferencias en la composición de AG entre las harinas de forrajes en estudio, excepto para el ácido cáprico y el tricosílico (tabla 3).

El palmítico fue el AG más abundante en ambas especies, y alcanzó valores mayores para el *S. niveum*. Otros compuestos característicos en el perfil de AG de las harinas de forraje fueron el ácido linoleico, linolénico y el esteárico, los valores mayores de estos ácidos se obtuvieron para el caso de la harina de *S. niveum*. Tavares *et al.* (2015) al analizar flores de plantas de esta misma especie encontraron el ácido palmítico, linoleico y linolénico representativos en su composición de AG,

Table 3. Fatty acid profile in the forage meal of *S. niveum* and *S. aterrimum* species.

Fatty acid (%)	<i>S. niveum</i>	<i>S. aterrimum</i>	SE and Signif.
Capric (C10:0)	0.38	0.37	±0.03 P=0.9380
Lauric C12:0)	0.28	0.14	±0.01 P=0.0010
Miristic (C14:0)	0.45	0.20	±0.03 P=0.0047
Palmitic (C16:0)	6.46	3.34	±0.05 P<0.0001
Palmitoleic (C16:1)	0.50	0.30	±0.001 P=0.0001
Stearic (C18:0)	3.60	2.69	±0.03 P<0.0001
Oleic (C18:1)	1.12	0.76	±0.01 P=0.0001
Linoleic (C18:2)	3.95	2.26	±0.03 P<0.0001
Linolenic (C18:3)	3.80	2.18	±0.05 P<0.0001
Arachidic (C20:0)	0.93	1.34	±0.001 P<0.0001
Behenic (C22:0)	1.04	1.66	±0.02 P<0.0001
Tricosylic (C23:0)	0.53	0.44	±0.03 P=0.0679
Lignoceric (C24:0)	1.11	1.52	±0.03 P=0.0007
Lignoceric (C25:0)	0.27	0.30	±0.003 P=0.0335

cholesterol, both in eggs and in poultry meats. This acid is also recognized for its antioxidant, immunomodulatory and antimutagenic properties. These same authors pointed out that the relation between health and fat intake depends on the type of FA that predominates in the diet, that is, on the quality.

Numerous beneficial effects are attributed to these compounds, polyunsaturated fatty acids are considered of great importance in the prevention and treatment of several chronic diseases such as diabetes and cancer, while medium chain FA are responsible for the antimicrobial effect (Abuelfatah *et al.* 2016).

As shown in table 4, the concentrations of total polyphenols (TP), total tannins (TT), condensed tannins (CT), flavonoids (Flav), carotenoids and saponins were higher for *S. aterrimum*, while the values of condensed tannins join to the neutral detergent fiber (CT-NDF) and the acid detergent fiber (CT-ADF) were lower for this species.

The differences in the total of phenolic compounds may be due that the synthesis and accumulation of

resultados similares a los de este estudio.

Carrillo *et al.* (2012) plantearon que el ácido linoleico es recomendable en dietas de gallinas ponedoras por su efecto en la calidad del huevo y su gran poder reductor del colesterol total, tanto en los huevos como en las carnes de aves. Este ácido también es reconocido por sus propiedades antioxidantes, inmunomoduladoras y antimutagénicas. Estos mismos autores señalaron que la relación entre la salud y la ingestión de grasa depende del tipo de AG predominante en la dieta, es decir de la calidad.

Numerosos efectos beneficiosos son atribuidos a estos compuestos, los ácidos grasos poliinsaturados se consideran de gran importancia en la prevención y tratamiento de varias enfermedades crónica como diabetes y el cáncer, mientras los AG de cadena media son los responsables del efecto antimicrobiano (Abuelfatah *et al.* 2016).

Como se aprecia en la tabla 4 las concentraciones de polifenoles totales (PT), taninos totales (TT), taninos condensados (TC), flavonoides (Flav), carotenoides y saponinas fueron mayores para *S. aterrimum*, mientras que los valores de taninos condensados unidos a la fibra detergente neutro (TC-FDN) y la fibra detergente ácido

Table 4. Content of phenolic compounds, carotenoids and saponins in the forage meal of *S. niveum* and *S. aterrimum* species

Phenolic compounds (g/kg DM)	<i>S. niveum</i>	<i>S. aterrimum</i>	SE(±) Signif.
Total polyphenols	7.48	25.20	0.04 P<0.0001
Total tannins	1.55	15.93	0.05 P<0.0001
Condensed tannins	0.35	3.59	0.03 P<0.0001
Flavonoids	5.95	7.64	0.15 P<0.0001
CT-NDF	6.87	5.68	0.10 P<0.0001
CT-ADF	3.78	2.64	0.11 P=0.0001
Total carotenoids (µg)	130.23	136.08	0.20 P<0.0001
Total saponins (mg/100g)	9.44	10.09	0.12 P= 0.0051

polyphenols during the flowering period is different in both species (Chikagwa-Malunga *et al.* 2009). These same authors evaluated these secondary metabolites in the *Mucuna pruriens* with different vegetative states of the plant and found TP values between 5.85-30.9 g/kg DM, levels similar to those obtained in this study.

The contrasts in the content of phenolic compounds may also be related to variations in the metabolism of these compounds due to genetic differences between the varieties. Valares (2011) argued the importance of these metabolites in the physiological processes of the plant that allows it to adapt to environmental change in accordance with its hereditary characteristics. In general, if a species shows variability in the amount of these compounds, it would imply a better response to environmental changes, which is favored.

The results found for the TP suggest that the meals have antioxidant potential and it is recommended to carry out other studies to evaluate this property and promote its proper use in the diet.

Ifemeye (2016), when evaluating the chemical composition of *Mucuna pruriens* found values for TT and flavonoids of 32.5 and 28.6 mg/g respectively, however Motta *et al.* (2013) reported a flavonoid concentration of 18.3 mg/g in this same species, while lower values were found in the evaluated species. These divergences in the results could be due to environmental differences. Plants vary quantitatively and qualitatively in their synthesis of tannins in response to environmental conditions. According to Santacoloma and Granados (2012), the climatic season, luminosity and humidity are the elements with the highest incidence in the synthesis of tannins. These authors when studying the concentration of tannins in the *Gliricidia sepium* legume cultivated in

(TC-FDA) fueron menores para esta especie.

Las diferencias en el total de compuestos fenólicos puede deberse a que la síntesis y acumulación de polifenoles durante el periodo de floración sea diferente en ambas especies (Chikagwa-Malunga *et al.* 2009). Estos mismos autores evaluaron estos metabolitos secundarios en la *Mucuna pruriens* con diferentes estados vegetativo de la planta y encontraron valores de PT entre 5.85-30.9 g/kg MS, niveles similares a los obtenidos en este estudio.

Los contrastes en el contenido de compuestos fenólicos, también puede estar relacionado con variaciones en el metabolismo de estos compuestos debido a diferencias genéticas entre las variedades. Valares (2011) argumentó la importancia de estos metabolitos en los procesos fisiológicos de la planta que le permite adaptarse al cambio ambiental conforme con sus caracteres hereditarios. En general, si una especie muestra variabilidad en la cantidad de estos compuestos implicaría una mejor respuesta frente a cambios ambientales, viéndose ésta favorecida.

Los resultados encontrados para los PT sugieren que las harinas tienen potencialidades antioxidantes y se recomienda realizar otros estudios para evaluar esta propiedad y promover su uso adecuado en la alimentación.

Ifemeye (2016), al evaluar la composición química de *Mucuna pruriens* halló valores para los TT y flavonoides de 32.5 y 28.6 mg/g respectivamente, sin embargo Motta *et al.* (2013) informaron en esta misma especie una concentración de flavonoides de 18.3 mg/g, mientras que en las especies evaluadas se encontraron valores inferiores. Estas divergencias en los resultados pudieran estar dadas por diferencias medioambientales. Las plantas varían cuantitativa y cualitativamente en sus síntesis de taninos como respuesta a las condiciones ambientales. Según Santacoloma y Granados (2012) la estación climática, la luminosity y la humedad ambiental son los

several zones of Colombia found higher content of this metabolite in high temperature zones.

The activity of some enzymes such as phenylalanine ammonia lyase (PAL) and polyphenol oxidase (PPO) in the plants may also be related to the content of these compounds, either by the induction of polyphenol synthesis or by oxidation to other compounds, events that may occur during the plant development process (Quiñones *et al.* 2012). These authors, in addition, show the participation of the PAL in the formation of phenylpropanoid, intermediate involved in the production of flavonoids and other phenolic compounds and involved with plant responses to stress situations.

The CT associated with fiber represents part of the non-extractable polyphenols, since they remain in the fibrous residue after extraction. This fraction of polyphenols is not usually taken into account in nutritional studies, however, it may have important biological activity and be responsible for part of the beneficial properties attributed to fiber (Kumar and Pandey 2013 and Saura-Calixto 2010).

The total carotenoids showed differences in their content in the forage meal of *Stizolobium* species under study, the higher values were in *S. aterrimum*. The synthesis and accumulation of carotenoids is genetically determined, but the composition and content depend on the environment and culture conditions. The levels found in this experiment were lower than those of Otitoju *et al.* (2014) on fresh and dried leaves of *Mucuna pruriens*.

The presence of these compounds in the diet is of great importance because the animals cannot synthesize it and some of them have provitamin A activity in the animal organism. On the other hand, carotenoids are used to improve the pigmentation of products such as chickens, meats and eggs. These compounds are considered beneficial because they provide higher immune capacity in the organism, so that it could reduce the incidence of diseases in animals (Cothran *et al.* 2015).

García and Medina (2006), reported that the content of saponins in plants for forage use was considered as high when the values were higher than 3.5 %. The levels of this metabolite in the meal under study were similar to the values reported by these authors in foliage of other plants that are habitually intake by cattle. However, the values in the evaluated species were higher than the results found by Ifemeje (2016) when studying the phytochemical composition in the *Mucuna pruriens* and finding a concentration of 3.50 mg/100g of saponins.

The different structures with which saponins are presented in plants are related to the diversity of biological activity attributed to them, which increases the use of these compounds as nutraceuticals. Ahumada *et al.* (2016), showed antifungal and antioxidant

elementos de mayor incidencia en la síntesis de taninos. Estos autores al estudiar la concentración de taninos en la leguminosa *Gliricidia sepium* cultivada en varias zonas de Colombia encontraron mayor contenido de este metabolito en las zonas de alta temperatura.

La actividad de algunas enzimas como la fenilalanina amoniaco liasa (FAL) y polifenol oxidasa (PFO) presentes en las plantas también pueden estar relacionadas con el contenido de estos compuestos, ya sea por la inducción de la síntesis de polifenoles o por la oxidación hasta otros compuestos, sucesos que pueden ocurrir durante el proceso de desarrollo de la planta (Quiñones *et al.* 2012). Estos autores, además, señalan la participación de la FAL en la formación de fenilpropanoide, intermediario involucrado en la producción de flavonoides y otros compuestos fenólicos e implicados con la respuestas de las planta ante situaciones de estrés.

Los TC asociados a la fibra representan parte de los polifenoles no extraíbles, puesto que permanecen en el residuo fibroso después de la extracción. Esta fracción de polifenoles habitualmente no se tienen en cuenta en los estudios nutricionales, sin embargo, puede tener importante actividad biológica y ser los responsables de parte de las propiedades benéficas que se le atribuyen a la fibra (Kumar y Pandey 2013 y Saura-Calixto 2010).

Los carotenoides totales presentaron diferencias en su contenido en la harina de forraje de las especies de *Stizolobium* en estudio, los valores superiores se encontraron en el *S. aterrimum*. La síntesis y la acumulación de carotenoides está determinada genéticamente, pero la composición y el contenido dependen del ambiente y las condiciones de cultivo. Los niveles hallados en este experimento resultaron inferiores a los de Otitoju *et al.* (2014) en hojas frescas y secas de *Mucuna pruriens*.

La presencia de estos compuestos en la dieta es de gran importancia debido a que los animales no lo pueden sintetizar y algunos de ellos tienen actividad provitamina A en el organismo animal. Por otra parte, los carotenoides se utilizan para mejorar la pigmentación de productos tales como los pollos, carnes y huevos. Estos compuestos son considerados beneficiosos ya que proporcionan mayor capacidad inmune en el organismo, por lo que pudiera disminuir la incidencia de enfermedades en los animales (Cothran *et al.* 2015).

García y Medina (2006), refirieron que el contenido de saponinas en plantas de uso forrajero se consideraba como altos cuando los valores fueran superiores a 3.5 %. Los niveles de este metabolito en las harinas en estudio fueron similares a los valores informados por estos autores en follajes de otras plantas que habitualmente consume el ganado. No obstante, los valores en las especies evaluadas fueron superiores a los resultados encontrados por Ifemeje (2016) al estudiar la composición fitoquímica en la *Mucuna pruriens* y hallar una concentración de 3.50 mg/100g de saponinas.

Las diferentes estructuras con que se presentan las saponinas en las plantas se relacionan con la diversidad de

activity, among others, of the saponins of a quinoa extract, used to inhibit the growth of *Candida albicans* (fungus of medical interest), so that these compounds could be used against diseases caused by fungi and bacteria. The ability to lower cholesterol in serum is one of the most significant characteristics of saponins, however, some of these nitrogen compounds may have toxic effects on the physiology of monogastric animals (Arabski *et al.* 2012).

According to the results obtained in this study, the *S. niveum* forage meal showed higher protein, fiber and fatty acid content, while in the *S. aterrimum* were the highest concentrations of saponins and carotenoids, with marked differences between total polyphenols and total tannins, an aspect in which it must be deepened because of the biological activity that these compounds can contribute to meal. The condensed tannins linked to fiber must serve as a precedent for future researches that allow corroborating whether fiber benefits from phenolic compounds.

The forage meal of these species has a high nutraceutical value when contributing to the diet chemical compounds important for nutrition and bioactive ingredients that can contribute to the control and decrease of diseases in animals, as well as improve their productivity and welfare. It is proposed to continue *in vivo* researches that include meals in different formulations of diets.

Acknowledgments

Thanks to the technicians of the Laboratorio de Servicios Analíticos del Instituto de Ciencia Animal (LASAICA) Yasmely Ramos, Doremis Rosales, Ibett Orta and Claudia Guerra for carrying out the chemical tests of this study.

actividad biológica que se les atribuyen, lo que incrementa el uso de estos compuestos como nutracéuticos. Ahumada *et al.* (2016), señalaron actividad antifúngica y antioxidante, entre otras, de las saponinas de un extracto de quinua, utilizado para inhibir el crecimiento de *Candida albicans* (hongo de interés médico), por lo que estos compuestos pudieran ser utilizados en contra de enfermedades causadas por hongos y bacterias. La capacidad de disminuir el colesterol en el suero es una las características más significativas de las saponinas, sin embargo, algunos de estos compuestos nitrogenados pueden tener efectos tóxicos en la fisiología de animales monogástricos (Arabski *et al.* 2012).

De acuerdo con los resultados alcanzados en este estudio, la harina de forraje de *S. niveum* mostró mayor contenido de proteína, fibra y ácidos grasos, mientras que en la de *S. aterrimum* se hallaron las mayores concentraciones de saponinas y carotenoides, con marcadas diferencias entre los polifenoles totales y los taninos totales, aspecto en el que se debe profundizar por la actividad biológica que pueden aportar estos compuestos a la harina. Los taninos condensados ligados a la fibra han de servir como antecedente para realizar investigaciones futuras que permitan corroborar si la fibra se beneficia con los compuestos fenólicos.

La harina de forraje de estas especies tiene un alto valor nutracéutico al aportar a la dieta compuestos químicos importantes para la nutrición e ingredientes bioactivos que pueden contribuir en el control y disminución de enfermedades en los animales, así como mejorar su productividad y bienestar. Se propone continuar investigaciones *in vivo* que incluyan las harinas en diferentes formulaciones de las dietas.

Agradecimientos

Agradecemos a los técnicos del Laboratorio de Servicios Analíticos del Instituto de Ciencia Animal (LASAICA) Yasmely Ramos, Doremis Rosales, Ibett Orta y Claudia Guerra por la realización de los ensayos químicos de este trabajo.

References

- Abuelfatah, K., Zuki, A.B., Goh, Y.M., Sazili, A.Q. & Abubakr, A. 2016. Effects of feeding whole linseed on ruminal fatty acid composition and microbial population in goats. *Animal Nutrition*. 2:323-328. Available: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.aninu.2016.10.004>>, [Consulted: August 12, 2017].
- Academia de Ciencias de Cuba. 1989. Nuevo Atlas Nacional de Cuba. Instituto Cubano de Geodesia y Cartografía. La Habana, Cuba. p. 41.
- Ahumada, A., Ortega, A., Chito, D. & Benítez, R. 2016. Saponinas de quinua (*Chenopodium quinoa* Willd.): un subproducto con alto potencial biológico. *Revista Colombiana de Ciencias Químicas y Farmaceuticas*. 45:438-469, Available: /<http://dx.doi.org/1015446/rcciquifa.v45n3.62043>, [Consulted: January 20, 2018].
- Amaral A. 1972. Técnicas analíticas para evaluar macro nutrientes en cenizas de caña de azúcar. Laboratorio de nutrición de la caña. Escuela de Química. Universidad de La Habana, Cuba. 82 p.
- AOAC. 1995. Official Methods of Analysis of AOAC 15th. Ed. Vol. 1 Assoc. Official Analysis Chemists, Arlington, V.A.
- Arabski, M., Wegierek-Ciuk, A., Czerwonka, G., Lankoff, A. & Kacal, W. 2012. Effects of Saponins against Clinical *E. coli* Strains and Eukaryotic Cell Line. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*. 10:1155-1161, DOI: 10.1155/2012/286216.
- Atomic Absortion Data. 1991. A scientific instrument company of Philips. Pye Unicam. Available: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93928324005>, [Consulted: August 25, 2016]. Available:<<http://www.academicjournals.org/ajpp>>, [Consulted: October 11, 2016].

- Cab, F.E., Ortega, M.E., Quero, A.R., Enríquez, J.F., Vaquera, H. & Carranco, M.E. 2015. Composición química y digestibilidad de algunos árboles tropicales forrajeros de Campeche, México. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*. 11:2199-2204.
- Caro, Y. & Dihigo, L.E. 2012. Comportamiento productivo de conejos alimentados con dietas que incluían harina integral de dólido y mucuna. *Revista UNELLEZ de Ciencia y Tecnología*. 30:29-35.
- Carrillo, S., Ávila, E., Vásquez, C., Calvo, C., Carranco, M.E. & Pérez Gil, F. 2012. Modificación en la composición de ácidos grasos del huevo al incluir aceite de sardina y ácido linoleico conjugado en dietas para gallinas ponedoras. *Archivo de Medicina Veterinaria*. 44:243-251.
- Castillo, J.B. & Caamal, J.A. 2011. Efecto de la fecha de siembra del frijol terciopelo (*Mucuna sp.*) como cultivo de cobertura en el rendimiento de maíz. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14:101-108, ISSN: 1870-0462.
- Celis, E.F. 2009. Potencial nutraceutico de cladodios de nopal (*Opuntia spp.*). M.Sc. Thesis, Universidad Autónoma de Querétaro, Santiago de Querétaro, México, 117pp, Available: < <http://ri.uaq.mx/handle/123456789/2576>>, [Consulted: September 14, 2016].
- Chandra, S.S., Raj, K., Raheel, A. & Bhardwaj, S.D. 2016. Performance of *Mucuna pruriens* under Chirpine (*Pinus roxburghii*) Plantation of Mid Hills of Western Himalayas. *Agricultural Research & Technology*. 1:001-005.
- Chikagwa-Malunga, S.K., Adesogan, A.T., Sollenberger, L.E., Badinga, L.K., Szabo, N.J. & Littell, R.C. 2009. Nutritional characterization of *Mucuna pruriens* 1. Effect of maturity on the nutritional quality of botanical fractions and the whole plant. *Animal Feed Science and Technology*. 148:34-50, DOI:10.1016/j.anifeeds.2008.03.004.
- Cothran, R.D., Gervasi, S.S., Murray, C., French, B.J., Bradley, P.W., Urbina, J., Blaustein, A.R. & Relyea, R.A. 2015. Carotenoids and amphibians: effects on life history and susceptibility to the infectious pathogen, *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Conservation Physiology*. 3:1-10, DOI:10.1093/conphys/cov005.
- Delgado, D.C., La O, O. & Chongo, B. 2007. Bromatological composition and in situ ruminal degradability of tropical legumes with perspectives of use in cattle productive systems. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 41:323-327.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez L., Tablada, M. & Robledo, C.W. 2012. InfoStat versión 2012. Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Córdoba, Argentina. URL Available: <http://www.infostat.com.ar>.
- Diaz, M.F., González, A., Padilla, C. & Curbelo, F. 2003. Comportamiento de la producción de forrajes y granos de *Canavalia ensiformis*, *Lablab purpureus* y *Stizolobium niveum* en siembras de septiembre. *Revista Cubana de Ciencias Agrícolas*. 37:65-71.
- Fluck, A.C., Kozloski, G.V., Martins, A.A., Mezzomo, M.P., Zanferari, F. & Stefanello, S. 2013. Relationship between chemical components, bacterial adherence and *in vitro* fermentation of tropical forage legumes. *Ciênc. Agrotec. Lavras*. 37:457-463, DOI: 10.1590/S1413-70542013000500010.
- García, D.E. & Medina, M.G. 2006. Composición química, metabolitos secundarios, valor nutritivo y aceptabilidad relativa de diez árboles forrajeros. *Zootecnia Tropical*. 24 (3):233-250.
- Guerra, J.O., Nogueiras, C., Delgado, C. & Hernández, O. 2001. Determinación cuantitativa de saponinas y azúcares reductores del *Agave brittoniana* T. *Revista Cubana de Química*. 13:37-42.
- Gutiérrez, M.V. 2002. Aspectos básicos de la nutrición mineral de las plantas, absorción foliar de sustancias útiles en la aplicación de agroquímicos al follaje. In: Gloria Meléndez & Eloy Molina (eds.), *Fertilización foliar: principios y aplicaciones*, Universidad de Costa Rica Costa Rica. 1-6 pp.
- Hernández, A., Pérez, J.M., Bosch, D. & Castro, N. 2015. Clasificación de los suelos de Cuba. Instituto Nacional de Ciencias Agrícolas. Ministerio de Educación Superior. Mayabeque, Cuba. 91 pp. ISBN: 978-959-7023-77-7.
- Ifemeje, J.C. 2016. Chemical and phytochemical compositions of *Mucuna pruriens* leaves. *African Journal of Science and Research*. 5:14-17, ISSN:2306-5877, Available:< <http://ajsr.rstpublishers.com/>>, [Consulted: December 15, 2016].
- Ihedioha, J.N. & Okoye, C.O.B. 2011. Nutritional evaluation of *Mucuna flagellipes* leaves: An underutilized legume in eastern Nigeria. *Journal of Plant Nutrition and Fertilization Technology*. 1:55-36, ISSN:1793-9445, DOI:10.3923/ajpnft.2011.55.63. Institute for Nutraceutical Advancement (INA). Method 108.003 Fatty Acid Content in Saw Palmetto by GC. Available: <http://www.nsf.org/busines/ina/fattyacids.asp> [Consulted: May 10, 2005].
- Kumar, S. & Pandey, A.K. 2013. Chemistry and Biological Activities of Flavonoids: An Overview. *The ScientificWorld Journal*. Article ID 162750, 16 pp, Available: <http://dx.doi.org/10.1155/2013/162750>, [Consulted: November 15, 2016].
- Li, M.Z., Huang, J.T., Tsai, Y.H., Mao, S.Y., Fu, C.M. & Lien, T.F. 2016. Nanosize of zinc oxide and the effects on zinc digestibility, growth performances, and immune response and serum parameters of weanling piglets. *Animal Science Journal*. 87:1369-1385, DOI:10.1111/asj.12579.
- Makkar, H.P.S. 2003. Quantification of tannins in tree and shrub foliage. A laboratory manual. Kluwer Academic Publishers, Netherlands. 102 pp, ISBN:1-4020-1632-8.
- Meir, H. 1986. Laborproktubuire. Tierernahrungund, futtermitten für Tiererproduzenten. Verlag, Berlin.
- Méndez, G. 1996. Estudio farmacognóstico y fitoquímico preliminar de *Cymbopogon citratus* (DG) stopt y sus extractos. Tesis de Maestría. La Habana, Cuba.
- Motta, E.V.S., Pinto, N.C.C., Duque, A.P.N., Mendes, R. F., Bellozi, P.M.Q. & Scio, E. 2013. Atividades antioxidante, antinociceptiva e anti-inflamatória das folhas de *Mucuna pruriens* (L.) DC. *Revista Brasileira de Plantas Medicinai*s. 15:264-272, ISSN 1516-0572, Available: <http://dx.doi.org/10.1590/S1516-05722013000200015>, [Consulted: October 11, 2016].
- Odrizola, I. 2009. Obtención de zumos y frutos cortados con alto potencial antioxidante mediante tratamientos no térmicos. Ph.D. thesis. Universidad de Lleida, Lleida, España, 360 P.
- Ototoju, G.T.O., Nwamarah, J.U., Ototoju, O., Odoh, E.C. & Iyeghe, L.U. 2014. Phytochemical composition of some underutilised green leafy vegetables in nsukka urban Lga of Enugu State. *Journal of Biodiversity and Environmental Sciences (JBES)*. 4:208-217, ISSN:2220-6663 (Print) 2222-3045 (Online), Available: <http://www.innspub.net>, [Consulted: April 23, 2016].

- Quiñones, M., Miguel, M. & Aleixandre, A. 2012. Los polifenoles, compuestos de origen natural con efectos saludables sobre el sistema cardiovascular. *Nutrición Hospitalaria*. 27:76-289, ISSN: 0212-1611.
- Raven, P.H., Evert, R.F. & Eichhorn, S.E. 1992. *Biología de las plantas*. Santamaría, S., Lloret, F., Mas, M. & Cardona, M.A. Editorial Reverté S.A. Barcelona, España. 755 p., ISBN: 84-291-1843.
- Román, N., García, M.R., Castillo, A.M., Sahagún, J. & Jiménez, A. 2014. Componentes nutricionales y antioxidantes de dos especies de Guaje (*Leucaena spp.*): Un recurso ancestral subutilizado. *Revista Chapingo Serie Horticultura*. 20:157-170, DOI:10.5154/r.rchsh.2013.07.023.
- Santacoloma, L.E. & Granados, J.E. 2012. Interrelación entre el contenido de metabolitos secundarios de las especies *Gliricidia sepium* y *Tithonia diversifolia* y algunas propiedades físico-químicas del suelo. *Revista de Investigación Agraria y Ambiental* 3:53-62. DOI: 10.22490/21456453.934.
- Saura Calixto, F. 2010. Dietary fiber as a carrier of dietary antioxidants: An essential physiological function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 59:43-49, DOI: 10.1021/jf1036596.
- Saura-Calixto, F. & Jiménez-Escrig, A. 2001. Compuestos bioactivos asociados a la fibra dietética. In: *Fibra dietética en Iberoamérica: tecnología y salud*. Lojolo, M.F., Saura-Calixto, F., Wittig de Penna, E. & Wenzel de Menzel, E. Eds Valera. Capítulo. 7 p.103.
- Savón, L., Scull, I., Orta, M. & Torres, V. 2004. 4 Physicochemical characterization of the fibrous fraction of five tropical foliage meals for monogastric species. *Cuban Journal of Agricultural Science*. 38:281-286.
- Tavares, R.L., Silva, A.S., Nascimento, A.R., Pereira, A.R. & de Souza, J. 2015. Nutritional composition, phytochemicals and microbiological quality of the legume, *Mucuna pruriens*. *African Journal of Biotechnology*. 14:676-682, ISSN:1684-5315, DOI:10.5897/AJB2014.14354.
- Tresina, P.S. & Mohan, V.R. 2013. Assessment of nutritional and antinutritional potential of underutilized legumes of the genus mucuna. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 16:155-169, ISSN:1870-0476,
- Ujowundu, C.O., Kalu, F.N., Emejulu, A.A., Okafor, O.E., Nkwonta, C.G. & Nwosunjoku, E.C. 2010. Evaluation of the chemical composition of *Mucuna utilis* leaves used in herbal medicine in Southeastern Nigeria. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*. 4:811-816, ISSN:1996-0816©2010.
- Valares, C. 2011. Variación del metabolismo secundario en plantas debida al genotipo y al ambiente. Ph.D. Thesis. Universidad de Extremadura, Badajoz, España. 216 P.
- Valenzuela, A. & Sanhueza, C. 2009. Aceites de origen marino; su importancia en la nutrición y en la ciencia de alimentos. *Revista Chilena de Nutrición*. 36:246-257, ISSN: 0717-7518, Available: <<http://dx.doi.org/10.4067/50717-75182009000300007>>, [Consulted: August 12, 2016].
- Van Soest, P.J., Robertson, J.B. & Liwis, B.A. 1991. Methods for dietary fiber neutral detergent fiber and nonstarch polysaccharides in relation to animal nutrition. *Dairy Science*. 74:3583-3597, Available: <[http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(91\)78551-2](http://dx.doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(91)78551-2)>, [Consulted: January 05, 2017].

Received: May 29, 2017