

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



CUANTIFICACION DE TANINOS POR DOS METODOS
ESPECTROFOTOMETRICOS EN MUESTRAS FORRAJERAS Y RACIONES
TOTALES A BASE DE LEGUMINOSAS: **Canavalia ensiformis** (CANAVALIA),
Vigna sinensis (FRIJOL MONO) Y GRAMINEAS: **Sorgum vulgare** (SORGO)

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR

MARLENE EMPERATRIZ ACOSTA MARTINEZ
RAFAEL IGNACIO HERNANDEZ GAMEZ

PARA OPTAR AL GRADO DE

LICENCIATURA EN QUIMICA Y FARMACIA

ENERO, 2012

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

SECRETARIA GENERAL

DRA. ANA LETICIA DE AMAYA

FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA

DECANA

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

SECRETARIO

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

COMITE DE TRABAJO DE GRADUACION

COORDINADORA GENERAL

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

ASESORA DE AREA DE GESTION AMBIENTAL: CALIDAD AMBIENTAL

MSc. Cecilia Haydeé Gallardo de Velásquez

ASESORA DE AREA EN ANALISIS DE ALIMENTOS Y QUIMICA AGRICOLA

MSc. Ena Edith Herrera Salazar

DOCENTES DIRECTORES

MAE. María Elisa Vivar de Figueroa

Lic. Freddy Alexander Carranza Estrada

Ing. Juan Milton Flores Tensos

AGRADECIMIENTOS

A nuestros docentes directores MAE. María Elisa Vivar de Figueroa, Lic. Freddy Alexander Carranza Estrada e Ing. Juan Milton Flores Tensos por su valiosa e incansable colaboración, apoyo, tiempo e invaluable orientación para la realización de nuestro trabajo de graduación.

A la coordinadora general de trabajos de graduación Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo, a las asesoras de área MSc. Cecilia Haydee Gallardo de Velásquez, MSc. Ena Edith Herrera Salazar e Ing. Rina Lavinia Hidalgo de Medrano por su solícita dirección, amables atenciones y consejos brindados para atender nuestras inquietudes y enriquecer de esa forma nuestro trabajo de graduación.

A la jefa del Departamento de Química Agrícola Licda. Ada Yanira de Linares y a todas las personas que conforman este departamento de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador por su encantador trato, apreciable colaboración y atenta hospitalidad al poner a nuestra disposición el uso de sus instalaciones, equipos y materiales.

A la Asociación Cooperativa Astoria por facilitarnos las muestras de forrajes y mezclas de raciones totales que constituyeron el estudio y la entrada a los campos de cultivos y a las instalaciones en general.

A todas las personas que de una u otra manera contribuyeron para la realización del presente trabajo de graduación.

MUCHAS GRACIAS.

DEDICATORIA

A Dios y a la Virgen de Guadalupe. Les pido sabiduría, humildad, comprensión, prudencia, amor, paciencia, salud y vida para aprender, para trabajar en ser una mejor persona día con día y ser merecedora de tantas bendiciones que ponen en mi camino; sin desesperación porque lo que tiene que ser será y llegará graciosa y naturalmente. Hay tantas cosas para gozar y nuestro paso por la Tierra es tan corto, que sufrir es una pérdida de tiempo.

A mis padres, Yolanda Margarita de Acosta y Pedro Acosta García, porque cada día compruebo lo maravillosos que son los padres que Dios me ha dado, que me aman incondicionalmente, que me apoyan siempre, que no me juzgan, que creen en mí, que me cuidan y protegen como algo realmente precioso y único. Gracias por sus consejos, por su confianza, por estar conmigo en los momentos más difíciles de mi vida, siempre les estaré eternamente agradecida por todo lo que han hecho por mí desde el momento en que me concibieron y corresponderé ese amor tan grande que me dan con todo mi ser.

A mis docentes directores MAE. María Elisa Vivar de Figueroa, Ing. Milton Flores Tensos y Lic. Freddy Carranza Estrada por su apoyo y consejos para realizar un buen trabajo de graduación, por los buenos momentos compartidos, porque en ustedes encontré grandes y valiosos amigos.

A mi amigo y compañero, Rafael Hernández, por todo su apoyo y esfuerzo.

A mi amado quesito, panchita y pirri. Los pajaritos que me enseñaron la ternura. “«Señor, tú me entregaste cinco talentos, pero aquí están otros cinco más que gané con ellos.» El patrón le contestó: «Muy bien, servidor bueno y honrado; ya que has sido fiel en lo poco, yo te voy a confiar mucho más. Ven a compartir la alegría de tu patrón.»” (*Mateo 25:20,21*)

Lo que Dios protege, nadie lo destruye.

Marlene Emperatriz Acosta Martínez

DEDICATORIA

A Dios todopoderoso por ser la luz que iluminó mi camino a través de los años de mi vida, siendo el cimiento fundamental de mis estudios.

A mis amados padres (Rafael y Marta) por su amor, comprensión y sabiduría para guiarme, su apoyo para poder levantarme, les estaré infinitamente agradecido. LOS AMO.

A mis hermanos, Francisco y Lucía, por su apoyo y comprensión.

A mi familia: tías, tíos, primos, sobrinos; todos aportaron un granito de arena para hacer este sueño una realidad.

A mis amigos y compañeros de estudio porque siempre hubo alguien que estuvo dándome una mano para seguir adelante, con especial agradecimiento a Emperatriz Acosta por todo su esfuerzo, dedicación y apoyo incondicional.

A Yessika Cabrera y familia por ser ese complemento en mi vida.

A mis docentes directores MAE. María Elisa Vivar de Figueroa, Ing. Juan Milton Flores y Lic. Freddy Carranza Estrada por su apoyo y consejos para hacer un buen trabajo.

A todos aquellos que de una u otra manera me apoyaron e hicieron este logro posible ¡GRACIAS TOTALES!

Rafael Ignacio Hernández Gámez

INDICE GENERAL

	Nº Pág.
Resumen	
Capítulo I	
1.0 Introducción	xvii
Capítulo II	
2.0 Objetivos	
2.1 Objetivo General	
2.2 Objetivos Específicos	
Capítulo III	
3.0 Marco Teórico	22
3.1 Alimentación animal	22
3.1.1 Definición y características de los forrajes	22
3.1.2 Clasificación de los alimentos para consumo animal	23
3.1.3 Especies forrajeras	26
3.2 Generalidades sobre Leguminosas	27
3.2.1 Generalidades sobre <i>Canavalia ensiformis</i>	28
3.2.2 Generalidades sobre <i>Vigna sinensis</i>	30
3.3 Generalidades sobre Gramíneas	31
3.3.1 Generalidades sobre <i>Sorghum vulgare</i>	33
3.4 Generalidades de los Taninos	34
3.4.1 Clasificación de los taninos	36
3.4.2 Interacción química de taninos con proteínas	39
3.4.3 Interacción química de taninos con carbohidratos	42
3.4.4 Taninos en forrajes	43
3.4.4.1 Efectos de los taninos condensados en la alimentación bovina	45

3.5 Asociación Cooperativa Astoria	47
Capítulo IV	
4.0 Diseño Metodológico	49
4.1 Tipo de Estudio	49
4.2 Investigación Bibliográfica	50
4.3 Investigación de Campo	50
4.4 Parte Experimental	52
4.4.1 Preparación de la muestra	53
4.4.2 Métodos de cuantificación de taninos	53
4.4.3 Análisis Bromatológico Proximal	58
4.5 Análisis Estadístico	70
Capítulo V	
5.0 Resultados y Discusión	72
5.1 Resumen de resultados de los análisis por ensayo	72
5.2 Cuantificación de Taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu	73
5.3 Cuantificación de Taninos condensados por el Método de Proantocianidinas	75
5.4 Análisis Bromatológico Proximal	77
Capítulo VI	
6.0 Conclusiones	89
Capítulo VII	
7.0 Recomendaciones	92
Bibliografía	
Anexos	

INDICE DE ANEXOS

ANEXO N°

1. Número de muestras y análisis realizados
2. Mapa de ubicación de la Asociación Cooperativa Astoria
3. Especies de Frijol mono y Sorgo cultivadas en la Asociación Cooperativa Astoria
4. Fotografías de la realización de la cuantificación de taninos y análisis bromatológico proximal en las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras), Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) y Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)
5. Material, equipo y reactivos
6. Esquemas de los procedimientos de análisis para la cuantificación de taninos y análisis bromatológico proximal
7. Aparato para extracción de grasas Goldfish
8. Aparato para extracción de grasas Soxhlet
9. Resultados y ejemplo de cálculos de la cuantificación de taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu en las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras), Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) y Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)
10. Curva de calibración del Ácido tánico
11. Resultados y cálculos de la Prueba F para el análisis de varianza al 95% de confianza de las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras) y Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)
12. Resultados de la cuantificación de taninos condensados por el Método de Proantocianidinas en las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras), Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) y Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)
13. Resultados del análisis bromatológico proximal de las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras), Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) y Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)

INDICE DE CUADROS

CUADRO N°	N° Pág.
1. Composición de las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras)	51
2. Composición de las muestras del Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)	52

INDICE DE FIGURAS

FIGURA N°	N° Pág.
1. Especie vegetal <i>Canavalia ensiformis</i> (Canavalia)	28
2. Especie vegetal <i>Vigna sinensis</i> (Frijol mono)	30
3. Especie vegetal <i>Sorgum vulgare</i> (Sorgo)	33
4. Unidades estructurales de los taninos hidrolizables	37
5. Gráfico de promedios de resultados de la cuantificación de taninos totales de las muestras en estudio para los tres ensayos	73
6. Gráfico de promedios de resultados de la cuantificación de taninos condensados de las muestras en estudio para los tres ensayos	75
7. Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Materia seca de las muestras en estudio para los tres ensayos	77
8. Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Proteína Cruda de las muestras en estudio para los tres ensayos	79
9. Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Extracto Etéreo de las muestras en estudio para los tres ensayos	81
10. Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Fibra Cruda de las muestras en estudio para los tres ensayos	83
11. Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Cenizas de las muestras en estudio para los tres ensayos	85
12. Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Carbohidratos de las muestras en estudio para los tres ensayos	86

INDICE DE TABLAS

TABLA N°	N° Pág.
1. Preparación de la curva de calibración	55
2. Promedios de resultados obtenidos en la cuantificación de taninos y análisis bromatológico proximal para los tres diferentes ensayos	72

ABREVIATURAS

% Cz:	Porcentaje de Cenizas
% EE:	Porcentaje de Extracto Etéreo
% FC:	Porcentaje de Fibra Cruda
% MS:	Porcentaje de Materia Seca
% PC:	Porcentaje de Proteína Cruda
% TC:	Porcentaje de Taninos condensados
% TT:	Porcentaje de Taninos totales
AA:	Alimento elaborado a base de Ensilado de Sorgo
AR:	Alimento elaborado a base de Ensilado de Sorgo y Canavalia
AV:	Alimento elaborado a base de Ensilado de Sorgo y de Frijol Mono
AG:	Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 60:40 en la materia seca
AY:	Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 50:50 en la materia seca
AZ:	Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 70:30 en la materia seca
ELN:	Extracto Libre de Nitrógeno
HHDP:	Ácido Hexahidroxidifénico
MND:	Materias Nitrogenadas Digestibles
PVPP:	Polivinil pirrolidona insoluble
RTM:	Ración Total Mezclada
SEEP:	Sociedad Española para el Estudio de los Pastos
TND:	Total de Nutrientes Digeribles

RESUMEN

Los taninos, principalmente los condensados, se consideran sustancias antinutritivas. En general, los forrajes con una elevada concentración de taninos (5-10% en la materia seca) se asocian con la baja palatabilidad, bajo consumo voluntario, baja digestibilidad del forraje, baja absorción de proteínas y un escaso desempeño productivo del ganado que los consume.

El objetivo general del presente trabajo de investigación fue cuantificar los taninos por dos métodos espectrofotométricos en muestras forrajeras y raciones totales a base de leguminosas: ***Canavalia ensiformis*** (Canavalia), ***Vigna sinensis*** (Frijol mono) y gramíneas: ***Sorghum vulgare*** (Sorgo) a través de tres ensayos: Ensayo 1 (Muestras forrajeras), Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) y Ensayo 3 (Fuentes de forrajes). Dichas muestras fueron proporcionadas por la Asociación Cooperativa Astoria ubicada en el Cantón Las Flores del municipio de San Pedro Masahuat en el departamento de La Paz, El Salvador, las cuales son utilizadas como fuente alterna en la alimentación del ganado lechero para reducir la dependencia de materias primas importadas que a la larga afectan los costos de alimentación en los hatos de la Cooperativa.

La parte experimental se realizó en los laboratorios de la Facultad de Química y Farmacia y del Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ambas Facultades de la Universidad de El Salvador, donde se les cuantificó a las muestras el contenido de taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu y el contenido de taninos condensados por medio del Método de Proantocianidinas; además, también se les realizó el Análisis Bromatológico Proximal (Determinación de Humedad, Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda, Cenizas y Carbohidratos) a las diferentes muestras.

Los resultados de las muestras en estudio se evaluaron por comparación de gráficos para recomendar qué muestras presentaron las mejores características nutricionales basado en el contenido de taninos como factor antinutricional y el Análisis Bromatológico Proximal. Las concentraciones obtenidas para taninos totales presentaron un rango de 0.183% a 0.588% y para taninos condensados de 0.092% a 0.324%. En el Análisis Bromatológico Proximal, el porcentaje de Materia seca presentó un rango de 10.423% a 27.933%; el rango de Proteína Cruda fue de 8.366% a 20.513%; para Extracto Etéreo se obtuvieron valores de 2.177% a 3.887%; la Fibra Cruda reportó valores de 16.201% a 27.186%; las Cenizas presentaron porcentajes de 5.788% a 18.200% y para Carbohidratos se obtuvo un rango de valores de 38.173% a 58.854%. Al relacionar las concentraciones obtenidas de la cuantificación de los taninos totales y condensados con los resultados del Análisis Bromatológico Proximal se llegó a la conclusión de que las muestras no presentaron variaciones nutricionales importantes entre ellas.

Además estadísticamente, utilizando la Prueba F para Análisis de varianza al 95% de confianza, las Muestras forrajeras (Ensayo 1) y Raciones Totales Mezcladas (Ensayo 2) no presentaron diferencias significativas entre las medias referentes a las concentraciones de taninos totales y condensados, por lo que, cualquiera de estas muestras de forrajes y raciones totales puede escogerse para la elaboración de una dieta destinada a la alimentación del ganado lechero de la Asociación Cooperativa Astoria.

Sin embargo, se recomienda realizar un estudio económico que permita evaluar los costos de alimentación y producción en función del beneficio que se obtiene con los diferentes alimentos analizados en el estudio.

CAPITULO I
INTRODUCCION

1.0 INTRODUCCION

La alimentación constituye uno de los pilares fundamentales de la producción animal, por lo que se hace necesaria la investigación enfocada hacia la obtención de resultados que permitan establecer no sólo el tipo de alimento adecuado para una determinada especie, sino también los posibles efectos nutricionales que pueda tener su utilización, ya sea que el mismo sea ofrecido como alimento único o como parte de una ración establecida. Esto se traduce en información que ayude al productor a minimizar las pérdidas ocasionadas por una indebida transformación de alimentos por parte de los animales durante su período de desarrollo, crecimiento y de producción. ⁽¹¹⁾

Actualmente en El Salvador, el sorgo es un cultivo que ha ganado un importante lugar dentro de la producción agrícola del país, sin embargo, se han realizado pocos estudios que ayuden a establecer el efecto de determinados factores antinutricionales que se encuentran presentes en la composición del sorgo, los cuales podrían afectar de una u otra forma el aprovechamiento de los nutrientes por parte del animal.

Uno de estos factores lo constituye el grupo de los taninos, los cuales son compuestos fenólicos que se producen en diversas partes de las plantas tales como corteza, frutos, hojas, raíces y semillas. En nutrición a los taninos se les considera sustancias antinutritivas, ya que en elevadas concentraciones pueden limitar la absorción de algunos nutrientes y en el caso de las proteínas, su absorción se ve inhibida debido a que los taninos son capaces de combinarse con ellas dificultando dicha absorción. ⁽¹¹⁾

La presente investigación se realizó teniendo por objetivo general la cuantificación de taninos en diferentes muestras forrajeras, raciones totales mezcladas y fuentes de forrajes proporcionadas y utilizadas para la

alimentación del ganado lechero de la Asociación Cooperativa Astoria ubicada en el Cantón Las Flores del Municipio de San Pedro Masahuat en el departamento de La Paz, El Salvador, las cuales son a base de mezclas de dos leguminosas: ***Canavalia ensiformis*** (Canavalia), ***Vigna sinensis*** (Frijol Mono) y una gramínea: ***Sorgum vulgare*** (Sorgo).

La parte experimental se llevó a cabo en el laboratorio de la Facultad de Química y Farmacia y en el laboratorio del Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ambos de la Universidad de El Salvador, donde se realizó la cuantificación de los taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu y los taninos condensados por medio del Método de Proantocianidinas; además se determinó el Análisis Bromatológico Proximal (Determinación de Humedad, Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda, Cenizas y Carbohidratos).

Las muestras en estudio se evaluaron por comparación de gráficos para recomendar qué muestras presentaron las mejores características nutricionales basado en el contenido de taninos como factor antinutricional, comparando estos resultados con los parámetros obtenidos en el Análisis Bromatológico Proximal; todas las muestras del estudio reportaron concentraciones de taninos totales y condensados inferiores al 2% y no presentaron variaciones nutricionales importantes. Además, las Muestras forrajeras y Raciones Totales Mezcladas se analizaron estadísticamente utilizando la Prueba F para Análisis de varianza al 95% de confianza, donde se encontró que no presentaron diferencias significativas entre las medias referentes a las concentraciones de taninos, por lo que cualquiera de estas muestras de forrajes y raciones totales puede escogerse para ser utilizadas en la elaboración de una dieta para el ganado lechero tomando en cuenta los costos y beneficios.

CAPITULO II
OBJETIVOS

2.0 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GENERAL

Cuantificar los taninos por dos métodos espectrofotométricos en muestras forrajeras y raciones totales a base de leguminosas: ***Canavalia ensiformis*** (Canavalia), ***Vigna sinensis*** (Frijol mono) y gramíneas: ***Sorgum vulgare*** (Sorgo).

2.2 OBJETIVOS ESPECIFICOS

- 2.2.1 Determinar el contenido de taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu en diferentes muestras forrajeras, raciones totales mezcladas y fuentes de forrajes a base de ***Canavalia ensiformis*** (Canavalia), ***Vigna sinensis*** (Frijol mono) y ***Sorgum vulgare*** (Sorgo).
- 2.2.2 Evaluar el contenido de taninos condensados por el Método de Proantocianidinas en diferentes muestras forrajeras, raciones totales mezcladas y fuentes de forrajes a base de ***Canavalia ensiformis*** (Canavalia), ***Vigna sinensis*** (Frijol mono) y ***Sorgum vulgare*** (Sorgo).
- 2.2.3 Determinar las características nutricionales de las diferentes muestras forrajeras, raciones totales mezcladas y fuentes de forrajes por medio del análisis bromatológico proximal o método de Wendee.
- 2.2.4 Comparar estadísticamente si existe diferencia significativa en la concentración de taninos de las muestras forrajeras y raciones totales mezcladas por ambos métodos espectrofotométricos.
- 2.2.5 Recomendar por comparación de gráficos las muestras que presenten las mejores características nutricionales basado en el contenido de taninos como factor antinutricional y el análisis bromatológico proximal.

CAPITULO III
MARCO TEORICO

3.0 MARCO TEORICO

3.1 ALIMENTACION ANIMAL ⁽⁴⁾

Los alimentos desde el punto de vista ganadero son todas aquellas sustancias que el hombre pone a disposición de los animales directa o indirectamente para que consumiéndolas puedan mantener con normalidad sus funciones vitales, alcancen su desarrollo corporal propio de la especie y den las producciones útiles que se pretenden obtener.

Los alimentos en general, salvo los alimentos minerales y el agua, son compuestos orgánicos cuya base es la combinación de cuatro elementos principales: carbono, hidrógeno, oxígeno y nitrógeno, con otros componentes que se encuentran en menor proporción (fósforo, azufre, cloro, calcio, sodio, potasio y magnesio). Además existen otros elementos que figuran en cantidades mínimas pero no menos indispensables para el metabolismo nutricional: hierro, yodo, cobre, zinc, cobalto, cromo, zinc, flúor, selenio, molibdeno, manganeso, etc. Todos estos compuestos aparecen agrupados en combinaciones químicas que dan la naturaleza fundamental a los alimentos.

3.1.1 Definición y características de los forrajes ⁽²⁵⁾

Forraje se refiere a cualquier producto vegetal rico en fibra (más de un 20%) y con un escaso contenido en energía o Materias Nitrogenadas Digestibles (MND), es decir, un alimento vegetal de volumen y escaso a moderado valor nutritivo.

La Sociedad Española para el Estudio de los Pastos (SEEP) adopta una postura más restrictiva y lo define como la parte vegetativa de las plantas que se utiliza para la alimentación del ganado o la fauna silvestre una vez cortada, dado directamente o conservado (por henificación o ensilado).

Los forrajes se caracterizan por ser alimentos que contienen un alto volumen por unidad de peso, la longitud y densidad de las partículas determinan el tiempo que quedan en el rumen; también tienen un alto porcentaje de fibra y baja proteína. Los forrajes varían en su contenido de proteína; las leguminosas pueden contener de 15 a 23% de proteína cruda, las gramíneas contienen de 8 a 18% de proteína cruda (según el nivel de fertilización) y los subproductos de cosecha, tales como paja de trigo o cebada, pueden tener sólo de 3 a 4% de proteína cruda. Desde un punto de vista nutricional, los forrajes pueden variar entre alimentos de muy buena calidad (pasto joven y succulento, leguminosas en su etapa vegetativa) y alimentos de muy baja calidad (pajas y ramoneos).

Los forrajes son requeridos en la dieta en una forma física gruesa ya que contribuyen significativamente a:

- Estimular la ruminación y la salivación, procesos importantes para mantener un ambiente sano en el rumen.
- Estimular las concentraciones del rumen y la tasa de salida de la digesta del rumen, que en su turno mejora la eficiencia del crecimiento de las bacterias del rumen.
- Evitar la depresión de grasa en la leche, que puede resultar cuando los alimentos tienen una proporción muy alta de concentrados. Las raciones que contienen menos de 35% de forraje resultan en la producción de leche con un bajo contenido de grasa.

3.1.2 Clasificación de los alimentos para consumo animal

Se clasifican de acuerdo a su composición en:

- a) Alimentos de volumen o groseros
- b) Concentrados
- c) Ración Total Mezclada

a) Alimentos de volumen o groseros ^{(4) (25)}

Tienen alto porcentaje de fibra (18-50%) y alto contenido de agua (10-90%). De acuerdo al orden decreciente en materia seca serán: pajas, henos, ensilajes, forrajes verdes y pastos.

- Paja: es el residuo de los cereales que queda después de la recolección de su grano, está compuesta básicamente por tallos (cañas) y hojas secas. Constituye un alimento de baja calidad pero de enorme utilidad para los ganaderos en épocas de escasez de forrajes verdes.
- Heno: es un forraje consistente en la siega de forrajes verdes que ha sido conservado por desecación natural hasta alcanzar un contenido de humedad inferior a un 20% y luego es almacenado en forma de pacas.
- Ensilado: es un forraje que ha sido conservado por medio de un proceso de fermentación anaerobia, después de ser recolectado, comprimido e introducido en silos donde se impide el acceso del aire.
- Forrajes verdes: todas las partes verdes y fibrosas de las plantas que son muy apetecibles por los animales. Tienen un alto contenido de humedad y en estado vegetativo joven pueden llegar a tener muy bajos contenidos de Fibra.
- Henascos: son hierbas que, por no haber sido consumidas por el ganado, se han secado en pie y poseen una baja palatabilidad y una calidad nutritiva muy baja.
- Ramón (Ramoneo): son las hojas y ramillas finas de árboles y arbustos que pueden ser consumidas por el ganado o la fauna silvestre. El

ramoneo es la acción de consumir el ramón. Cuando ramonean, además de ramón, el ganado y la fauna silvestre también consumen otros recursos de las plantas leñosas (flores, semillas, yemas, cortezas, etc.).

- Pasto: cualquier recurso vegetal que puede servir de alimento al ganado (y, por extensión, a la fauna silvestre) ya sea en pastoreo o como forraje.

b) Concentrados ⁽⁴⁾

Se denominan así porque tienen gran cantidad de elementos nutritivos en relación a su peso. Aquí se incluyen todos los granos de cereales y sus harinas (maíz, cebada, trigo, avena, sorgo, centeno, etc.), los granos de leguminosas, las tortas o harinas de oleaginosas, los propios granos de oleaginosas (soja, girasol, etc.) y todos los piensos compuestos. Son prácticamente los mismos alimentos que por lo general consumen los humanos pero transformados para su uso en ganadería.

Estos alimentos se utilizan de forma común para complementar las dietas forrajeras de rumiantes altamente productores. Tienen un bajo contenido en humedad (con un contenido de 35 a 90% de materia seca) y se conservan bastante bien. En comparación con los alimentos de volumen, tienen muy bajo contenido en fibra (menor a 18%).

c) Ración Total Mezclada (RTM) ⁽⁹⁾

La Ración Total Mezclada se define como la mezcla de forrajes, concentrados y suplementos, formulada para llenar los requerimientos nutricionales específicos de las vacas y ser alimentadas a libre consumo.

La RTM es una buena opción para incluir diversos tipos de ingredientes como subproductos de destilería, citropulpa, semilla de algodón y otros. Algunos de estos productos podrían no ser muy palatables si se ofrecen individualmente, pero cuando se mezclan con heno, pasto o ensilado, se enmascara el “mal

sabor” y se obtienen los beneficios nutricionales del subproducto. Con la Ración Total Mezclada se mejora la eficiencia alimenticia ya que, al ofrecer diversos tipos de ingredientes, se da una sincronización de nutrientes a nivel ruminal de manera que los microorganismos del rumen cuenten con niveles adecuados de energía, proteína y minerales.

Una de las mayores ventajas que ofrece este sistema es que las vacas no pueden “escoger” entre los ingredientes, es decir, su habilidad de seleccionar se ve disminuida. Además, diversos estudios han demostrado que la producción láctea por vaca es mayor con el uso de RTM que la obtenida con sistemas de pastoreo, ya que hay que tomar en cuenta que la energía es el primer nutriente limitante para vacas de alta producción, cuando se ofrece forraje como único alimento, por lo que el incremento en producción se atribuye a un aumento en el consumo de energía, ya que la RTM incluye la provisión de nutrientes de una forma más uniforme a lo largo del día.

3.1.3 Especies forrajeras ^{(8) (7)}

Las principales especies forrajeras pueden ser divididas en dos familias: Gramíneas y Leguminosas, ambas pertenecen a la clase Angiosperma (del latín **angi-**, que significa encerrada, y del griego **-sperma**, que significa semilla, nombre común de la división o filo que contiene las plantas con flor y que constituyen la forma de vida vegetal dominante). Presentan similitudes en la polinización, fertilización y estructura de sus flores (poseen cáliz con dos sépalos, corola formada por pétalos, además de estambres y pistilos) y el hecho de que sus semillas están cubiertas por algunas estructuras.

Las Gramíneas, producen un tipo especial de semilla llamada "grano" que es rica principalmente en carbohidratos pero también suele contener algo de aceite y proteínas. Su función primordial para el organismo es proporcionar calorías, o sea, energía.

Las Leguminosas denominadas también "legumbres" son alimentos con un gran aporte nutritivo. Se presentan, en general, como granos secos separados de las vainas donde se producen.

Una de las grandes ventajas que tienen las leguminosas en comparación con las gramíneas es su mayor calidad nutricional, especialmente en épocas de sequía. Mientras que el contenido de proteína bruta en las gramíneas en verano generalmente se encuentra por debajo de 7%, el de las leguminosas es mayor al 10%. La digestibilidad muestra un comportamiento similar, mientras que en las gramíneas se reduce drásticamente durante la época seca, en las leguminosas se mantiene relativamente estable. Otra gran ventaja de las leguminosas es el efecto que tienen sobre la calidad (contenido de proteína) de la gramínea asociada. Las ventajas de las leguminosas no se limitan a su mayor contenido de nitrógeno, sino que también tienen mayores contenidos de calcio y magnesio que las gramíneas.

3.2 GENERALIDADES SOBRE LEGUMINOSAS ⁽²³⁾

La familia de las Leguminosae es una de las de mayor connotación debido a su importancia desde el punto de vista ecológico, económico y social. Presenta una enorme diversidad genérico-específica; se ha señalado como el tercer grupo de plantas con flor, con más de 18,000 especies en 650 géneros. Estas plantas tienen una amplia versatilidad, excelentes como fuente de proteína y energía para rumiantes en pastoreo, se distinguen por su simbiosis con *Rhizobium* y con otros organismos intercambiantes de nitrógeno.

Las leguminosas presentan una buena composición química; con un nivel de proteína que en muchas de ellas es de hasta el 34%, la solubilidad y la degradabilidad de la proteína, así como el comportamiento digestivo cuando son bien manejadas, las hacen atractivas como fuente de alimento suplementario para rumiantes en áreas tropicales.

Sin embargo, estas plantas pueden tener elementos antinutricionales que limitan su consumo cuando son ofrecidas en estado vegetativo joven como único alimento o si representan un alto porcentaje de la dieta; por lo cual, su empleo se condiciona a utilizarse en praderas asociadas a gramíneas o bien utilizarse como bancos de proteína. De ahí que sea indispensable conocer su composición química y en especial el contenido de compuestos antinutricionales.

3.2.1 Generalidades sobre *Canavalia ensiformis* ^{(8) (29)}

Otras variedades: *Dolichos ensiformis* L., *Malocchia ensiformis* (L.) Sav.

Nombres comunes: Canavalia, Frijol de chancho, Frijol espada, Frijol machete, Frijol mantequilla, Haba de caballo.

Clasificación científica:

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Fabales
 Familia: Fabaceae
 Subfamilia: Faboideae
 Género: Canavalia
 Especie: ensiformis



Figura N° 1 Especie vegetal *Canavalia ensiformis* (Canavalia) ⁽²⁹⁾

Origen: Cultivada desde las regiones sureñas de Estados Unidos hasta América del Sur. Su origen se encuentra en Centroamérica y las Antillas. Existe evidencia arqueológica de su cultivo desde hace varios miles de años en México, Perú y Arizona.

Descripción: Es una planta anual, erecta, con una altura de 0.6-2 m. Sus hojas constan de 3 folíolos membranáceos, son ovadas de 6 a 12 cm de longitud y de color verde oscuro. Presenta inflorescencia de hasta 30 cm de largo con 10-20 flores de color rosa en pedúnculos. El fruto (legumbre) es lineal, ligeramente curvo de hasta 30 cm e indehisciente. Las semillas son elipsoidales, de 12-20 y de unos 2 cm cada una, son de color blanco con una marca parda.

Usos: Las semillas poseen una alta proporción de aminoácidos esenciales, a excepción de triptófano por lo que se puede incorporar en la dieta humana (en forma de harina, pastas y galletas), pero hay que asegurar un procesamiento adecuado para reducir riesgos de intoxicación. Por otra parte, se usa como fuente industrial de lectinas y ureasa. La semilla se utiliza como repelente para el control de babosas y las hojas controlan los zompopos matando al hongo alimenticio que ellos cultivan. También se utiliza en la alimentación animal por ser importante fuente de gran valor energético y proteico.

Características edafoclimáticas: Esta especie puede sembrarse entre 0 y 1800 msnm (aunque lo óptimo es hasta una altura de 900 msnm), con precipitación alrededor de 640-4200 mm/año (el rango óptimo de precipitación es de 900 a 1200 mm/año) y temperatura de 15 a 30 °C presentando como rango óptimo de 15 a 28 °C. Sumamente resistente a la sequía aunque se adapta a condiciones húmedas. Tolera la sombra y moderadamente las inundaciones. El frijol canavalia tolera los suelos salinos, alcalinos y los ácidos (suelos con pH de 4.3 a 8.0 y el rango ideal de pH va de 5 a 6). También crece en suelos altamente húmedos, con textura de arenoso-franco a arcillosa y en los de baja fertilidad con poco contenido de fósforo. No tolera suelos que presentan altos contenidos de aluminio.

3.2.2 Generalidades sobre *Vigna sinensis* ^{(15) (21)}

Otras variedades: *Vigna unguiculata*, *Vigna catjang*, *Vigna sesquipedalis*

Nombres comunes: Caupí, Frijol vigna, Frijol mono, Chícharo salvaje o Frijol castilla.

Clasificación científica:

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Magnoliopsida
 Orden: Fabales
 Familia: Fabaceae
 Subfamilia: Faboideae
 Género: *Vigna*
 Especie: *sinensis*

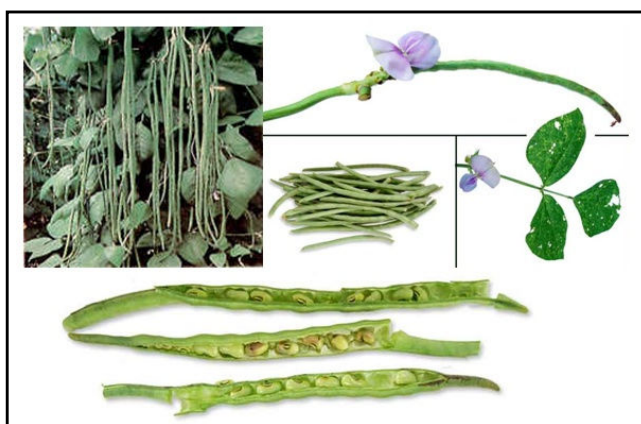


Figura N° 2 Especie vegetal *Vigna sinensis*
 (Frijol mono) ⁽¹⁵⁾

Origen: África Central

Descripción: Es una planta herbácea o semiarbusciva con una altura que varía de 0.3 a 2 m, anual, con tallos que varían en su calidad de erectos y arbustivos. Presenta hojas trifolioladas de color verde oscuro con pecíolos largos de 2.5 a 12.5 cm de largo; el folíolo central es alargado, de 2.5 a 12 cm de largo, liso y con folíolos laterales irregulares. Las flores se encuentran en racimos axilares sobre pedicelos de 15 a 30 cm de largo y son de color púrpura azulado a blanco. La vaina es larga (de 15 a 60 cm), estrecha y contiene las semillas que van de 10 a 15. Las semillas tienen un tamaño de 4 a 8 mm de largo y de 3 a 4 mm de ancho, de color y forma variables.

Usos: Se emplea como alimento humano en regiones tropicales del Viejo y Nuevo Mundo. La planta completa también se utiliza como forraje solo o en ensilado con otras plantas para alimentación animal.

Características edafoclimáticas: Es un cultivo de clima cálido, muy adaptado a zonas de los trópicos húmedos, también se puede desarrollar en zonas templadas. Es tolerante al calor y condiciones secas, sin embargo es sensible a las heladas; con temperaturas de 5 a 7 °C se tienen problemas con la germinación, siendo la temperatura óptima entre 18 y 20 °C. Prospera en lugares con precipitación entre 650 y 2000 mm pero esta especie de leguminosa es de las más tolerantes a la sequía, incluso con una precipitación anual de 400 mm; también presenta tolerancia a la inundación. Es tolerante a una amplia gama de texturas de suelo, desde los arenosos a los suelos arcillosos bien drenados. Se adapta a una amplia escala de pH, pero prefiere los suelos ligeramente ácidos (pH entre 5.5 a 6.5) a los ligeramente alcalinos. Tiene poca tolerancia a la salinidad, la conductividad eléctrica no debe ser mayor de 2 mmhos/cm.

3.3 GENERALIDADES SOBRE GRAMINEAS ^{(8) (22)}

La familia de las gramíneas constituye una de las taxas de más amplia distribución mundial. Ello se debe a que la estructura vegetativa y reproductiva de estas plantas se especializó notablemente y se orientó hacia una simplificación progresiva relacionada con su adaptación al frío o al calor, a la sequedad o a la humedad, al viento o a la calma; así como a las variaciones del suelo, propios de los valles, estepas, costas, sabanas y laderas cubiertas o no, donde ellas pueden constituir la vegetación dominante.

Las gramíneas son el grupo de plantas más importantes para el hombre. Los cereales, trigo, maíz, avena, sorgo, centeno y caña de azúcar pertenecen a esta

familia. También son el principal alimento de los animales que nos suministran carne y leche al ser los principales constituyentes de estos campos.

Dentro de esta familia encontramos al sorgo, este cereal reviste una gran importancia ya que todos los sorgos contienen polifenoles, los cuales afectan el color, la apariencia y el valor nutritivo del grano y sus productos. Los polifenoles incluyen pigmentos de antocianina que se encuentran principalmente en el epicarpio y en la testa del grano, y muchos de ellos tienen desventajas nutricionales por la formación de complejos con las proteínas dietéticas y las enzimas digestivas, interfiriendo así con la digestión y la absorción.

Hallazgos en investigaciones han mostrado diferentes formas químicas de los flavonoides en el grano de sorgo, de acuerdo a su grado de desarrollo. Así, es conocido que granos de sorgo inmaduros o en proceso de desarrollo, contienen unidades de flavan-3-ols (Catequina) o de su estereoisómero (Epicatequina) capaces de polimerizarse para formar la molécula de taninos condensados o proantocianidinas.

Los taninos condensados han sido clasificados como un grupo particular dentro de los polifenoles, vinculándoseles con una acción tóxica que compromete la calidad nutritiva del grano y/o de la dieta, a través de un efecto primario que lleva consigo el deterioro de la digestibilidad de los nutrientes. Este efecto de los taninos, contrario a las ventajas que le imparte a la planta desde el punto de vista agronómico, ha constituido la principal limitante nutricional de los sorgos con taninos en la formulación de dietas. Hasta el presente, la utilización eficiente de sorgos altos en taninos en las dietas balanceadas ha constituido para los nutricionistas y formuladores un reto difícil de afrontar, tomándose como primera medida de seguridad la reducción significativa en el porcentaje de inclusión en las dietas.

3.3.1 Generalidades sobre *Sorghum vulgare* ⁽²²⁾

Otras variedades: *Sorghum vulgare Pers.*

Nombres comunes: Sorgo, Trigo de guinea.

Clasificación científica:

Reino: Plantae
 División: Magnoliophyta
 Clase: Liliopsida
 Orden: Poales
 Familia: Poaceae
 Subfamilia: Panicoideae
 Género: *Sorghum*
 Especie: *vulgare*



Figura N° 3 Especie vegetal *Sorghum vulgare* (Sorgo) ⁽⁸⁾

Origen: Los primeros informes muestran que el sorgo existió en India en el siglo I d. C. Sin embargo, el sorgo quizás sea originario de África Central (Etiopía o Sudán), pues es allí donde se encuentra la mayor diversidad; ésta disminuye hacia el norte de África y Asia. El sorgo como cultivo doméstico llegó a Europa aproximadamente hacia el año 60 d. C. pero nunca se extendió mucho en este continente. No se sabe cuándo se introdujo la planta por primera vez en América, las primeras semillas probablemente se llevaron al hemisferio Occidental en barcos de esclavos procedentes de África.

Descripción: El sorgo es una planta perteneciente a la familia de las gramíneas con una altura de 1 a 2 m, se trata como planta anual aunque es una hierba perenne y en los trópicos puede cosecharse varias veces al año. Presenta un tallo con una altura desde 45 cm, de 7 a 24 nudos, erecto, sólido, con una

corteza dura y una médula suave. Las hojas son erectas, hasta casi horizontales y se encorvan con la edad, alternas, lanceoladas y la superficie superior es lisa y cerosa. La inflorescencia es una panícula de racimos con un raquis central completamente escondido por la densidad de las ramas de la panícula. El grano de sorgo está compuesto de tres partes principales: la cubierta exterior o pericarpio (se divide en tres partes: epicarpio, mesocarpio y endocarpio), el tejido de almacenamiento o reserva (consiste en la capa de aleurona y las porciones periféricas) y el embrión (germen).

Usos: Se emplea en alimentación humana y animal (para forraje y alimentos groseros secos, pastos extensivos y forrajes consumidos verdes y ensilados).

Características edafoclimáticas: El sorgo prospera en suelos que varían de arenosos ligeros a arcillas pesadas, debido a su gran adaptabilidad se puede producir en suelos pobres, pero sus mejores rendimientos se obtienen en migajones arenosos con buen drenaje. Dada la gran longitud de sus raíces los suelos deben tener una profundidad de 1 a 2 m, resiste suelos ácidos de pH 5.5 a los francamente alcalinos con un pH de 8.5, tolera la salinidad del terreno. Es capaz de soportar sequía durante un periodo de tiempo bastante largo y reemprender su crecimiento más adelante cuando cesa la sequía. Debido a que se cultiva en diversas partes del mundo, el clima en el que se desarrolla esta gramínea va desde el tropical hasta los templados, teniendo como temperatura óptima 26 °C con un mínimo de humedad de 550 a 600 mm en todo el ciclo.

3.4 GENERALIDADES DE LOS TANINOS

Actualmente el término tanino, se utiliza para distinguir compuestos naturales de alto peso molecular (500-25000 Daltons) con gran número de polifenoles hidroxilados que pueden ligarse a proteínas y otras moléculas. ⁽²³⁾

Los taninos son sustancias vegetales, inodoras, amargas y astringentes (producen sequedad en la mucosa bucal); constituyen un grupo heterogéneo de compuestos poliméricos polifenólicos de peso molecular relativamente alto, solubles en agua, alcohol y acetona. Reaccionan con el cloruro férrico y otras sales y se oxidan al contacto con el aire. Los taninos se producen en la corteza, frutos, hojas, raíces y semillas de una gran variedad de vegetales; se originan como resultado de las funciones fisiológicas de las plantas y como respuesta al ataque de predadores. ⁽¹¹⁾

Los taninos tienen importancia en la nutrición animal por su propiedad química de formar complejos con numerosos tipos de moléculas, incluyendo: proteínas, carbohidratos, paredes celulares bacterianas y enzimas de la digestión que son las encargadas de la degradación de estas mismas proteínas. ⁽²³⁾

En el intestino delgado, las enzimas digestivas permiten aprovechar los nutrientes. Dichas enzimas degradan las proteínas y los glúcidos en aminoácidos y glucosa u otros monosacáridos, respectivamente. Los taninos, sin embargo, interfieren uniéndose a las enzimas no permitiendo realizar el proceso anterior. En base a esto, a los taninos se les considera sustancias antinutritivas ya que en elevadas concentraciones pueden limitar la absorción de algunos nutrientes como el hierro, formando complejos insolubles en agua que no pueden ser absorbidos en el epitelio intestinal, limitando así el máximo aprovechamiento del alimento. Además afectan la calidad nutricional al reducir el valor biológico y la palatabilidad, precipitan las proteínas y aumentan la excreción de nitrógeno fecal. ⁽¹¹⁾

Varios estudios hechos en ganado vacuno han demostrado que un contenido elevado de taninos en la dieta perjudica la digestibilidad de la proteína y de los

carbohidratos y reduce el crecimiento, la eficiencia de los concentrados, la Energía Metabolizable y la biodisponibilidad de aminoácidos. ⁽¹¹⁾

3.4.1 Clasificación de los taninos ⁽³⁰⁾

En general, los taninos se agrupan en dos clases:

- Taninos hidrolizables
- Taninos condensados o proantocianidinas

Taninos hidrolizables

Los taninos hidrolizables son polímeros constituidos por monosacáridos (especialmente glucosa), esterificados en una o varias posiciones con ácido gálico o ácidos parecidos como el m-didálico y el elágico. A su vez, estos ácidos pueden unirse oxidativamente, mediante uniones C-C y/o C-O, a otras unidades galoilo produciéndose una amplia variedad de estructuras monoméricas y oligoméricas.

Los taninos hidrolizables se sintetizan principalmente en los cloroplastos, paredes celulares y espacios intercelulares. Son más pequeños que los taninos condensados y son hidrolizados con mayor facilidad. Pueden ser hidrolizados por ácidos, álcalis y enzimas.

Según la naturaleza del ácido unido a la glucosa o al poliol se han distinguido clásicamente dos tipos de taninos hidrolizables: taninos gálicos, cuando el ácido fenólico es el ácido gálico (ácido 3,4,5-trihidroxibenzoico), y los impropriamente llamados taninos elágicos, cuando el ácido fenólico es el hexahidroxidifénico (HHDP) y sus derivados de oxidación como dehidrohexahidroxidifénico, ácido quebúlico, etc. El nombre de taninos elágicos es impropio porque en ningún tanino natural se ha encontrado como unidad estructural el ácido elágico como

se creía antes, sino que es un artefacto que se produce por doble lactonización del ácido hexahidroxidifénico en la manipulación de los taninos.

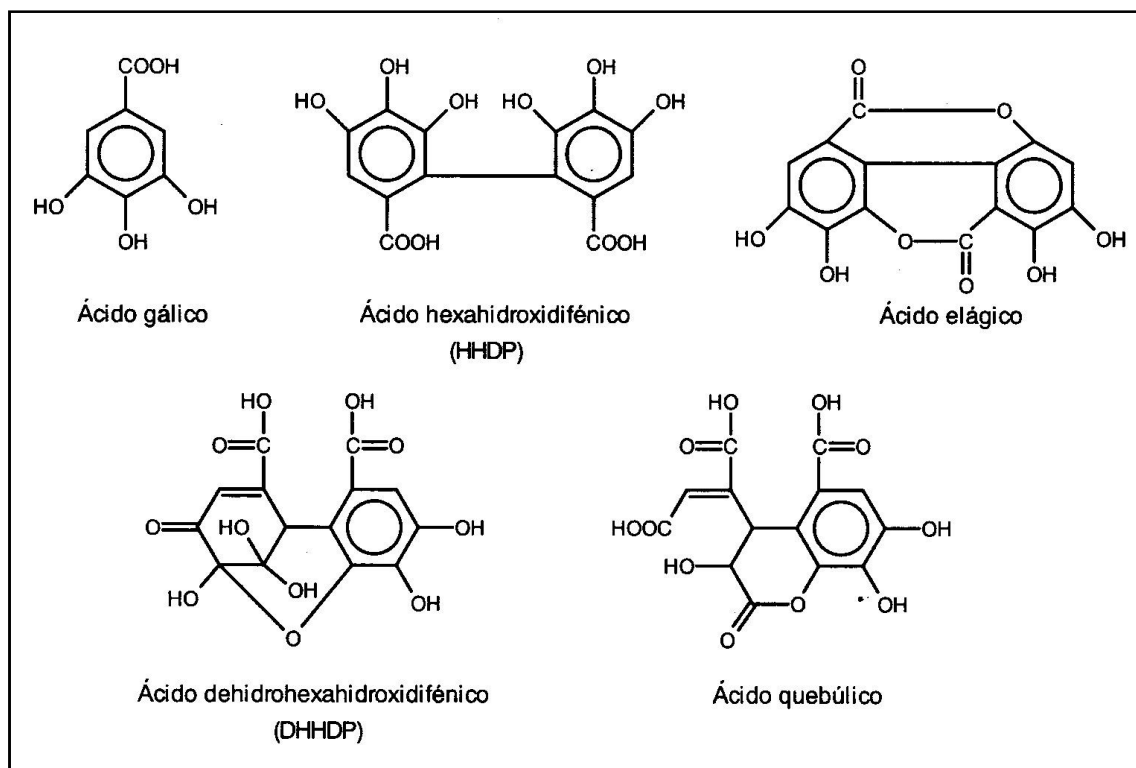


Figura N° 4 Unidades estructurales de los taninos hidrolizables. (30)

- Galotaninos o Taninos gálicos

Los taninos hidrolizables más simples son ésteres de ácido gálico y un poliol alifático. El último es casi siempre D-glucosa y los ésteres β -2,3,4,6-tetragaloil-D-glucosa y β -1,2,3,4,6-pentagaloil-D-glucosa son los precursores de la mayoría de los taninos hidrolizables.

Los galotaninos incrementan su grado de condensación por esterificación entre unidades de ácido gálico para producir cadenas de las llamadas unidades depsídicas. Estos taninos tienen la estructura de β -penta-O-galoil-D-glucosa, a la que se unen depsídicamente entre una y cinco unidades galoilo.

La materia prima de dépsidos o galotaninos más estudiada es el “galotanino chino” o “ácido tánico”, obtenido de las agallas de *Rhus semialata*.

- Elagitaninos o Taninos elágicos

La formación de los taninos elágicos monómeros se da por acoplamiento oxidativo C-2/C-2' de los grupos galoilo de la molécula para dar lugar a un núcleo de hexahidroxifenoléster.

Elagitaninos más complejos (oligómeros y polímeros), con masa molar comprendida entre 2000 y 5000 g/mol, se pueden formar por el acoplamiento oxidativo intermolecular entre Elagitaninos monómeros. La unión entre monómeros se establece por enlace C-O entre el ácido hexahidroxidifénico de uno y un ácido gálico del otro. Es por eso que tienen una gran complejidad estructural estos oligómeros, teniendo en cuenta los monómeros que puedan intervenir y los tipos de enlace que pueden existir entre los ácidos gálico y hexahidroxidifénico o sus derivados.

Taninos condensados o Proantocianidinas

La unidad estructural de este grupo de taninos es el núcleo de flavan-3-ol, 3-hidroxi flavano o catequina (unidas entre sí mediante enlaces carbono-carbono, C-4/C-8 ó C-4/C-6, no susceptibles de hidrólisis).

Las proantocianidinas resultan de la condensación de este núcleo, dando lugar a oligómeros solubles que contienen de 2 a 6 unidades y polímeros insolubles.

Cuando este tipo de taninos se calientan en medio fuertemente ácido y en presencia de iones metálicos, los cuales actúan como catalizadores, la unión interflavánica se rompe oxidativamente, dando antocianidinas como productos de degradación y según que la antocianidina resultante sea cianidina, delfinidina o pelargonidina se denominan: “procianidinas”, “prodelfinidinas” y

“propelargonidinas” correspondientemente. Por ello, los taninos condensados son designados también como proantocianidinas, término sustitutivo del antiguo de leucoantocianidinas. Esta última denominación está reservada actualmente para nombrar a los flavonoides monoméricos flavan-3,4-diol y flavan-4-ol, compuestos por otra parte muy poco frecuentes en la naturaleza y que son altamente reactivos, transformándose por tratamiento ácido y por autooxidación, sin calentamiento, en antocianidinas y 3-desoxiantocianidinas respectivamente. Por el contrario, los monómeros flavan-3-ol o catequinas no se transforman en antocianidinas bajo dichas condiciones y, por tanto, no son considerados leucoantocianidinas.

3.4.2 Interacción química de taninos con proteínas

La principal característica de los taninos es que pueden ligarse a las proteínas. Históricamente se creyó que los taninos ligaban y precipitaban todas las proteínas de manera no específica, pero ahora se reconoció que las interacciones tanino-proteína son específicas y dependen de la estructura de la proteína y del tanino. ⁽²³⁾

Esta interacción específica depende en primer término de la naturaleza química de ambos componentes, resultando ser determinantes no sólo las estructuras químicas primarias (presencia de grupos reactivos) sino también otras características moleculares como el tamaño y estructura secundaria o tridimensional, las cuales pueden resultar factores decisivos en la formación de los complejos con la proteína. ⁽³⁾

La formación del complejo tanino-proteína es más favorable y fuerte cuando las proteínas son relativamente más largas, con una estructura flexible; esta interacción se intensifica con la movilidad conformacional y el peso molecular de los taninos. Las interacciones tanino-proteína están basadas en enlaces de

hidrógeno e hidrofóbicos, iónicos y covalentes, aunque éstos ocurren con menos frecuencia. ⁽²³⁾

Los taninos y las proteínas son multivalentes en cuanto que presentan en sus moléculas varios posibles lugares susceptibles de formación de enlaces de hidrógeno o de interacciones hidrofóbicas. El grupo fenólico del tanino es un excelente donador de hidrógeno para formar fuertes enlaces con el grupo carboxilo de la proteína, por esta razón los taninos tienen una mayor afinidad por las proteínas que por el almidón. Por otra parte, en la formación del complejo tanino-proteína resultan también decisivas las condiciones de la reacción como pH, temperatura, composición del disolvente y tiempo de reacción. ^{(3) (23)}

La precipitación de proteínas por los taninos es dependiente del pH, existiendo un pH óptimo; la precipitación es máxima a valores de pH cerca del punto isoeléctrico de la proteína. En solución con un pH alto, los hidroxilos fenólicos son ionizados y las proteínas tienen una carga negativa neta, bajo estas condiciones la precipitación no ocurre ya que las proteínas exhiben fuerzas repulsivas. ⁽²³⁾

Esta dependencia apoya la hipótesis de la implicación de enlaces de hidrógeno en la interacción tanino-proteína; así como también está de acuerdo con el hecho de que la composición del disolvente puede ser un factor determinante en la formación del complejo tanino-proteína. Estos complejos no pueden ser disociados por tratamientos con tampones acuosos, pero sí por detergentes, inhibidores de enlaces de hidrógeno, o disolventes hidrófobos. Además, cuando la proporción tanino-proteína y el pH son óptimos, los complejos que se forman son de elevado peso molecular e insolubles en solución acuosa. ⁽³⁾

En cuanto a la influencia de la composición en aminoácidos de la proteína se destaca que las ricas en prolina, tales como el colágeno y las prolaminas, son las que presentan mayor afinidad por los taninos ya que la prolina tiene un nitrógeno amino secundario y así el oxígeno adyacente es un buen aceptor del enlace de hidrógeno. El colágeno y sus derivados, tales como la gelatina, son de importancia obvia en el fenómeno de curtido de pieles y las prolaminas en la fabricación de cerveza. Estas últimas proteínas son solubles en alcohol y están presentes en el grano de ciertos cereales incluyendo sorgo y cebada, los cuales a su vez contienen taninos que, bajo ciertas condiciones, se unen a las proteínas ricas en prolina. Un tercer grupo de proteínas de reconocido interés, son las proteínas de la saliva, también ricas en prolina; su alta afinidad por los taninos condiciona el consumo, por parte de los mamíferos, de las plantas que los contienen. ⁽³⁾

Por otro lado, los enlaces covalentes ocurren solamente bajo condiciones de oxidación mediante enzimas oxidativas (polifenoloxidasas y peroxidasas); este tipo de enlace es más estable en comparación de los enlaces hidrofóbico y de hidrógeno, además de tener importancia nutricional debido a su efecto irreversible. La precipitación no siempre ocurre en las interacciones tanino-proteína, cuando los taninos solubles interactúan con las proteínas se forman complejos solubles e insolubles.

La formación de complejos tanino-proteína solubles e insolubles depende de la concentración y tamaño de ambas moléculas; la formación de complejos insolubles se favorece cuando la concentración de la proteína está en exceso, es decir, menor cantidad de tanino en los sitios de enlace por cada molécula de proteína. Por otra parte, los complejos insolubles también se forman cuando los taninos están presentes en exceso y forman una capa hidrofóbica en la superficie del complejo. Los complejos solubles representan un problema analítico porque no se precipitan y por lo tanto es difícil su medición. ⁽²³⁾

La estructura del tanino puede influir también en la interacción tanino-proteína; una de las características de las que cabría esperar una mayor influencia es la forma tridimensional de dicho tanino, sin embargo, en algunas ocasiones se han atribuido afinidades de proteínas similares por ambos grupos de taninos, hidrolizables y condensados, a pesar de sus diferentes estructuras tridimensionales. Tanto las moléculas de taninos condensados como hidrolizables llevan grupos ortodihroxifenólicos con alta afinidad por las proteínas pero la estructura molecular de los elagitaninos es plana y redondeada, con los grupos fenólicos situados en la parte exterior, mientras que la de los taninos condensados presenta disposición en cadenas helicoidales. ⁽³⁾

3.4.3 Interacción química de taninos con carbohidratos ⁽²³⁾

Cuando los taninos condensados se polimerizan forman complejos con los polisacáridos; las características de tener baja solubilidad en agua, alto peso molecular y flexibilidad conformacional juegan un papel importante en la estabilidad de la interacción tanino-carbohidrato. En el almidón y la celulosa se reportan enlaces hidrofóbicos y de hidrógeno. Las interacciones tanino-almidón muestran diferentes grados de unión en comparación con la interacción tanino-celulosa. El almidón tiene la habilidad de formar huecos hidrofóbicos que permiten la formación de complejos con los taninos, mientras que la celulosa tiene una superficie directa de interacción con los taninos. La interacción tanino-almidón es específica para los polisacáridos; por otro lado, no está claro si el pH tiene un papel en la interacción tanino-carbohidrato, no obstante, existe evidencia de un incremento en la afinidad a valores de pH altos.

La asociación de proantocianidinas poliméricas y carbohidratos de la pared celular es aún incierto. Algunos investigadores propusieron que algunos taninos condensados son insolubles y se asocian con los carbohidratos de la pared celular de manera similar a la lignina. La asociación tanino-pared celular es una causa de interferencia analítica en la medición de la lignina.

3.4.4 Taninos en forrajes ^{(1) (5)}

Se ha reportado que el valor nutritivo de los forrajes está determinado por su composición química, pero el valor nutritivo por sí mismo está influenciado por un gran número de factores que pueden afectar la eficiencia con la cual los rumiantes utilizan estos forrajes. Consecuentemente se ha reportado que el valor nutritivo depende no sólo de la digestibilidad del forraje sino también del consumo voluntario, el cual a su vez se ve influenciado por la palatabilidad, variación estacional y disponibilidad.

Un aspecto que afecta el consumo y la digestibilidad de los componentes de los forrajes y que es muy marcado en las especies leguminosas tropicales es la presencia de metabolitos secundarios. Una gran cantidad de leguminosas arbóreas y arbustivas tropicales con potencial forrajero contienen factores antinutricionales tales como taninos, saponinas, fitatos, hemaglutininas, cumarina, flavonol, aminoácidos tóxicos (canavanina y mimosina), glucósidos cianogénicos, diversos tipos de fenoles e inhibidores de proteasas entre otros.

Los Factores Antinutricionales son sustancias naturales no fibrosas generadas por el metabolismo secundario de las plantas como un mecanismo de defensa ante el ataque de mohos, bacterias, insectos y pájaros o, en algunos casos, productos del metabolismo de las plantas sometidas a condiciones de estrés, que al estar contenidos en ingredientes utilizados en la alimentación de animales ejercen efectos contrarios a su óptima asimilación, reduciendo el consumo e impidiendo la digestión, la absorción y la utilización de nutrientes por parte del animal. La acción de los Factores Antinutricionales no sólo consiste en interferir con el aprovechamiento de los nutrientes sino que en varios casos promueve pérdidas importantes de proteína endógena y en algunos casos produce daños al organismo del animal que los consume.

Aregheore ⁽⁵⁾, indica que la presencia de algunos de estos factores pueden alterar la utilización de los nutrientes, la conversión alimenticia y por ende la productividad de los animales; también reporta cuatro grupos en los cuales se dividen los diferentes factores antinutricionales:

- Factores que afectan la utilización de la proteína y deprimen la digestión (ejemplos: taninos, saponinas).
- Quelatantes (ejemplos: oxalatos, fitatos, glucosinolatos).
- Antivitaminas (ejemplos: antivitamina A, antivitamina E, antivitamina D, dicumarol).
- Otros tóxicos (ejemplos: aminoácidos tóxicos -mimosina, canavanina-, nitratos).

Son tal vez los taninos, los compuestos que revisten una mayor importancia en las leguminosas forrajeras en el trópico, no sólo por su diversidad y concentración, sino también por sus múltiples efectos en la dinámica digestiva de los animales. Así, la literatura reporta un sin número de publicaciones donde los efectos de la suplementación con forrajeras que tienen taninos son de efectos variados. En muchos casos el efecto en el animal va a depender de la concentración en la planta y del nivel de suministro del forraje que los contiene en la dieta del animal.

La cantidad y el tipo de taninos sintetizados por las plantas varían considerablemente dependiendo entre otras cosas de la especie, el cultivar, el tejido, el estado de desarrollo y las condiciones ambientales. Por lo tanto, el estudio de los efectos nutricionales de los taninos en los animales requiere la cuantificación de los mismos para cada dieta en particular, de la estructura química y de la fisiología del animal en estudio. En general, la concentración de los taninos presentes en la naturaleza muestra una gran variabilidad. Esta

variación está fundamentalmente dada por la especie y por los diferentes órganos que componen la planta.

Douglas *et al.* ⁽¹⁾, determinaron en distintas especies forrajeras la concentración de taninos totales en los tallos y en las láminas de las hojas, expresada como porcentaje de la materia seca de la especie forrajera considerada. Así encontraron que cuando se trata de especies con alta concentración de taninos (5-8% de la Materia seca) las hojas y tallos tienen concentración semejante y cuando la concentración es baja (< 2% de la Materia seca) la lámina de la hoja posee entre 2 y 5 veces más que en otros órganos de la planta como por ejemplo los tallos.

La concentración presenta gran variación según las condiciones del ambiente en cuanto a temperatura, humedad y fertilidad de los suelos en los que se desarrollan. Generalmente la concentración es mayor en las especies que prosperan en suelos agrícolas pobres o de baja calidad, tal es el caso de las regiones tropicales y subtropicales.

3.4.4.1 Efectos de los taninos condensados en la alimentación bovina ⁽¹⁾

Los taninos condensados o proantocianidinas son polímeros de flavonas que se encuentran presentes en los tallos, las hojas e inflorescencias de diversas especies forrajeras. Este grupo de taninos interactúa con las proteínas formando complejos. En general, esta interacción es muy selectiva teniendo especial afinidad por aquellas de cadenas más largas y con prolinas ricas en proteínas. Producto de esta interacción, las proteínas precipitan a un pH cercano a su punto isoeléctrico. La facilidad de los taninos condensados de formar estos complejos es el aspecto más importante en sus efectos antinutricionales y toxicológicos.

La proteína no es degradada en el rumen pero está disponible para la digestión en el abomaso e intestino delgado. La formación de complejos tanino-proteína tiene lugar en el rumen a un pH entre 5 y 7.5, lo que convierte a las proteínas en indigestibles para la población ruminal que sólo llegan a ser solubles en el pH del abomaso (< 3.5) y del intestino delgado, por lo que se liberan para la digestión y absorción por parte del animal.

La concentración de los taninos en la dieta con un rango de valores medidos que varían entre 0 y 12% de materia seca, presentan respuesta lineal y positiva en la formación de complejos tanino-proteína. Los taninos pueden tener efectos positivos y negativos sobre el valor nutritivo de los forrajes según la concentración en la que se encuentren; en altas concentraciones, 5-10% de la materia seca, los taninos deprimen el consumo voluntario y la palatabilidad de las especies forrajeras, también reducen la digestibilidad de: la materia seca, la materia orgánica, la fibra, las proteínas, y los carbohidratos y por consiguiente afectan negativamente el desempeño productivo de los animales.

La presencia de taninos condensados en leguminosas puede disminuir el consumo de las mismas por actuar sobre la palatabilidad de estas especies, afectando la digestión. La formación de complejos entre las proteínas salivales y taninos provocan una sensación de astringencia que puede aumentar la salivación disminuyendo la palatabilidad de las especies vegetales, sin embargo, estos efectos parecen estar más sujetos a los efectos propios del funcionamiento del rumen y del intestino. Los taninos condensados parecen reducir la tasa de fermentación provocando efectos sobre el llenado del rumen hasta situaciones más severas en las que se reduce la digestión de la fibra y del nitrógeno. También pueden reducir la digestibilidad de las células de la pared por adherirse a enzimas bacterianas o por formar complejos indigestibles con carbohidratos estructurales.

En moderada y baja concentración, 2-4% de taninos en la materia seca, su efecto es beneficioso ya que previenen infecciones y aumentan la distribución de nitrógeno no amónico y de los aminoácidos esenciales desde el rumen.

Los efectos positivos son de importancia práctica para la producción, para subsanar problemas asociados a las proteólisis indiscriminadas que ocurren en el organismo. Diversos trabajos sugieren que existe un rango de concentración de taninos condensados óptima, 2-4% en la materia seca, dentro de la cual no se deprime ni la digestión ni el desempeño productivo del animal. Los mismos autores indican que en monogástricos, consumiendo plantas forrajeras con concentraciones mayores de 1% de taninos condensados en la materia seca, pueden provocar algunos disturbios y hasta la muerte.

3.5 ASOCIACIÓN COOPERATIVA ASTORIA ⁽²⁰⁾

La Cooperativa Astoria se encuentra ubicada en el cantón Las Flores del municipio de San Pedro Masahuat en el Departamento de La Paz, El Salvador. Nació por el año de 1980 con el Decreto 153 de la Reforma agraria, empezando a funcionar con 250 asociados. Actualmente es un conglomerado de cerca de 90 miembros pero como muchas otras cooperativas surgidas de la Reforma agraria estuvo a punto de desaparecer por problemas financieros, sin embargo, con la asesoría técnica recibida por parte del convenio CENTA-PROLECHE ahora la gremial es un ejemplo en el país al haber buscado alternativas que minimizaran los costos de producción para gozar de sostenibilidad.

En esta Cooperativa se trabaja con 160 cabezas de ganado aproximadamente, especialmente vacas de encaste Holstein con Brown Swiss, con las cuales se logra actualmente una producción de entre 1100 y 1200 botellas de leche diarias con un promedio de 18 botellas y esperan invertir y mejorar el manejo y los niveles de elaboración de productos lácteos a fin de ser más productivos en esa actividad.

CAPITULO IV
DISEÑO METODOLOGICO

4.0 DISEÑO METODOLOGICO

4.1 TIPO DE ESTUDIO

- **Bibliográfico:** Esta investigación pretendió dar respuesta a la problemática presentada por la Asociación Cooperativa Astoria, investigando el efecto antinutricional de los taninos relacionado con la concentración en la que se encuentran en los forrajes y raciones totales que elaboran para alimentación del ganado lechero al mezclar sorgo con leguminosas; para ello, se recolectó la mayor cantidad de información teórica que permitió sustentar esta investigación y plantear una resolución al problema.
- **Experimental:** Se realizó por quintuplicado la cuantificación de taninos totales y taninos condensados por dos métodos espectrofotométricos y el análisis bromatológico proximal en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes a base de las leguminosas *Canavalia ensiformis* y *Vigna sinensis* mezcladas con la gramínea *Sorgum vulgare* (ver Anexo N° 1). Los análisis se realizaron en las instalaciones del laboratorio de la Facultad de Química y Farmacia y en el laboratorio del Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ambas Facultades pertenecientes a la Universidad de El Salvador.
- **Prospectivo:** Los resultados obtenidos de la cuantificación de taninos totales y condensados y del análisis bromatológico proximal en las diferentes muestras en estudio servirán como parámetro de referencia para futuras investigaciones basadas en la elaboración de alimentos para ganado lechero de la Asociación Cooperativa Astoria.

4.2 INVESTIGACIÓN BIBLIOGRÁFICA

Se realizó en:

- Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador
- Biblioteca Dr. Benjamín Orozco de la Facultad de Química y Farmacia de la Universidad de El Salvador
- Biblioteca de la Facultad de Ciencias Agronómicas de la Universidad de El Salvador
- Biblioteca de la Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer (USAM), Facultad de Química y Farmacia-Biología
- Internet

4.3 INVESTIGACION DE CAMPO

Se recolectaron las Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes en la Asociación Cooperativa Astoria ubicada en el Cantón Las Flores del Municipio de San Pedro Masahuat en el Departamento de La Paz, El Salvador (ver Anexo N° 2).

Universo

Cultivos forrajeros de la Asociación Cooperativa Astoria (ver Anexo N° 3):

- ***Canavalia ensiformis*** (Canavalia o Frijol Espada)
- ***Vigna sinensis*** (Frijol Mono)
- ***Sorgum vulgare*** (Sorgo)

Muestra

Las muestras en estudio corresponden a tres grupos:

- Ensayo 1 (Muestras forrajeras): se divide en tres dietas o alimentos, cada uno por triplicado y denominados: AA (Alimento elaborado a base de Ensilado de Sorgo), AV (Alimento elaborado a base de Ensilado de

Sorgo y Canavalia) y AR (Alimento elaborado a base de Sorgo y Frijol mono).

En el Cuadro N° 1 se presenta la composición de cada uno de los alimentos o dietas correspondientes al Ensayo 1 (Muestras forrajeras).

Cuadro N° 1 Composición de las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Muestras forrajeras	AA	AV	AR
Ensilado de Sorgo	40,57 (lbs/vaca /día)	36,36 (lbs/vaca /día)	
Ensilado de Frijol Mono		9,09 (lbs/vaca /día)	
Ensilado Sorgo-Canavalia			45,44 (lbs/vaca /día)

- Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas): se divide en tres dietas o alimentos, cada uno por triplicado, cuya composición es la misma y únicamente varían en la proporción en la que se encuentran los componentes.

Las mezclas se han denominado de la siguiente manera: AY (Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 50:50 en la materia seca), AG (Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 60:40 en la materia seca) y AZ (Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 70:30 en la materia seca).

En el Cuadro N° 2 se presenta la composición de cada una de las Raciones Totales Mezcladas correspondientes al Ensayo 2.

Cuadro N° 2 Composición de las muestras del Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Raciones Totales Mezcladas (Ensilado:Concentrado)	AY	AG	AZ
Ensilado Sorgo-Canavalia	50%	60%	70%
Concentrado	50%	40%	30%
TOTAL	100%	100%	100%
Nota: Los porcentajes se encuentran dados en base a la Materia seca			

- Ensayo 3 (Fuentes de forrajes): corresponden a las especies vegetales utilizadas para elaborar los alimentos del Ensayo 1 (Muestras forrajeras) y del Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas), las cuales son: ***Sorgum vulgare***, ***Vigna sinensis*** y la mezcla de ***Canavalia ensiformis*** con ***Sorgum vulgare***.

4.4 PARTE EXPERIMENTAL

Los análisis de cuantificación de taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu, cuantificación de taninos condensados por el Método de Proantocianidinas y Análisis Bromatológico Proximal (Determinación de Humedad, Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda, Carbohidratos y Cenizas) en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes elaboradas a base de las leguminosas ***Canavalia ensiformis***, ***Vigna sinensis*** y la gramínea ***Sorgum vulgare*** se realizaron por quintuplicado en el Laboratorio de la Facultad de Química y Farmacia y en el Laboratorio del Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ambas Facultades pertenecientes a la Universidad de El Salvador (ver Anexo N° 4). El número total de análisis realizados fue de 735 (ver Anexo N° 1).

4.4.1 Preparación de la muestra ⁽¹⁴⁾

Posteriormente a la recolección de las Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes se procedió a deshidratarlas a temperatura de 50-55 °C, se molieron y tamizaron con un tamiz de 0.25 mm para los posteriores análisis (cuantificación de taninos totales, cuantificación de taninos condensados y análisis bromatológico proximal), obteniéndose muestras homogéneas y con tamaño de partícula uniforme.

4.4.2 Métodos de cuantificación de taninos

La cuantificación de taninos en las muestras se realizó por medio de dos métodos: a) Método de Folin-Ciocalteu para cuantificar taninos totales y b) Método de Proantocianidinas para cuantificar taninos condensados. Para ambos métodos espectrofotométricos, las muestras deshidratadas y molidas se extrajeron con acetona al 70% (extracto acetónico).

Preparación del Extracto acetónico

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6): ⁽¹⁴⁾

- Pesar 200 mg de la muestra preparada según la sección 4.4.1 y colocar en un vaso de precipitado de 25 mL de capacidad.
- Adicionar 10 mL de acetona al 70% al vaso de precipitado con el material vegetal y suspender en un baño de agua por ultrasonidos (Branson 3210), someter a tratamiento ultrasónico durante 20 minutos (2 x 10 min con 5 min de descanso entre cada uno) a temperatura ambiente.
- Transferir el contenido del vaso de precipitado a un tubo de centrifugación y someter a centrifugación durante 10 minutos a 3000 rpm y 4 °C (si la centrífuga refrigerada no está disponible, enfriar el contenido manteniendo el tubo de centrifugación en hielo y después centrifugar a 3000 rpm en una centrífuga convencional).

- Colectar el sobrenadante y mantenerlo en hielo. Transferir el precipitado del tubo de centrifugación al vaso de precipitado usando 2 porciones de 5 mL cada una de acetona al 70% y someter otra vez el contenido a tratamiento ultrasónico por 20 minutos (2 x 10 minutos con 5 minutos de descanso entre cada una) a temperatura ambiente, centrifugar y recoger el líquido sobrenadante como se describió anteriormente. Utilizar el sobrenadante (extracto acetónico) para la cuantificación de taninos.

a) Método de Folin-Ciocalteu ⁽³⁾

Fundamento: Se basa en la oxidación de los taninos en medio básico, mediante el reactivo de Folin-Ciocalteu, produciéndose por reducción del reactivo una mezcla de complejos de wolframio y molibdeno que presenta una coloración azul característica que es detectada espectrofotométricamente.

El reactivo de Folin-Ciocalteu es una solución ácida de polímeros complejos de los ácidos fosfomolibdico y fosfowolfrámico; este reactivo, de color amarillo, oxida los fenolatos, reduciéndose los ácidos del reactivo, para dar lugar a un complejo azul de molibdeno-wolframio. En este proceso se produce una reducción parcial del estado de valencia de Mo y W de +6 a +5 por los taninos en un álcali acuoso y el resultado se expresa en equivalentes de ácido tánico. Una reducción completa, a la valencia más baja, destruye el color. La naturaleza de estos complejos no se conoce bien.

Los taninos sólo son oxidados rápidamente en un medio suficientemente alcalino pero en estas condiciones, el reactivo oxidante y el pigmento azul son inestables por lo que el reactivo deberá encontrarse en exceso para que aún a pH alcalino se conserve al menos una fracción inalterada durante el tiempo necesario para reaccionar con todos los fenoles.

Análisis para Cuantificación de Fenoles totales ⁽¹⁴⁾

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

- Elaborar una curva de calibración de la siguiente manera: en 6 tubos de ensayo adicionar a cada uno los volúmenes de los reactivos según se muestran en la Tabla N° 1 para llegar a la concentración de ácido tánico requerida. Agitar cada tubo con el agitador Vortex y leer la absorbancia a 725 nm después de 40 minutos en reposo.

Tabla N° 1 Preparación de la curva de calibración ⁽¹⁴⁾

Tubo	Solución de ácido tánico (0.1 mg/mL) (mL)	Agua destilada (mL)	Reactivo de Folin-Ciocalteu (mL)	Solución Carbonato de sodio (mL)	Concentración de Ácido tánico (µg)
Blanco	0,00	0,50	0,25	1,25	0
T1	0,02	0,48	0,25	1,25	2
T2	0,04	0,46	0,25	1,25	4
T3	0,06	0,44	0,25	1,25	6
T4	0,08	0,42	0,25	1,25	8
T5	0,10	0,40	0,25	1,25	10

- Tomar inicialmente alícuotas de 0.02, 0.05 y 0.1 mL del extracto acetónico en tubos de ensayo, agregar agua destilada para llevar a un volumen de 0.5 mL, adicionar 0.25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y luego 1.25 mL de solución de carbonato de sodio 20%.
- Agitar los tubos con el agitador Vortex y leer la absorbancia a 725 nm después de 40 minutos en reposo a temperatura ambiente.
- Calcular la cantidad de fenoles totales como equivalente de ácido tánico con respecto a la curva de calibración. El contenido fenólico total se expresa en base a la materia seca. (ver Anexo N° 9)

Remoción de taninos del extracto acetónico ⁽¹⁴⁾

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

- Pesar 100 mg de Polivinil pirrolidona insoluble (PVPP) en un tubo de ensayo de 100 x 12 mm.
- Adicionar 1.0 mL de agua destilada y luego 1.0 mL del extracto acetónico (100 mg de Polivinil pirrolidona insoluble son suficientes para unir 2 mg de fenoles totales; si el contenido fenólico total en el alimento es mayor al 10% en la materia seca, diluir el extracto apropiadamente).
- Agitar el tubo de ensayo en agitador Vortex.
- Conservar el tubo de ensayo a 4 °C por 15 minutos, agitar nuevamente y luego centrifugar por 10 minutos a 3000 rpm.
- Recolectar el sobrenadante. Este sobrenadante sólo tiene fenoles simples diferentes de taninos (los taninos deben haber sido precipitados junto con la Polivinil pirrolidona insoluble; el procedimiento para la unión de taninos con Polivinil pirrolidona insoluble ha sido modificado y se refiere a la unión de los taninos a la Polivinil pirrolidona insoluble a un pH 3 ya que la unión máxima de la Polivinil pirrolidona insoluble a los taninos se da a este pH [3]).
- Tomar, en tubos de ensayo, alícuotas del sobrenadante de por lo menos el doble de volumen usado para la estimación de fenoles totales ya que el extracto ha sido diluido dos veces y se espera perder taninos-fenoles por la unión con la Polivinil pirrolidona insoluble. Agregar agua destilada para llevar a un volumen de 0.5 mL, adicionar 0.25 mL del reactivo de Folin-Ciocalteu y luego 1.25 mL de solución de carbonato de sodio 20%.
- Agitar los tubos con el agitador Vortex y leer la absorbancia a 725 nm después de 40 minutos en reposo a temperatura ambiente.

- Expresar el contenido de fenoles no tanínicos como equivalente de ácido tánico con respecto a la curva de calibración en base a la materia seca. (ver Anexo N° 9)

b) Método de Proantocianidinas ^{(3) (14) (19)}

Fundamento: Es una reacción endotérmica específica para proantocianidinas (taninos condensados); el método implica la depolimerización de los taninos condensados por catalización ácida en butanol para obtener antocianidinas de color rojo procedentes de la ruptura oxidativa de enlaces interflavánicos de las proantocianidinas poliméricas que son detectadas espectrofotométricamente.

La limitante del método radica en que los polímeros de taninos son separados en dímeros o trímeros en lugar de monómeros, es decir, los flavanoles monoméricos no son detectados en las citadas condiciones de reacción apropiadas para polímeros, por lo que los resultados de taninos condensados pueden ser subestimados. Además, exige el empleo de estándares específicos para cada tipo de taninos.

Este método también es usado para estimar la cantidad de taninos insolubles de residuos de extracción. El principal problema que se presenta es que no todos los pigmentos rojos se disuelven, resultando en una subestimación de los taninos.

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6): ⁽¹⁴⁾

- Pipetear 0.5 mL de extracto acetónico en un tubo de ensayo de 100 x 12 mm, adicionar 3.0 mL del reactivo HCl-Butanol (5:95 v/v) y 0.1 mL de Reactivo férrico. Agitar el tubo en el agitador Vortex.

- Cubrir la boca de cada tubo con un tapón de vidrio y colocar en un calentador ajustado a 97-100 °C por 60 minutos.
- Enfriar el tubo y registrar la absorbancia a 550 nm, restar un blanco adecuado que suele ser la absorbancia de la mezcla sin calentar.
- Si el extracto tiene flavan-4-ols, se desarrolla un color rosa sin calentar. Si esto sucede, usar un blanco calentado para cada muestra que comprenda 0.5 mL del extracto, 3 mL de butanol y 0.1 mL del reactivo férrico.

Cálculo de Taninos condensados (% TC) en la materia seca como equivalente de leucocianidina: ⁽¹⁴⁾

$$\% \text{ TC} = \frac{(\text{Absorbancia a 550 nm}) (78.26) (\text{Factor de dilución})}{(\% \text{ MS})}$$

Donde:

Absorbancia a 550 nm = Absorbancia de la muestra registrada a 550 nm

78.26 = Número de Stiasny

Factor de dilución = El Factor de dilución es igual a 1 si no se adiciona acetona al 70% al extracto que se elaboró con 200.0 mg de muestra en 10.0 mL de solvente pero cuando se adiciona acetona al 70% el factor de dilución es 0.5 mL/(volumen de extracto tomado), ésto con el fin de que la absorbancia no exceda de 0.6.

% MS = Porcentaje de Materia seca

4.4.3 Análisis Bromatológico Proximal ⁽¹⁰⁾⁽¹³⁾

El análisis bromatológico proximal, o de Wendee, ha sido usado generalmente para la investigación nutricional de todos los alimentos.

Este método fracciona los alimentos en seis análisis, cada uno de ellos agrupa varios nutrientes que tienen propiedades comunes. Estos análisis son:

- Humedad (Humedad parcial, Humedad total y Materia seca)
- Proteína Cruda
- Extracto Etéreo
- Fibra Cruda
- Extracto Libre de Nitrógeno (Carbohidratos)
- Cenizas

a) Determinación de Humedad

- Determinación de Humedad Parcial

Fundamento: Se basa en la determinación de la pérdida de peso que sufre una muestra cuando se calienta a una temperatura entre 60-70 °C por un período de 24 horas en una estufa de aire reforzado o ventilación forzada. Luego se coloca la muestra en un desecador para llevarla a equilibrio con la humedad ambiente y se pesa cuando se enfría.

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

- Lavar con agua destilada las hojas para eliminar el polvo (que pueda tener) y secar con papel toalla.
- Cortar el tejido vegetal separando tallo y hoja en tamaños de 5-6 cm, homogeneizar bien la muestra.
- Perforar la bolsa de papel con el objeto de que circule aire durante el proceso de secado y rotularla con lápiz de grafito: Nombre del analista, fecha, identificación de la muestra.
- Pesar la bolsa de papel vacía en balanza analítica, introducir la muestra vegetal y pesar nuevamente. Anotar los pesos.

- Cerrar la bolsa y colocar en la estufa, previamente calentada a 70 °C, durante 24 horas.
- Sacar la muestra de la estufa y enfriar en desecador hasta temperatura ambiente por 30 minutos.
- Pesar y anotar el peso de la bolsa más muestra después de secar.

Cálculo: ⁽¹⁰⁾

$$\text{Peso de muestra} = (\text{Peso}_{\text{bolsa con muestra antes de secar}}) - (\text{Peso}_{\text{bolsa vacía}})$$

$$\text{Pérdida de peso} = (\text{Peso}_{\text{bolsa con muestra antes de secar}}) - (\text{Peso}_{\text{bolsa con muestra después de secar}})$$

$$\% \text{ Humedad parcial} = \frac{(\text{Pérdida de peso}) (100\%)}{\text{Peso de muestra}}$$

- Determinación de Humedad total

Fundamento: La cantidad de agua se elimina por calentamiento de la muestra en una estufa de vacío a temperatura de 105 °C y presión de 100 mm de Hg durante 5 horas.

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

- Calentar a 105 °C en una estufa corriente la caja de aluminio durante un período de 2 horas.
- Enfriar en desecador durante 30 minutos y pesar en balanza analítica (anotar el peso).
- Pesar, en la misma caja de aluminio, 2.0 g de muestra previamente homogenizada (anotar el peso).

- Colocar destapada la caja de aluminio más muestra en la estufa de vacío, previamente calentada a 105 °C, durante 5 horas. Ajustar bien la presión del vacío.
- Retirar la caja de la estufa, tapar, poner en desecador para que enfríe durante 30 minutos y pesar en balanza analítica (anotar el peso).

Cálculo: ⁽¹⁰⁾

$$\text{Peso de muestra} = (\text{Peso}_{\text{caja con muestra antes de secar}}) - (\text{Peso}_{\text{caja vacía}})$$

$$\text{Pérdida de peso} = (\text{Peso}_{\text{caja con muestra antes de secar}}) - (\text{Peso}_{\text{caja con muestra después de secar}})$$

$$\% \text{ Humedad total} = \frac{(\text{Pérdida de peso}) (100\%)}{\text{Peso de muestra}}$$

$$\% \text{ Humedad} = \% \text{ Humedad parcial} + \% \text{ Humedad total}$$

$$\% \text{ Materia seca} = 100\% - \% \text{ Humedad}$$

b) Determinación de Proteínas

Fundamento: El método consiste en determinar el nitrógeno proteico en la muestra mediante cuatro pasos:

- Digestión: consiste en quemar o destruir toda la materia orgánica con ácido sulfúrico concentrado y caliente (actúa sobre la materia orgánica deshidratándola y carbonizándola) en presencia de catalizadores que aceleran el proceso (aumentando el punto de ebullición del ácido), oxidando el grupo carbonilo y reduciendo el nitrógeno a amoníaco que queda fijado al ácido sulfúrico en forma de sulfato de amonio, estable en las condiciones de trabajo.
- Destilación: consiste en el desprendimiento del amoníaco por efecto de un álcali fuerte (NaOH al 40%) en corriente de vapor de agua.

- Fijación: el amoníaco que se desprende se fija en un volumen conocido de una solución de ácido bórico al 4% e indicador, formándose borato de amonio.
- Titulación: el borato de amonio se titula con ácido clorhídrico 0.1 N

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

Digestión

- Pesar 0.1 g de muestra seca y molida y colocarla en un balón Kjeldahl.
- Agregar 6.0 mL de ácido sulfúrico concentrado y 3.0 g de la mezcla de catalizador al balón que contiene la muestra pesada.
- Agitar el balón durante 5 minutos y colocar en el aparato de digestión Kjeldahl; al mismo tiempo, conectar el sistema de extracción de vapores y condensación de gases. Mover constantemente (por medio de rotación) el balón y esperar hasta que la solución sea transparente (varía de color según el catalizador utilizado).

Destilación

- Enfriar el balón agregándole agua destilada \pm 80 mL, al tiempo que se transfiere haciendo lavados a un tubo Tecator de 250 mL. Esperar que enfríe nuevamente y agregar 60 mL de solución de NaOH al 40%.
- Colocar, en un Erlenmeyer de 250 mL, 25.0 mL de la solución de ácido bórico al 4% más solución indicadora verde de bromocresol y rojo de metilo y colocarlo en el aparato de destilación (solución de color rojo) para recibir el destilado que se verá de color verde.
- Dejar enfriar el destilado por 20-30 minutos.

Titulación

- Titular con solución de ácido clorhídrico 0.1 N (o ácido sulfúrico 0.025 N) hasta viraje de color del indicador de verde a rojo.

Cálculo: ⁽¹⁰⁾

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{Volumen HCl}) (\text{N HCl}) (\text{meq. de N}) (100\%)}{\text{Peso de muestra}}$$

$$\% \text{ Proteína Cruda} = (\% \text{ Nitrógeno}) (6.25)$$

Donde:

Volumen HCl 0.1 N = mL de HCl 0.1 N gastados en la titulación

N HCl = Normalidad real del ácido clorhídrico (HCl)

meq. de N = miliequivalentes de Nitrógeno = 0.014008 meq

6.25 = Factor Internacional de conversión para proteína, este factor se aplica a la mayoría de proteínas animales y vegetales ya que se asume que en su composición poseen entre 16 y 19% de Nitrógeno. Cuando se trate de otro tipo de muestra, se debe buscar el factor correspondiente.

c) Determinación de Extracto Etéreo

Fundamento: El método de Soxhlet se basa en un principio gravimétrico. El equipo de extracción consiste en tres partes: el refrigerante, el extractor propiamente dicho y el recipiente colector donde se recibe o deposita la grasa. Al calentarse, el solvente que se encuentra en el recipiente colector se evapora; los vapores ascienden por el tubo lateral, se condensan en el refrigerante y caen sobre la muestra que se encuentra en la cámara de extracción en un dedal o paquetito. El disolvente se va acumulando hasta que su nivel sobrepase el tubo sifón, el cual se acciona y transfiere el solvente cargado de materia grasa al recipiente colector. El proceso se repite durante el tiempo que dure la extracción en forma automática e intermitente y así la muestra es sometida constantemente a la acción del solvente. Cuando el proceso de extracción se completa, se recupera el éter destilándolo y recolectándolo en otro recipiente; la grasa cruda que queda en el recipiente colector se seca y se pesa.

Nota: Esta determinación cumple un rol importante como medida de la proporción de grasa presente en una muestra, sin embargo, según la naturaleza de la muestra, no sólo grasa es la que se extrae mediante el solvente orgánico pues en el caso de muestras de origen vegetal algunas vitaminas liposolubles y colorantes también son disueltos y cuantificados en el Extracto Etéreo.

Desde un punto de vista nutricional, la determinación de extracto etéreo sirve no sólo para identificar la grasa presente sino también para a partir de ésta, estimar el contenido calórico del material. El mantenimiento de una dieta bien balanceada que cumpla con los requerimientos nutricionales de un animal es imprescindible para un óptimo funcionamiento del organismo, incluyendo la función inmunológica, y la prevención de trastornos metabólicos.

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

Preparación del material de vidrio y dedales:

- Lavar el material con agua jabonosa y volver a lavar con detergente en polvo, enjuagar con abundante agua de chorro, luego con agua destilada y secar.
- Enjuagar con 25 mL de éter y poner a secar en la estufa a 100 °C por 2 horas. Poner los frascos en desecador, enfriar y pesar (anotar el peso). Si se utilizan dedales de Alundum, deben sumergirse en agua regia por algunas horas, después enjuagar con abundante agua destilada.

Nota: Antes de comenzar este análisis, es recomendable lavarse las manos a fin de evitar contaminación. Identificar bien los dedales y los frascos en los que se recibirá la grasa (Extracto Etéreo).

- Pesar en papel filtro 2.0 g de muestra a la que se le ha determinado la Humedad a 105 °C y anotar el peso.
- Pesar y anotar el peso del recipiente colector vacío.
- Formar un paquete con la muestra y el papel filtro y colocar en un dedal de extracción limpio y seco.
- Cubrir el dedal que contiene la muestra con un papel filtro de casi igual diámetro al interior del dedal o ponerle algodón, ésto permite que el éter se distribuya en forma uniforme.
- Colocar el dedal con la muestra en el recipiente para muestras o cámara de extracción y fijarlo bajo el condensador del aparato de extracción Goldfish (ver Anexo N° 7) o del aparato de extracción Soxhlet (ver Anexo N° 8).
- Agregar, en el caso de que la extracción se efectúe en el aparato de extracción de Goldfish, 30-40 mL de éter al recipiente que contiene el dedal con la muestra y que está adaptado sobre el recipiente colector del éter; si utiliza el aparato de extracción Soxhlet, emplear 150 mL de éter.
- Abrir la llave del agua que enfría el condensador, subir las placas de la cocina hasta que se pongan en contacto con el recipiente colector y encender los calentadores.
- Observar si hay escapes de éter después de que éste comienza a hervir y condensarse. Cuando el nivel del éter en el balón o recipiente colector de grasa baje a su nivel constante, debido a que en una porción siempre está volatilizándose y condensándose, el aparato puede dejarse solo y realizar observaciones periódicas. El periodo de extracción en el aparato de Goldfish es de 4 horas si el flujo de condensación es de 5 a 6 gotas por segundo o durante 16 horas si es de 2 gotas por segundo. En el equipo de extracción Soxhlet es de 8 horas.
- Bajar los calentadores después de que la extracción se complete y permitir que el dedal drene completamente.

- Remover la muestra y colocar en su lugar el tubo de vidrio para recoger el éter.
- Volver a colocar el balón o recipiente colector de grasa y destilar el éter en el tubo receptor. Remover el frasco colector de grasa poco antes de que se evapore hasta sequedad.
- Vaciar el éter del tubo receptor en un recipiente especial para conservar el éter usado.
- Completar la evaporación del éter que queda en el recipiente colector de grasa, dejándolo sobre la mesa de trabajo por un tiempo.
- Secar el recipiente colector de grasa en una estufa a 100 °C.
- Enfriar en el desecador hasta temperatura ambiente, pesar y anotar el peso del recipiente colector con grasa (Extracto etéreo).

Nota: El residuo desengrasado de la muestra que contiene el dedal de extracción se utiliza para el análisis de Fibra cruda.

Cálculo: ⁽¹⁰⁾

$$\text{Peso de muestra} = (\text{Peso}_{\text{papel filtro con muestra}}) - (\text{Peso}_{\text{papel filtro vacío}})$$

$$\text{Peso de Extracto Etéreo} = (\text{Peso}_{\text{recipiente colector con grasa}}) - (\text{Peso}_{\text{recipiente colector vacío}})$$

$$\% \text{ Extracto Etéreo} = \frac{(\text{Peso de Extracto Etéreo}) (100\%)}{\text{Peso de muestra}}$$

d) Determinación de Fibra Cruda

Fundamento: Para determinar Fibra Cruda se utiliza el residuo desengrasado que queda en el dedal de extracción posterior a la determinación de Extracto Etéreo. A este residuo se le hacen dos digestiones, la primera con ácido sulfúrico 1.25% (digestión ácida) y la segunda con hidróxido de sodio 1.25% (digestión básica), lavando el material después de cada digestión con suficiente

agua destilada caliente hasta la eliminación del ácido y luego del álcali de la muestra. Posteriormente, la muestra se lava con alcohol, se seca y calcina, calculándose el porcentaje de Fibra Cruda obtenido después de la calcinación.

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

- Colocar la muestra desengrasada (residuo obtenido de la Determinación de Extracto Etéreo) en un beaker Berzelius de 600 mL que contenga 200 mL de solución de Ácido sulfúrico al 1.25%.
- Pesar en balanza analítica 0.5 g de fibra de asbesto preparada y agregar al beaker Berzelius.
- Colocar el beaker Berzelius en el aparato de digestión, dejar hervir exactamente 30 minutos rotando el beaker cada 5 minutos para evitar que las partículas sólidas se adhieran a las paredes del recipiente.
- Retirar el beaker Berzelius del aparato de digestión al terminar los 30 minutos y filtrar a través de la tela especial puesta en un embudo y recibir las aguas del lavado en un beaker limpio.
- Lavar el residuo que queda sobre el filtro con agua destilada hirviendo, hasta que las aguas de lavado no den reacción ácida, lo que se comprueba con indicador anaranjado de metilo.
- Agregar 200 mL de solución de Hidróxido de sodio 1.25% al beaker Berzelius original, poner a hervir en el aparato de digestión y cuando esté hirviendo agregar el residuo que está sobre el filtro.
- Hervir durante 30 minutos rotando el beaker cada 5 minutos para evitar que las partículas sólidas se adhieran a las paredes del recipiente.
- Filtrar a través de la tela especial puesta en el embudo y recibir las aguas del lavado en un beaker limpio.

- Lavar el residuo que queda sobre el filtro con agua destilada hirviendo, como en pasos anteriores, hasta que las aguas de lavado no den reacción alcalina con indicador fenolftaleína.
- Pasar el residuo cuantitativamente a un crisol de Gooch que contenga una capa uniforme de asbesto y colocarlo en un frasco Kitasato. Agregar 15 mL de alcohol (etílico, metílico, propílico) y filtrar aplicando succión con la Bomba de vacío.
- Secar el crisol de Gooch con muestra en una estufa a 130 °C durante 2 horas, enfriar poniéndolo en un desecador por 30 minutos.
- Pesar el crisol Gooch con muestra secada y anotar el peso.
- Calcinar el crisol de Gooch con muestra a 600 °C durante 30 minutos, enfriar en un desecador por 30 minutos, pesar y anotar el peso.

Cálculos: ⁽¹⁰⁾

Pérdida de peso = (Peso_{crisol con muestra antes de calcinar}) – (Peso_{crisol con muestra después de calcinar})

$$\% \text{ Fibra Cruda} = \frac{(\text{Pérdida de peso}) (100\%)}{\text{Peso de muestra usada en determinación de Extracto Etéreo}}$$

e) Determinación de Cenizas

Fundamento: La muestra se incinera o calcina a 550 °C en un horno de Mufla por un período de 2 horas para quemar todo el material orgánico, quedando sólo el material inorgánico (ceniza) que no se destruye a esta temperatura.

Material, equipo y reactivos (ver Anexo N° 5)

Procedimiento (ver Anexo N° 6):

Nota: En todos estos pasos del análisis se debe tener la precaución de utilizar pinzas de metal para manipular los crisoles.

- Colocar el crisol limpio e identificado en el horno de Mufla y calentar a 550 °C por 1 hora.
- Sacar el crisol del horno, enfriar durante 30 minutos en un desecador y pesar el crisol vacío en balanza analítica (anotar el peso).
- Pesar directamente en el crisol de porcelana 2.0 g de muestra seca.
- Colocar el crisol con muestra en la Mufla y calcinar a 550 °C por 2 horas.
- Retirar el crisol del horno de Mufla, colocar en el desecador durante 30 minutos para enfriar a temperatura ambiente y pesar en balanza analítica (anotar el peso).

Cálculos: ⁽¹⁰⁾

$$\text{Peso de muestra} = (\text{Peso}_{\text{crisol con muestra}}) - (\text{Peso}_{\text{crisol vacío}})$$

$$\text{Peso de la Ceniza} = (\text{Peso}_{\text{crisol con muestra después de incinerada}}) - (\text{Peso}_{\text{crisol vacío}})$$

$$\% \text{ Cenizas} = \frac{(\text{Peso de la Ceniza}) (100\%)}{\text{Peso de muestra}}$$

f) Determinación de Extracto Libre de Nitrógeno (ELN)

Llamado también Extracto no Nitrogenado o Carbohidratos. Dentro de este concepto se agrupan todos los nutrientes no evaluados con los métodos señalados anteriormente dentro del análisis bromatológico proximal.

Está constituido principalmente por carbohidratos digeribles (como almidones y azúcares principalmente, sin embargo, también incluye cierta proporción de celulosa, hemicelulosa, lignina, sílice y pectina) así como también vitaminas y demás compuestos orgánicos solubles no nitrogenados. Se determina por la diferencia después de que se han completado los análisis para Proteína cruda, Extracto etéreo, Fibra cruda y Cenizas.

El ELN es necesario para encontrar el Total de Nutrientes Digeribles (TND) de un alimento. Este método no necesita de equipo de laboratorio y se obtiene por medio de la suma de las determinaciones de Proteína, Grasa (Extracto etéreo), Fibra cruda y Cenizas; el resultado de la suma se resta de 100% y se obtiene la cantidad de carbohidratos (debido a esto, los errores cometidos en la respectiva evaluación de cada uno de los nutrientes repercutirá en el resultado final).

Cálculos: ⁽¹⁰⁾

$$\% \text{ ELN} = 100\% - (\% \text{PC} + \% \text{EE} + \% \text{FC} + \% \text{Cz})$$

Donde:

% PC = Porcentaje de Proteína Cruda

% EE = Porcentaje de Extracto Etéreo

% FC = Porcentaje de Fibra Cruda

% Cz = Porcentaje de Cenizas

4.5 ANALISIS ESTADISTICO

Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con tres tratamientos para el análisis de los resultados obtenidos en la Cuantificación espectrofotométrica de taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu y en la Cuantificación espectrofotométrica de taninos condensados por el Método de Proantocianidinas, se evaluó si existe diferencia significativa entre las medias de los resultados obtenidos para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras) y el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) por medio de la Prueba F para análisis de varianza a un nivel de confianza del 95% en plantilla de Excel.

CAPITULO V
RESULTADOS Y DISCUSION

5.0 RESULTADOS Y DISCUSION

En este capítulo se presentan, por medio de una tabla resumen y gráficos, los promedios de los resultados (junto con su respectiva interpretación y discusión) obtenidos en la cuantificación de taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu, cuantificación de taninos condensados por el Método de Proantocianidinas y Análisis Bromatológico Proximal (Determinación de Humedad/Materia seca, Proteína Cruda, Extracto Etéreo, Fibra Cruda, Cenizas y Extracto Libre de Nitrógeno o Carbohidratos) para las muestras de los tres ensayos en estudio (Ensayo 1: Muestras forrajeras, Ensayo 2: Raciones Totales Mezcladas y Ensayo 3: Fuentes de forrajes).

5.1 RESUMEN DE RESULTADOS DE LOS ANALISIS POR ENSAYO

Tabla N° 2 Promedios de resultados obtenidos en la cuantificación de taninos y análisis bromatológico proximal para los tres diferentes ensayos

Ensayo 1 (Muestras forrajeras)								
Muestra	% TC	% TT	% MS	% PC	% EE	% FC	% Cz	% Carbohidratos
AA	0,092	0,285	24,676	13,500	3,194	17,334	7,118	58,854
AV	0,121	0,383	19,298	14,091	3,887	22,081	7,530	52,411
AR	0,130	0,444	21,235	15,214	3,080	19,557	7,167	54,982
Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)								
Muestra	% TC	% TT	% MS	% PC	% EE	% FC	% Cz	% Carbohidratos
AY	0,103	0,183	23,937	15,227	3,294	18,746	6,673	56,060
AG	0,104	0,238	27,933	15,204	3,107	16,201	8,253	57,235
AZ	0,135	0,541	23,754	15,213	3,360	21,461	6,691	53,275
Ensayo 3 (Fuentes de Forrajes)								
Muestra	% TC	% TT	% MS	% PC	% EE	% FC	% Cz	% Carbohidratos
Frijol Mono	0,324	0,327	10,423	17,218	2,177	24,232	18,200	38,173
Sorgo	0,164	0,588	17,836	8,366	2,394	31,856	5,788	51,596
Sorgo-Canavalia	0,254	0,499	15,382	20,513	2,516	27,186	6,790	42,995
% TC = Porcentaje de Taninos condensados					% EE = Porcentaje de Extracto Etéreo			
% TT = Porcentaje de Taninos totales					% FC = Porcentaje de Fibra Cruda			
% MS = Porcentaje de Materia seca					% Cz = Porcentaje de Cenizas			
% PC = Porcentaje de Proteína Cruda								

5.2 CUANTIFICACION DE TANINOS TOTALES POR EL METODO DE FOLIN-CIOCALTEU

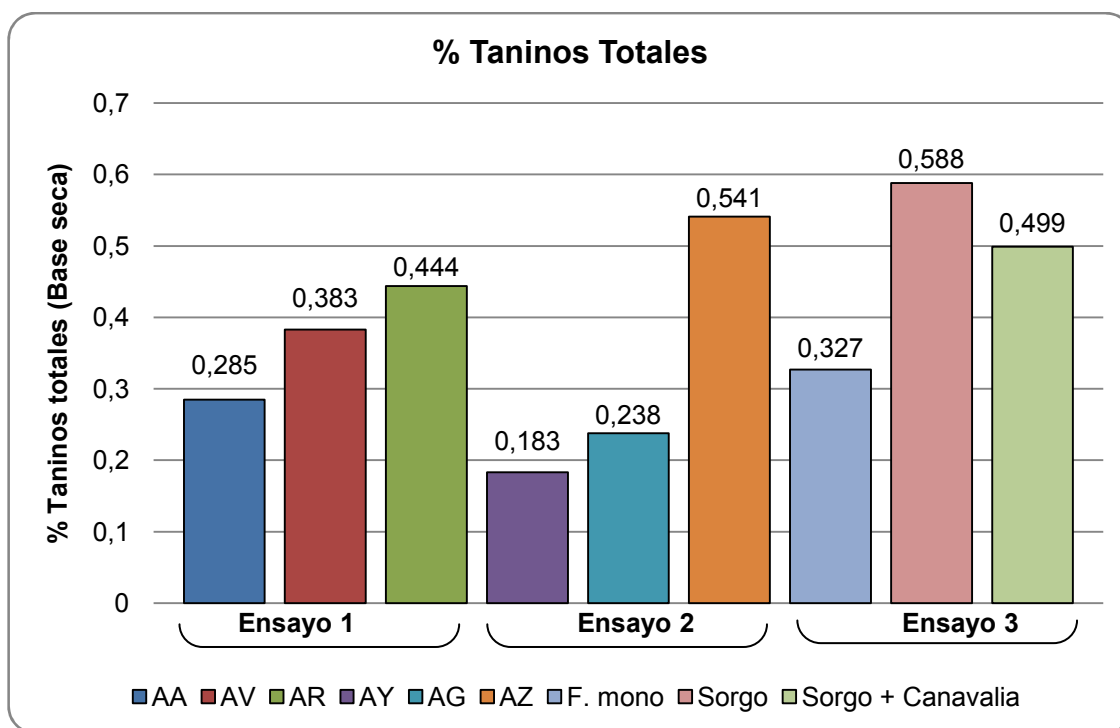


Figura N° 5 Gráfico de promedios de resultados de la cuantificación de taninos totales de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 9)

Según los resultados obtenidos por medio del Método de Folin-Ciocalteu, los porcentajes de taninos totales calculados en base a la curva de calibración del ácido tánico (ver Anexo N° 10) para las muestras en estudio presentaron un rango de 0.183% a 0.588% en base seca.

Estadísticamente, las Muestras forrajeras y Raciones Totales Mezcladas no presentaron diferencias significativas utilizando la Prueba F para análisis de varianza a un nivel de confianza del 95% (ver Anexo N° 11).

En el caso de haberse presentado diferencias significativas entre las medias, se hubiera procedido a la aplicación de la Prueba de Duncan para comparar los

promedios a fin de saber entre qué tratamientos hay diferencias y determinar cuál es la que presenta mayor diferencia significativa.

El valor más bajo de taninos de las muestras en estudio lo reportó la muestra AY (Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 50:50 en la materia seca) perteneciente a las muestras del Ensayo 2 con un valor de 0.183%. Por otro lado, el valor más alto de taninos totales, 0.588%, lo presentó la muestra de Sorgo de las Fuentes de forrajes (Ensayo 3). El sorgo es una gramínea utilizada como cultivo forrajero que en diferentes estudios ha reportado presencia, principalmente en el grano, de taninos. La cantidad en la que se encuentran depende de factores como la edad fisiológica de la planta, edad de corte de la cosecha, variedad, etc. ⁽²⁷⁾

La literatura reporta que los taninos, en general, pueden tener efectos positivos y negativos sobre el valor nutritivo de los forrajes según la concentración en la que se encuentren; en altas concentraciones, 5-10% de la materia seca, los taninos deprimen el consumo voluntario y la palatabilidad de las especies forrajeras, también reducen la digestibilidad de la materia seca, la materia orgánica, la fibra, las proteínas y los carbohidratos y por consiguiente afectan negativamente el desempeño productivo de los animales. En moderada y baja concentración, 2-4% de taninos en la materia seca, no presentan los efectos antinutricionales mencionados anteriormente. ⁽¹⁾

En general, todas las muestras reportaron concentraciones de taninos totales inferiores al 2% en base seca por lo que puede decirse que las muestras de los tres Ensayos analizados (Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes) pueden ser utilizados para la alimentación del ganado lechero de la Asociación Cooperativa Astoria sin que presenten los efectos antinutricionales que implica la presencia de taninos en altas concentraciones en el aprovechamiento de los nutrientes por parte del ganado que consume dichos alimentos.

5.3 CUANTIFICACION DE TANINOS CONDENSADOS POR EL METODO DE PROANTOCIANIDINAS

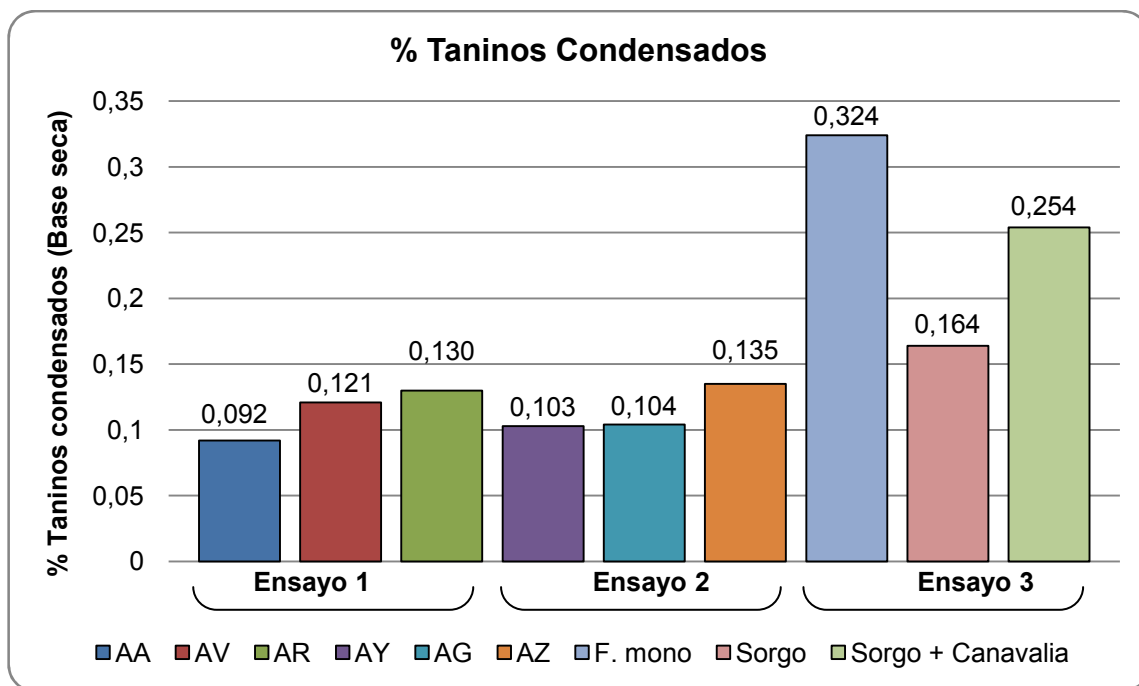


Figura N° 6 Gráfico de promedios de resultados de la cuantificación de taninos condensados de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 12)

De acuerdo con los resultados obtenidos por medio del Método de Proantocianidinas, los porcentajes de taninos condensados calculados en base a la curva de calibración del ácido tánico (ver Anexo N° 10) para las muestras en estudio presentaron un rango de 0.092% a 0.324% en base seca.

Estadísticamente, las muestras no presentaron diferencias significativas utilizando la Prueba F para análisis de varianza a un nivel de confianza de 95% (ver Anexo N° 11). En el caso de haberse presentado diferencias significativas entre las medias, se hubiera procedido a la aplicación de la Prueba de Duncan para comparar los promedios a fin de saber entre qué tratamientos hay diferencias y determinar cuál es la que presenta mayor diferencia significativa.

La muestra de Frijol Mono de las Fuentes de forrajes (Ensayo 3) reportó el valor más alto de taninos condensados en este ensayo con un porcentaje de 0.324; pudiendo deberse a factores como la edad fisiológica de la planta y la edad de corte, además de que se ha reportado que una gran cantidad de leguminosas con potencial forrajero contienen factores antinutricionales tales como los taninos condensados. ⁽⁵⁾

El valor más bajo de porcentaje de taninos condensados (0.092%) lo reportó la muestra AA (Alimento elaborado a base de Ensilado de Sorgo) perteneciente a las Muestras forrajeras (Ensayo 1), esto posiblemente pueda deberse a una mayor presencia de taninos hidrolizables que de taninos condensados en la planta. Sin embargo, los taninos hidrolizables en los cultivos forrajeros no han reportado efectos antinutritivos para el ganado que los consume. ⁽⁵⁾

La literatura reporta que los taninos, en general, pueden tener efectos positivos y negativos sobre el valor nutritivo de los forrajes según la concentración en la que se encuentren; en altas concentraciones, 5-10% de la materia seca, los taninos deprimen el consumo voluntario y la palatabilidad de las especies forrajeras, también reducen la digestibilidad de la materia seca, la materia orgánica, la fibra, las proteínas y los carbohidratos y por consiguiente afectan negativamente el desempeño productivo de los animales. Sin embargo, dentro de la clasificación de los taninos, se reporta que son los taninos condensados los que poseen la mayor capacidad para interactuar con las moléculas afectando negativamente la nutrición y producción animal. En moderada y baja concentración, 2-4% de taninos en la materia seca, no presentan los efectos antinutricionales mencionados previamente. ⁽¹⁾

Los resultados de las concentraciones de taninos condensados obtenidos presentaron un rango valores mucho menores al 2% en la base seca por lo que puede decirse que las muestras de los tres Ensayos analizados pueden ser utilizados por la Asociación Cooperativa Astoria para la alimentación del ganado lechero sin que presenten los efectos antinutricionales que implica la presencia

de taninos en altas concentraciones sobre el aprovechamiento de los nutrientes por parte del ganado que consume dichos alimentos.

5.4 ANALISIS BROMATOLOGICO PROXIMAL

a) Determinación de Materia seca

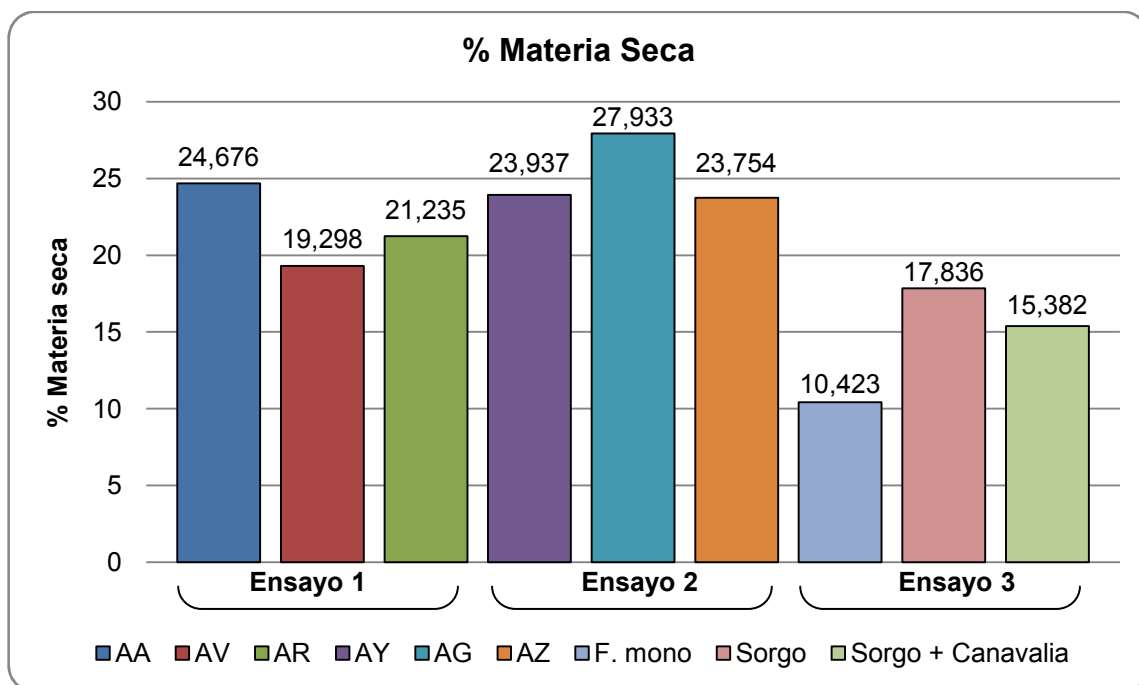


Figura N° 7 Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Materia seca de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 13)

El consumo de materia seca es un parámetro de suma importancia en nutrición debido a que este establece la cantidad de nutrientes disponibles para cubrir las demandas del animal. La estimación real o segura del consumo de materia seca es importante para la formulación de raciones, la prevención de deficiencias o excesos en el consumo de nutrientes y en promover el uso eficiente de los mismos. En general, el contenido de Materia seca más adecuado es de 25-35%, estando asociado al consumo por parte del animal. (27)

El rango de porcentaje de Materia seca presentado por las muestras en estudio fue de 10.423% a 27.933%. El valor más bajo (10.423%) de Materia seca lo reportó la muestra de Frijol mono del Ensayo 3 (Fuente de forrajes) donde, al tener un porcentaje de Materia seca inferior al 25%, se podría presentar una posible deficiencia en el consumo de nutrientes por parte del ganado si fuese alimentado únicamente con Frijol mono. El porcentaje de Materia seca más alto (27.933%) lo presentó la muestra AG (Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de sorgo-canavalia y Concentrado en una proporción 60:40 en la materia seca) perteneciente al Ensayo 2. En general, las muestras de Raciones Totales Mezcladas (Ensayo 2) reportaron porcentajes de Materia seca similares y dentro de los valores de porcentaje que la literatura señala como adecuados; este es un indicador de una menor producción de ácidos debido a que el contenido de materia seca aumenta los valores de pH y por lo tanto se produce una menor fermentación de los azúcares solubles del forraje lo que está también asociado a una menor producción de amoníaco en el ensilado. La presencia de amoníaco es el indicador de la degradación de las proteínas en el ensilado; también produce aminas tóxicas capaces de influir negativamente en el consumo y la salud de los animales. ⁽²⁷⁾

Las muestras del Ensayo 1 reportaron valores de porcentaje de Materia seca inferiores a los valores señalados como adecuados por la literatura, esto puede deberse a la temperatura de fermentación ya que una temperatura excesiva es el problema del ensilaje con baja humedad que no puede ser compactado, dificultando la eliminación de oxígeno. La temperatura óptima de fermentación está en el rango de 27 a 35 °C.

Las muestras del Ensayo 3 (Fuentes de forrajes) presentaron los porcentajes de materia seca más bajos en el estudio, lo cual puede deberse a que no fueron ensilados; el contenido de materia seca del forraje que se ensila y el proceso de fermentación resultante son factores muy importantes que inciden en el consumo posterior de silaje en los animales, en el caso del % MS, hay una

correlación lineal y positiva respecto al consumo. Por otro lado, el bajo porcentaje de Materia seca indica que hay un mayor contenido de humedad, por lo que, se da una disminución en los valores de pH y un aumento en el contenido de ácido butírico; esto se debe a que el elevado contenido de humedad propicia condiciones favorables para el desarrollo de flora clostrídica. Los alimentos con un alto contenido de agua o que tienden a hincharse al humedecerse al contacto con jugos digestivos, dan a la vaca una sensación de llenado antes de haber ingerido el nivel de materia seca deseado. ⁽²⁷⁾

b) Determinación de Proteínas

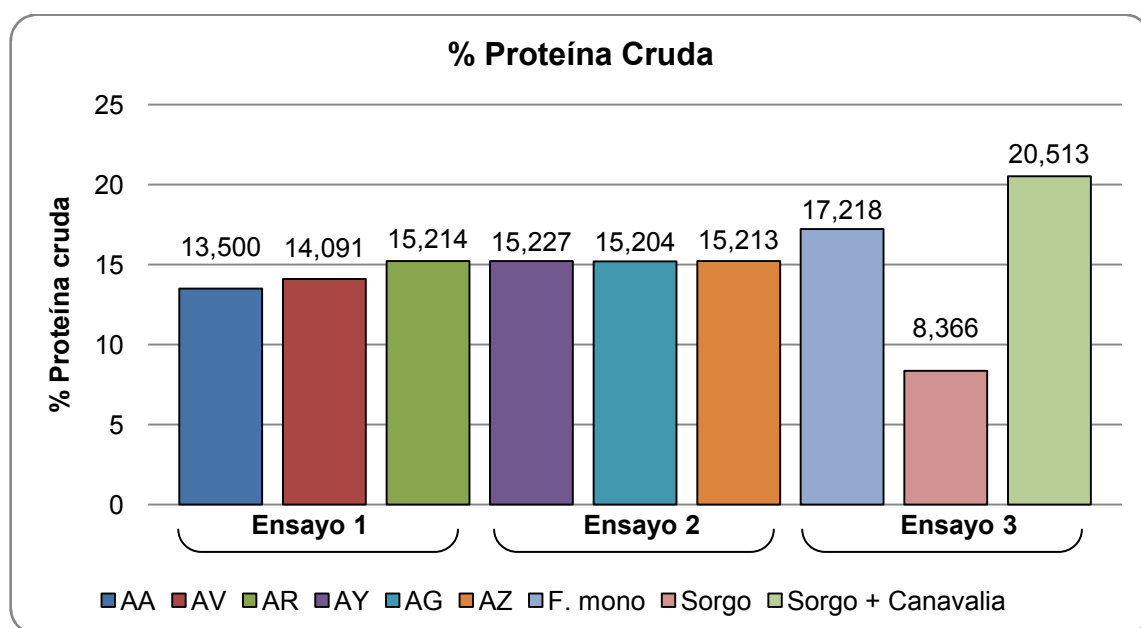


Figura N° 8 Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Proteína Cruda de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 13)

Las proteínas se consideran como uno de los principales factores que intervienen en la productividad de los animales sometidos a cualquier sistema de alimentación. El porcentaje de Proteína Cruda más adecuado es de 7% a

13%. La concentración de proteína cruda por debajo de 7% en la dieta no satisface las necesidades de nitrógeno de la población microbiana del rumen, limitando la producción de leche. La digestibilidad total de carbohidratos comienza a disminuir con porcentajes de proteína cruda menores de 6. La síntesis de proteína en el rumen alcanza un nivel máximo con raciones que contienen 13% de proteína cruda. El suministro de cantidades de proteína que superen las necesidades es un desperdicio y determina una concentración excesiva de amoníaco en el rumen. ⁽²⁷⁾

Los porcentajes de Proteína Cruda correspondientes a las muestras de los tres Ensayos analizados presentaron un rango de 8.366% a 20.513%. El valor de porcentaje más alto (20.513%) reportado en el estudio lo presentó la muestra de Sorgo-Canavalia del Ensayo 3 (Fuentes de forrajes), lo que puede deberse a que la Canavalia, al ser una leguminosa, mejora los niveles de Proteína al mezclarla con el Sorgo que es una gramínea. Esto contrasta con el porcentaje de Proteína Cruda más bajo reportado en el estudio (8.366%) y que corresponde a la muestra de Sorgo del mismo ensayo (Ensayo 3). En general, el Sorgo tiene un valor nutritivo relativamente bajo ya que tiene un menor contenido de azúcares en los tallos y debido a que las semillas son pequeñas pueden atravesar intactas el tracto gastrointestinal si no han sido rotas. Algunos factores que también pueden afectar el porcentaje de proteína son la especie, la parte de la planta, el nivel de fertilidad del suelo, el estado fenológico de la planta ya que al inicio del crecimiento presenta alto contenido de proteína para luego decaer marcadamente en la madurez (el nitrógeno es removido de las hojas a los tejidos de reserva como raíces y base de tallos), etc. Sin embargo, el valor reportado por esta muestra se encuentra dentro de los valores que reporta la literatura como adecuados. ⁽²⁷⁾

Los porcentajes de Proteína de las muestras de los tres Ensayos, a excepción de la muestra de Sorgo del Ensayo 3, reportaron valores de Proteína Cruda superiores al 13%; es decir, que según la literatura consultada, las cantidades de proteína presentes en estas muestras pueden considerarse como un derroche debido a que superan las necesidades del ganado derivando en una concentración excesiva de amoníaco en el rumen del animal. Por otro lado, los porcentajes de Proteína Cruda de las Raciones Totales Mezcladas del Ensayo 2 fueron compensados dentro de los programas de balanceo nutricional por el nutriólogo encargado de la elaboración de estas raciones en la Asociación Cooperativa Astoria para proporcionar los requerimientos nutricionales que el ganado necesita.

c) Determinación de Extracto etéreo

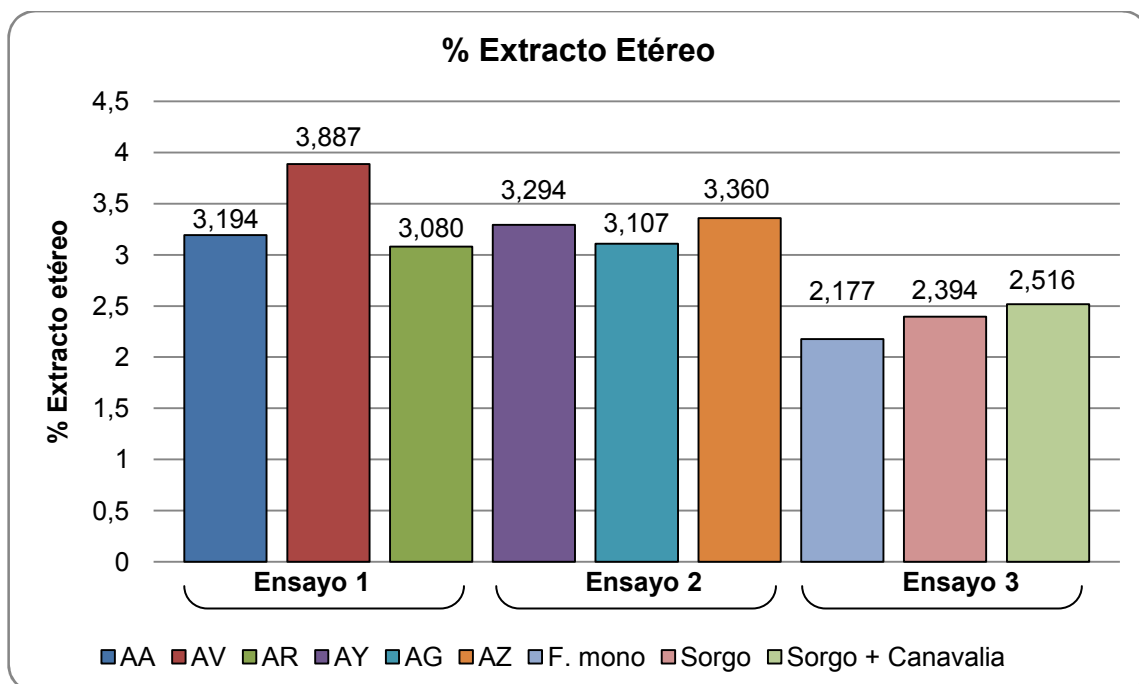


Figura N° 9 Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Extracto Etéreo de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 13)

El Extracto Etéreo es la fracción de lípidos del alimento contiene principalmente aceites y grasas. Normalmente la dieta consumida por las vacas contiene sólo 4 a 6% de lípidos. Sin embargo, los lípidos son parte importante de la ración dietética de una vaca lechera porque contribuyen directamente a casi el 50% de la grasa en la leche y son la fuente más concentrada de energía en los alimentos. Se puede adicionar de 2% a 4% de lípidos a las raciones alimenticias pero concentraciones que sobrepasen del 7% al 8% pueden originar trastornos digestivos en el animal. ⁽²⁷⁾

Los valores medios de Extracto Etéreo, según la literatura, son de 2% en leguminosas y 3% en gramíneas. Los excesos de lípidos en la dieta (más del 8%) pueden tener un efecto negativo en la producción de leche y el porcentaje de grasa en la leche. En el caso de valores superiores al 14%, esto indica que el alimento en cuestión no debería integrar una gran proporción de la dieta total ya que puede ser tóxico para las bacterias ruminales del ganado. Además, durante el almacenamiento predisponen a enranciar los materiales cuando éstos no están adecuadamente acondicionados. ⁽²⁷⁾

Los porcentajes de Extracto Etéreo reportados por las muestras de los tres Ensayos en estudio presentaron un rango de valores de 2.177% a 3.887%.

El porcentaje más bajo (2.177%) de Extracto etéreo lo reportó la muestra de Frijol mono del Ensayo 3 (Fuentes de forrajes). El valor de porcentaje más alto (3.887%) lo reportó la muestra AV (Alimento elaborado a base de Ensilado de Sorgo y de Frijol mono) del Ensayo 1 (Muestras forrajeras).

En general, todos los valores de porcentaje de Extracto Etéreo obtenidos de las muestras de los tres diferentes Ensayos (Muestras de forrajes, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes), se encuentran dentro de lo que reporta la literatura consultada al presentar un rango de valores superior al 2% e inferior al 8%.

d) Determinación de Fibra cruda

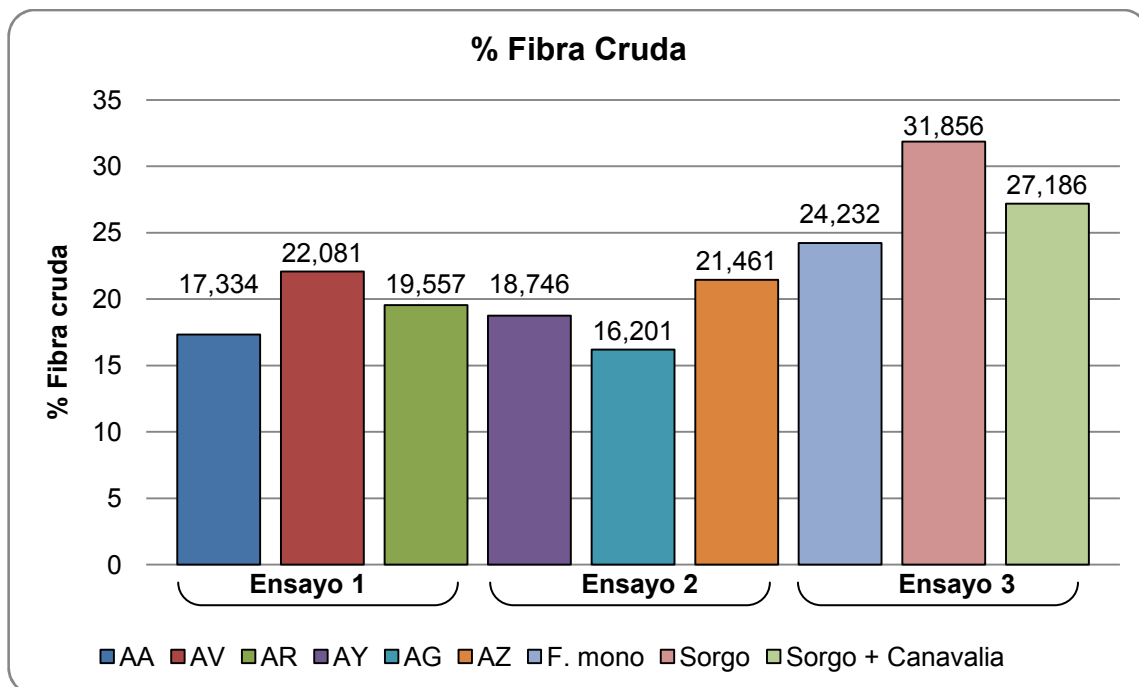


Figura N° 10 Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Fibra Cruda de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 13)

Los forrajes son alimentos fibrosos y con poca energía, constituyen una parte muy importante en la alimentación del ganado y su disponibilidad y calidad determinan el tipo de suplementación que se deberá ofrecer. ⁽²⁷⁾

Los niveles elevados de alimentos fibrosos (forrajes) limitan la producción de leche al llenar el rumen a toda su capacidad antes de que se satisfagan todas las necesidades nutricias, es por lo que se debe suplementar (concentrados); sin embargo, la suplementación proporciona una cantidad mínima de fibra en la ración para el funcionamiento normal del rumen y la producción de leche con un contenido normal de grasa. ⁽²⁷⁾

Para evitar la disminución de la materia grasa en la leche hay que dar un mínimo de 17% de Fibra Cruda en la materia seca de la ración alimenticia para vacas en producción. Si el contenido de Fibra Cruda es menor de 17%, el porcentaje de grasa en la leche se reduce y si el contenido de Fibra Cruda es mayor al 22%, se perjudica la capacidad de consumo alimenticio del animal. ⁽²⁷⁾

Los porcentajes de Fibra Cruda correspondientes a las muestras de los tres ensayos en estudio reportaron valores con un rango de 16.201% a 31.856%. En general, todas las muestras de los tres Ensayos presentaron porcentajes de Fibra cruda superiores al 17%, a excepción de la muestra AG (Ración Total Mezclada elaborada a base de Ensilado de Sorgo-Canavalia y Concentrado en una proporción 60:40 en la materia seca) del Ensayo 2 que reportó el porcentaje más bajo (16.201%), lo cual puede deberse a que la suplementación a través del concentrado no es suficiente para proporcionar una cantidad mínima de Fibra en la ración alimenticia que permita el funcionamiento normal del rumen y la producción de leche con un contenido normal de grasa. El valor más alto (31.856%) lo presentó la muestra de Sorgo del Ensayo 3 (Fuentes de forrajes). A su vez, todas las muestras del Ensayo 3 reportaron valores de Fibra Cruda superiores al 22% lo que podría implicar una disminución de la energía disponible al perjudicar la capacidad de consumo alimenticio del ganado ya que no les es posible comer suficiente alimento para satisfacer sus necesidades de energía. ⁽²⁷⁾

Todas las Muestras forrajeras del Ensayo 1 presentaron porcentajes de Fibra Cruda dentro de los valores que reporta la literatura como adecuados (17%-22%) por lo que se esperaría que estos alimentos promuevan una apropiada estimulación de la función del rumen del ganado lechero y que los niveles de grasa en la leche se mantengan adecuadamente.

e) Determinación de Cenizas

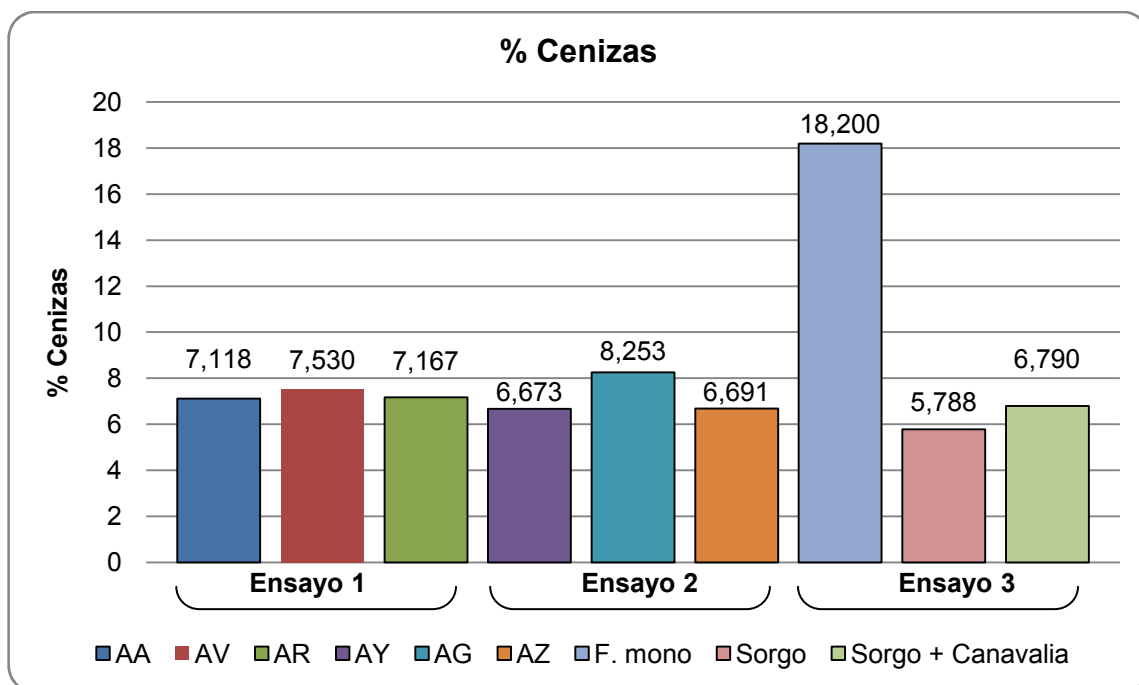


Figura N° 11 Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Cenizas de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 13)

Esta fracción está compuesta de minerales (macro y micro-elementos), tanto propios del vegetal como adquiridos del ambiente.

Los elementos minerales son esenciales para todos los animales e influyen en la eficiencia de producción del ganado. La concentración de minerales en los forrajes depende de diversos factores como el suelo, la especie de la planta, el estado de madurez, el rendimiento, el manejo del pasto o especies arbustivas, el clima, etc. Estos factores pueden ocasionar deficiencias de muchos de los macro y micro-elementos esenciales para el animal, estas deficiencias minerales han sido consideradas responsables de la baja producción y los problemas reproductivos entre los rumiantes en pastoreo, sobre todo en las regiones tropicales. ⁽²⁷⁾

La literatura reporta que en casi todos los forrajes se presentan valores de Cenizas inferiores al 10%. Si se supera este valor, hay fuertes sospechas de contaminación con tierra. ⁽²⁷⁾

Los porcentajes de Cenizas reportados por las muestras en estudio presentaron un rango de valores de 5.788% a 18.200%. El porcentaje de Cenizas más bajo (5.788%) lo reportó la muestra de Sorgo perteneciente al Ensayo 3 (Fuentes de forrajes). El valor más alto (18.200%) lo presentó la muestra de Frijol mono del Ensayo 3 (Fuentes de forrajes). En general, todas las muestras de los tres Ensayos reportaron porcentajes de cenizas inferiores al 10%, dentro de lo que la literatura reporta, a excepción de la muestra de Frijol mono que presentó un valor de 18.200% por lo que se sospecha la contaminación con tierra. ⁽²⁷⁾

f) Determinación de Carbohidratos

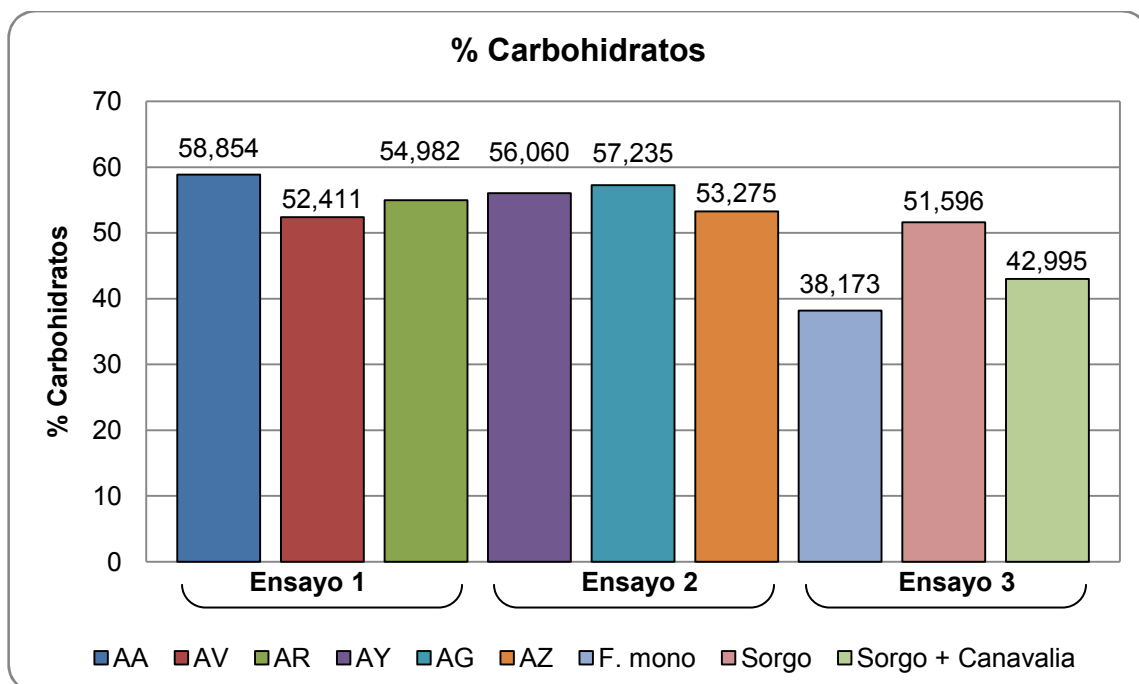


Figura N° 12 Gráfico de promedios de resultados de la determinación de Carbohidratos de las muestras en estudio para los tres ensayos (ver Anexo N° 13)

Los carbohidratos son el principal constituyente de la dieta del ganado lechero y contribuyen de un 60 a un 70% de la energía neta utilizada para la producción de leche. ⁽²⁷⁾

El rango de porcentajes de Carbohidratos presentado por las muestras en estudio reportó valores de 38.173% a 58.854%.

El porcentaje de Carbohidratos más bajo (38.173%) lo presentó la muestra de Frijol mono perteneciente al Ensayo 3 (Fuentes de forrajes). La muestra AA (Alimento elaborado a base de Ensilado de Sorgo) del Ensayo 1 (Muestras forrajeras) reportó el valor más alto (58.854%) de porcentaje de Carbohidratos.

En general, todas las muestras de los tres Ensayos presentaron porcentajes de Carbohidratos inferiores a lo reportado por la literatura (60%-70%), lo cual podría deberse al estado fisiológico de la planta al ser cosechada y en el caso de las muestras que presentaron porcentajes de Fibra Cruda mayores al 22%, a que la energía disponible de los alimentos generalmente declina conforme el nivel de fibra aumenta, especialmente arriba de los niveles requeridos. Así, cuando las dietas alimenticias contienen fibra en exceso, usualmente, para el ganado lechero no es posible comer suficiente alimento para satisfacer sus necesidades de energía. Sin embargo, la necesidad de energía, relativa a la capacidad para comer alimentos, varía con el nivel de producción. De acuerdo con esto, las vacas bajas productoras con menores necesidades de energía pueden obtener suficiente energía de una dieta alimenticia alta en fibra, más de lo que podrían las altas productoras. ⁽²⁷⁾

CAPITULO VI
CONCLUSIONES

6.0 CONCLUSIONES

1. Los porcentajes de taninos totales de las Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes a base de las leguminosas ***Canavalia ensiformis***, ***Vigna sinensis*** y la gramínea ***Sorgum vulgare*** se obtuvieron por medio del Método de Folin-Ciocalteu y presentaron valores inferiores al 2% en la materia seca, pudiendo ser incluidas en las dietas del ganado lechero sin presentar efectos negativos en el aprovechamiento de los nutrientes de los alimentos por los rumiantes.
2. Los porcentajes de taninos condensados de las Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes a base de las leguminosas ***Canavalia ensiformis***, ***Vigna sinensis*** y la gramínea ***Sorgum vulgare*** se obtuvieron por medio del Método de Proantocianidinas y presentaron valores inferiores al 2% en la materia seca, por lo que pueden ser incorporadas y utilizadas en la alimentación del ganado lechero sin presentar efectos antinutricionales.
3. Estadísticamente, las Muestras forrajeras y Raciones Totales Mezcladas no presentaron diferencias significativas entre las medias referentes a las concentraciones de taninos totales y condensados a un nivel de confianza de 95% con la Prueba F para análisis de varianza.
4. En base al Análisis Bromatológico Proximal, todas las muestras en estudio no presentaron variaciones nutricionales importantes por lo que puede escogerse cualquiera de estas muestras de forrajes y raciones totales mezcladas para la elaboración de una dieta para el ganado lechero.

5. La concentración de taninos totales no es directamente proporcional a la concentración de taninos condensados y debido a que éstos últimos son los principales responsables de la formación del complejo tanino-proteína que produce el efecto antinutricional, es necesario que se realice la cuantificación de taninos condensados y no sólo la de taninos totales para generar resultados que permitan complementar los criterios necesarios para la adecuada formulación de alimentos para uso en ganado lechero.

CAPITULO VII
RECOMENDACIONES

7.0 RECOMENDACIONES

1. Validar los Métodos de Folin-Ciocalteu y Proantocianidinas, para posteriores estudios de cuantificación de taninos por espectrofotometría ultravioleta-visible, bajo las condiciones de trabajo que presentan el laboratorio de la Facultad de Química y Farmacia y el laboratorio del Departamento de Química Agrícola de la Facultad de Ciencias Agronómicas, ambas Facultades de la Universidad de El Salvador.
2. Aumentar los volúmenes de los reactivos utilizados en la cuantificación de taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu, en forma proporcional para mantener las mismas concentraciones que sugiere la metodología, debido a que estos volúmenes son insuficientes para realizar la lectura de la absorbancia al momento de transferir la solución a la celda del espectrofotómetro.
3. Realizar las determinaciones de Fibra Neutro Detergente y Fibra Ácido Detergente que están directamente relacionadas con la calidad y aprovechamiento del alimento ya que con estas determinaciones se separan las fracciones de los alimentos en muy disponibles y poco disponibles nutricionalmente.
4. Evaluar el efecto de diferentes variedades y edades de corte de las especies vegetales analizadas en el presente estudio sobre los contenidos de Fibra Ácido Detergente y Fibra Neutro Detergente ya que la lignificación afecta la disponibilidad nutricional y depende de la variedad del forraje y edad de corte entre otros.

5. Desarrollar en estudios posteriores, tablas promedios en base a la concentración de taninos de las diferentes especies vegetales utilizadas para la alimentación de ganado bovino en el país.

6. Realizar un estudio económico que permita evaluar los costos de alimentación del ganado vacuno en función del beneficio obtenido de los alimentos analizados en la presente investigación, ya que lo que se busca es disminuir la dependencia en el uso de materias primas importadas que puedan elevar los costos de alimentación y producción.

BIBLIOGRAFIA

BIBLIOGRAFIA

1. Arévalo Pinedo Lerner. Taninos condensados en especies forrajeras y sus efectos en la productividad animal. *Nutritime*. 2008; 5(59): 584-591.
2. Benavides A, Van der Hoek R, Douchamps S, Mena M, Valdivia R, Tremino A. Programa Cooperativo Centroamericano para el mejoramiento de cultivos animales. San José: Instituto Nacional de Innovación y Transferencia en Tecnología Agropecuaria; 2008. Reunión Anual del PCCMCA: 54.
3. Cadahia Fernández E. Estudio de la composición tánica de madera, corteza y hojas de *Eucalyptus camaldulensis*, *E. globulus* y *E. rudis* [tesis doctoral]. Madrid: Complutense; 1995.
4. Caravaca Rodríguez F, González Redondo P. Sistemas de Producción Animal. 1ª ed. España: Editorial Universidad de Sevilla; 2006.
5. Carmona Agudelo J. Efecto de la utilización de arbóreas y arbustivas forrajeras sobre la dinámica digestiva en bovinos. *Revista Lasallista de Investigación*. 2007; 4(1): 40-50.
6. Cedeño Sandoval K, Rivas Castro A. Cuantificación de taninos como derivados del ácido tánico en extractos acuosos de las cortezas de *Byrsonima crassifolia* (NANCE), *Pithecollobium dulce*, mongollano, y hojas de *Murraya paniculata*, mirto [tesis doctoral]. El Salvador: Editorial Universidad de El Salvador; 2003.
7. Dieter Hess H. Calidad nutricional y producción bovina. 1ª ed. Colombia: CORPOICA; 1998.

8. Dirección de Educación Agraria. Manual de Forrajes, 3º Año Ciclo Básico Agrario. Buenos Aires: Dirección Provincial de Educación Técnico Profesional; 2008.
9. Elizondo Salazar J. El uso de la ración total mezclada para el ganado de leche, un sistema de alimentación prometedor. ECAG informa. 2006; (37): 25-27.
10. Flores Tensos J, Carranza Estrada F, Bonilla de Torres B. Manual de Laboratorio de Análisis Bromatológicos. El Salvador: Universidad de El Salvador, Facultad de Ciencias Agronómicas; 2008.
11. García-Manzo Valdez D. Efecto de la concentración de taninos del sorgo (*Sorghum bicolor*) híbridos Oro blanco y SR 360 sobre la digestibilidad de nutrientes y el nivel de nitrógeno fecal en cerdos en desarrollo [tesis doctoral]. Guatemala: Editorial Universidad de San Carlos de Guatemala. 2006
12. González Gómez J, Ayala Burgos A, Gutiérrez Vázquez E. Determinación de fenoles totales y taninos condensados en especies arbóreas con potencial forrajero de la Región de Tierra Caliente Michoacán, México. Livestock Res. Rural Develop. 2006; 18 (152): 1-9.
13. Guzmán Franco B, Zelaya Cerrato J. Control de calidad de materias primas utilizadas en la elaboración de tres tipos de concentrados para la alimentación de ganado lechero formulados a nivel de pequeña industria en fábrica Nacascolo [tesis doctoral]. El Salvador: Editorial Universidad Salvadoreña Alberto Masferrer; 1998.

14. Harinder P.S. Makkar. Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. A Laboratory Manual. 1^a ed. The Netherlands: Kluwer Academic Publishers; 2003.
15. Hernández Rivera A. Determinación del contenido nutricional de Vigna forrajera y Dolichos combinados con maíz H-5 y/o Sorgo sapo para ser utilizados como forraje en la alimentación del ganado vacuno [tesis doctoral]. El Salvador: Editorial Universidad de El Salvador; 1993.
16. Lab-Tech [Internet]. México: Labconco; 2010 [actualizado mayo de 2010; acceso 5 de julio de 2011]. Productos [1]. http://www.labtech.com.mx/marcas_des.php?id=15
17. Maplandia.com [Internet]. El Salvador: Google Earth; 2005 [actualizado enero de 2011; acceso 5 de julio de 2011]. Astoria Map - Satellite Images of Astoria [1]. <http://www.maplandia.com/el-salvador/la-paz/san-luis/astoria/>
18. Muñoz Tavera G, Gutiérrez Avella D. Rastreo de taninos en 14 malezas usadas como forraje en el Estado de Querétaro. Querétaro: Universidad Autónoma de Querétaro; 2007. Sexto Verano de la Ciencia de la UAQ: 45.
19. Orellana Claros M. Determinación cuantitativa de taninos en extracto hidroalcohólico de hojas de *Fragaria vesca L.* (Fresa) por espectrofotometría ultravioleta [tesis doctoral]. El Salvador: Editorial Universidad de El Salvador; 2007.
20. Ortiz R. Enseñan técnicas para mejorar lácteos. La Prensa Gráfica. Lunes 29 de agosto de 2011; Nacionales.

21. Philippine Medicinal Plants [Internet]. Philippines: Philippine Herbal Medical Plants; 2010 [actualizado 22 de julio de 2011; acceso 24 de julio de 2011]. Paayap [1]. <http://www.stuartxchange.org/Paayap.html>
22. Posada García S, Valencia Minero A. Determinación de álcalis, taninos y fenoles en granos de sorgo para seleccionar materiales que puedan utilizarse en procesos de nixtamalización [tesis doctoral]. El Salvador: Editorial Universidad de El Salvador; 1991.
23. Romero Lara C. Efecto del pastoreo con ovinos sobre la concentración de taninos condensados en *Gliricidia sepium* (Jacq) Walp en el trópico seco [tesis doctoral]. Colima: Editorial Universidad de Colima; 2000.
24. Rossi C, González G, Lacarra H, Pereyra A, Vera T. Factores antinutricionales en forrajeras de ramoneo: cuantificación de taninos. Rev. Arg. de Prod. Animal. 2004; 24 Supl 1: 219-220.
25. San Miguel Ayanz A. Pascicultura, Cultivos Agrarios y Zootecnia. Terminología y características esenciales de los pastos. 1ª ed. Madrid: Universidad Politécnica de Madrid; 2011.
26. Sandoval M, Valencia Rodríguez A. Granulometría en harinas y contenido de taninos en el grano de sorgos criollos cultivados en seis departamentos de El Salvador [tesis doctoral]. El Salvador: Editorial Universidad de El Salvador; 2005.

27. Spross Suárez K. Alimentación animal, Alimentación. Bovinos. 1ª edición. México: Editorial Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia; 2004.
28. Steel R, Torrie J. Principles and Procedures of Statistics with special reference to the biological sciences. 1ª ed. USA: McGraw-Hill, 1960.
29. Tramiloteca [Internet]. Guadeloupe: Editorial TRAMIL; 2010 [actualizado 10 octubre de 2010; acceso 5 de julio de 2011]. ***Canavalia ensiformis*** [1]. http://www.tramil.net/fototeca/imageDisplay.php?id_elem=92
30. Villar del Fresno A. Farmacognosia General. 1ª ed. Madrid: Síntesis; 1999.
31. Wikipedia [Internet]. Estados Unidos: Fundación Wikimedia; 2006 [actualizado 7 de mayo de 2011; acceso 5 de julio de 2011]. Extractor Soxhlet [1]. http://es.wikipedia.org/wiki/Extractor_Soxhlet (imagen)

ANEXOS

Anexo N° 1

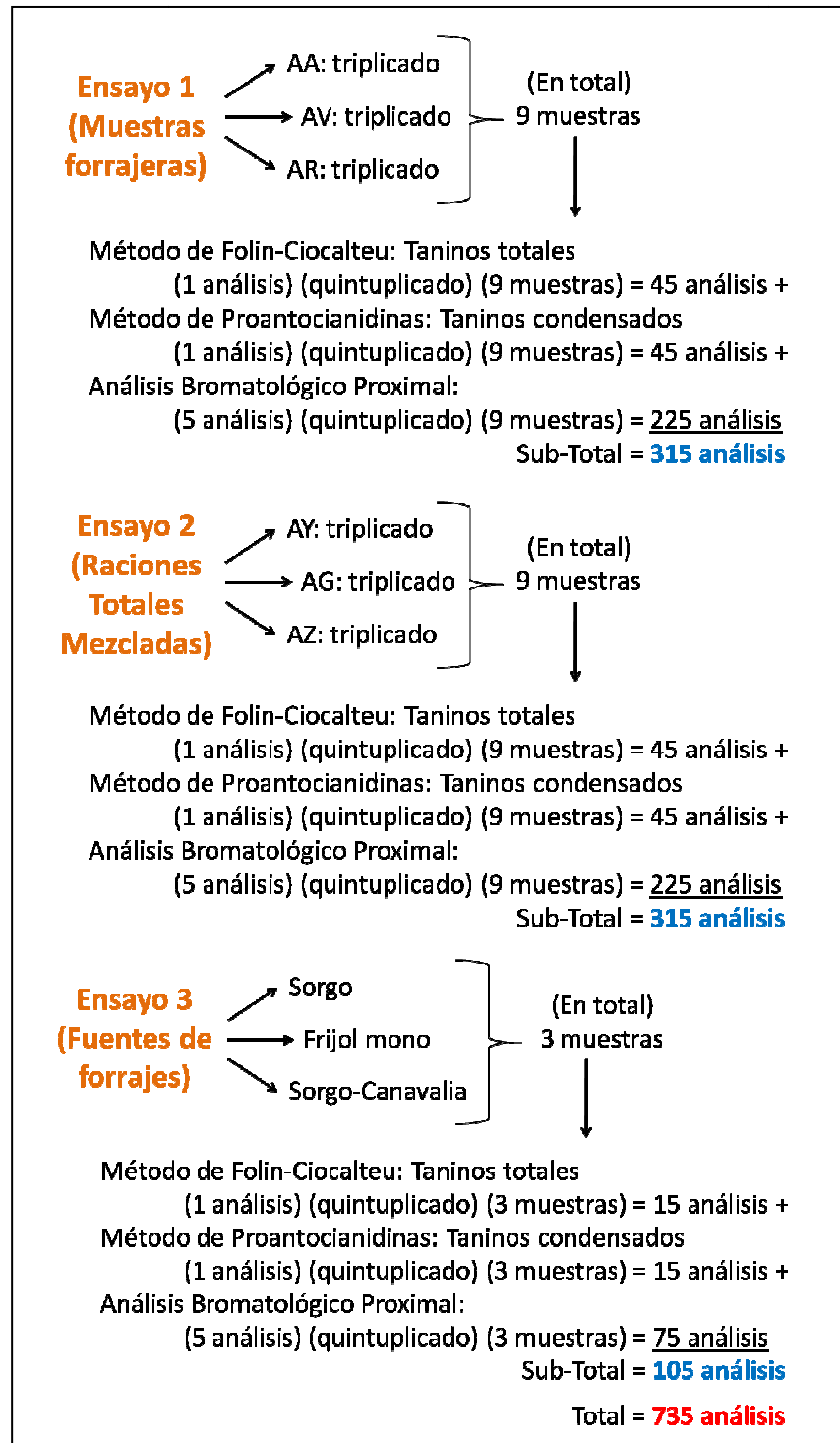


Figura N° 13 Número de muestras y análisis realizados

Anexo N° 2

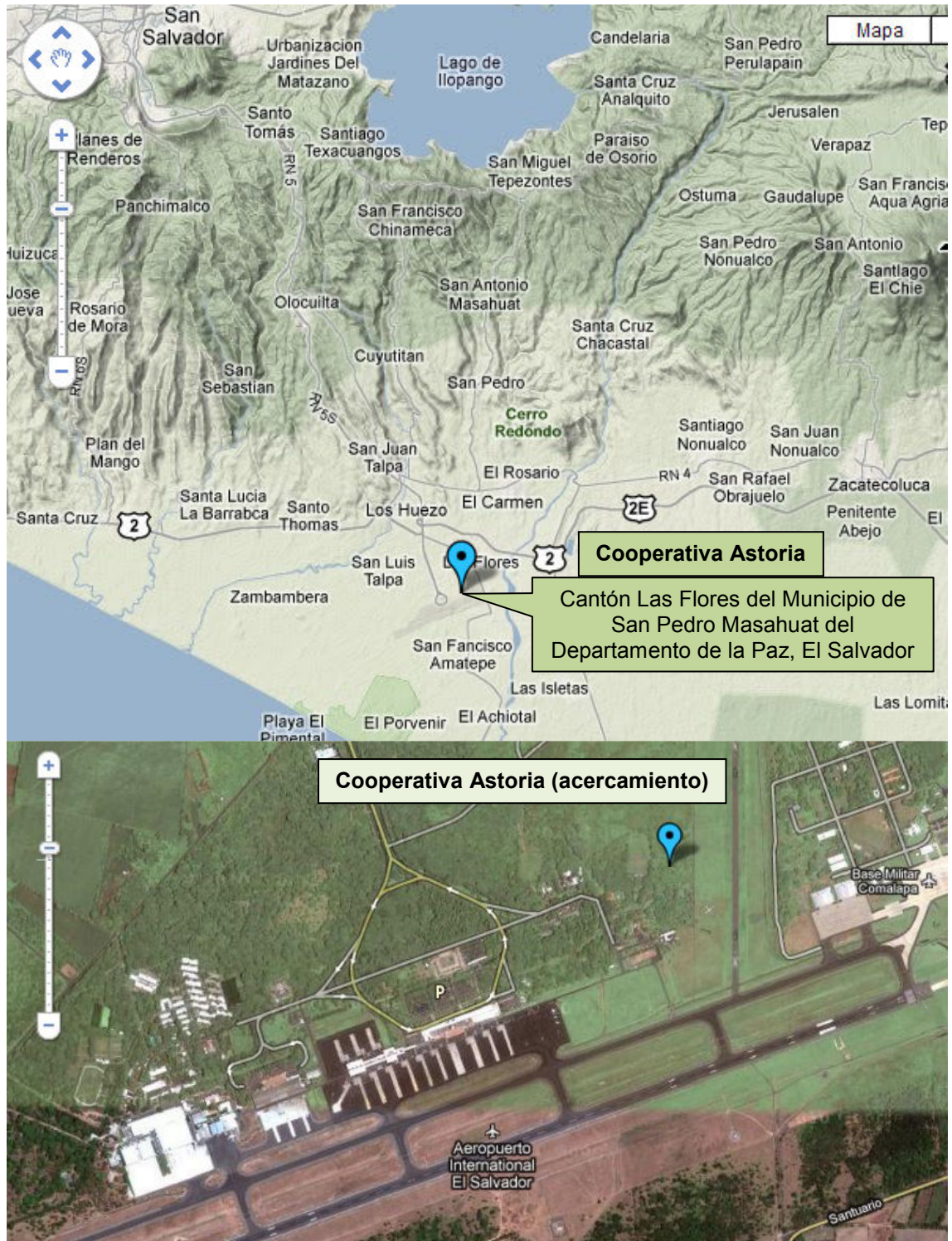


Figura N° 14 Mapa de ubicación de la Asociación Cooperativa Astoria (17)

ANEXO N° 3
ESPECIES DE FRIJOL MONO Y SORGO CULTIVADAS EN LA
ASOCIACION COOPERATIVA ASTORIA



Figura N° 15 Especie vegetal ***Vigna sinensis*** (Frijol mono) cultivada en la Asociación Cooperativa Astoria



Figura N° 16 Especie vegetal ***Sorghum vulgaris*** (Sorgo) cultivada en la Asociación Cooperativa Astoria

ANEXO N° 4

**FOTOGRAFIAS DE LA REALIZACION DE LA CUANTIFICACION DE
TANINOS Y ANALISIS BROMATOLOGICO PROXIMAL EN LAS
MUESTRAS DEL ENSAYO 1 (MUESTRAS FORRAJERAS), ENSAYO 2
(RACIONES TOTALES MEZCLADAS) Y ENSAYO 3 (FUENTES DE
FORRAJES)**



Figura N° 17 Recolección de las Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes en la Asociación Cooperativa Astoria



Figura N° 18 Molienda de las Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes utilizando un molino con tamiz de 0.25 mm



Figura N° 19 Preparación del extracto acetónico de las diferentes Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes



Figura N° 20 Cuantificación de Taninos totales por el Método de Folin-Ciocalteu en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes



Figura N° 21 Cuantificación de Taninos condensados por el Método de Proantocianidinas en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes



Figura N° 22 Determinación de Humedad en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes



Figura N° 23 Determinación de Proteína Cruda en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes

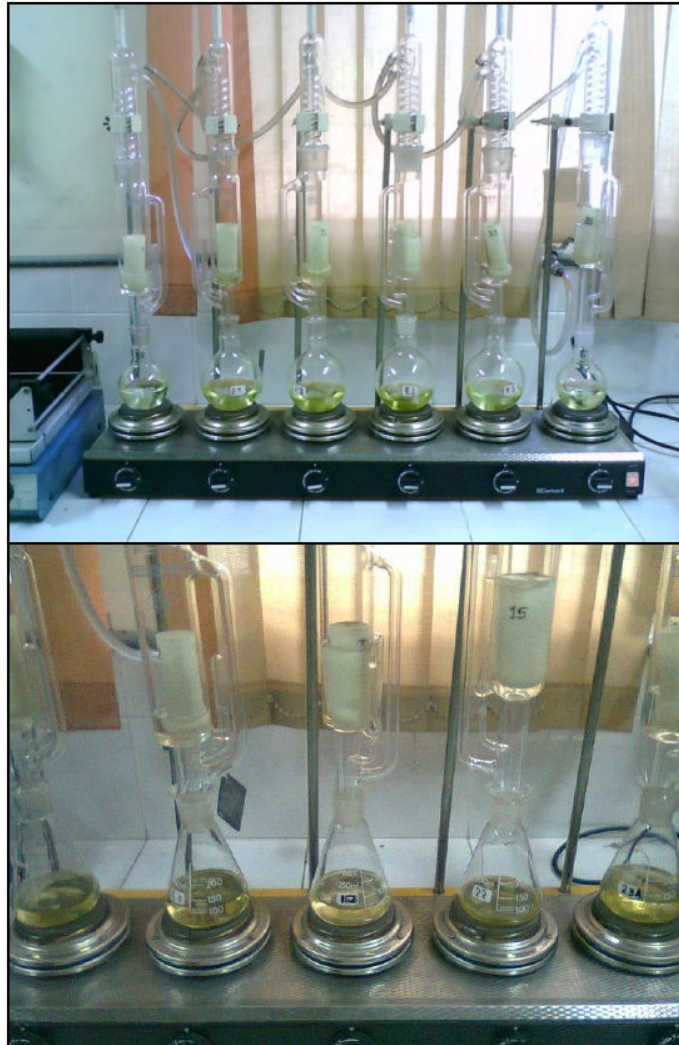


Figura N° 24 Determinación de Extracto Etéreo en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes



Figura N° 25 Determinación de Fibra Cruda en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes



Figura N° 26 Determinación de Cenizas en Muestras forrajeras, Raciones Totales Mezcladas y Fuentes de forrajes

ANEXO N° 5
MATERIAL, EQUIPO Y REACTIVOS

CUANTIFICACION DE TANINOS

- Preparación del Extracto acetónico ⁽¹⁴⁾

Material:

- Vasos de precipitado de 25 mL
- Tubos de centrifugación

Equipo:

- Balanza analítica
- Baño de agua por ultrasonidos
- Centrifugadora
- Baño de hielo

- Método de Folin-Ciocalteu

Análisis para Cuantificación de Fenoles totales ⁽¹⁴⁾

Material:

- Tubos de ensayo de 100 x 12 mm
- Pipetas de 1.0 mL y de 5.0 mL
- Buretas de 10.0 mL
- Vasos de precipitado de 25 mL

Equipo:

- Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible
- Agitador Vortex

Reactivos:

- Reactivo de Folin-Ciocalteu (1 N): Diluir el reactivo de Folin-Ciocalteu (2 N) que se encuentra comercialmente con un volumen igual de agua

destilada. Transferir a un frasco de color ámbar y almacenar en refrigeradora a 4 °C. No usar si el color se torna verde olivo.

- Carbonato de sodio (20%): Pesar 40 g de $\text{Na}_2\text{CO}_3 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$, disolverlo con agua destilada para llevar a volumen de 200 mL.
- Agua destilada
- Solución estándar de ácido tánico (0.1 mg/mL): Disolver 25.0 mg de ácido tánico en 25.0 mL de agua destilada y luego diluir 1:10 en agua destilada (usarse siempre como solución de reciente preparación).

Remoción de taninos del extracto acetónico ⁽¹⁴⁾

Material:

- Tubos de ensayo de 100 x 12 mm
- Pipetas de 1.0 mL y de 5.0 mL

Equipo:

- Espectrofotómetro Ultravioleta-Visible
- Balanza analítica
- Centrifugadora
- Agitador Vortex

Reactivos:

- Polivinil pirrolidona insoluble (PVPP): Encontrado comercialmente en Sigma-Aldrich ® (P6755).
- Agua destilada

- Método de Proantocianidinas ⁽¹⁴⁾

Material:

- Tubos de ensayo de 100 x 12 mm con rosca o tapón de vidrio
- Vasos de precipitado de 50 y 100 mL

- Pipetas de 1.0 mL
- Probetas de 10 mL

Equipo:

- Agitador Vortex
- Baño María a una temperatura de 97-100 °C

Reactivos:

- Reactivo HCl-Butanol (5:95 v/v): Mezclar 950.0 mL de n-butanol con 50.0 mL de Ácido clorhídrico concentrado (HCl al 37%).
- Reactivo férrico (sulfato amonio férrico al 2% en HCl 2 N): Agregar 16.6 mL de Ácido clorhídrico concentrado a 100.0 mL de agua destilada para hacer HCl 2 N. Disolver 2.0 g de sulfato amonio férrico en ese volumen de HCl 2 N. Este reactivo debe ser almacenado en un frasco ámbar.

ANALISIS BROMATOLOGICO PROXIMAL

a) Determinación de Humedad ⁽¹⁰⁾

- Humedad Parcial

Material:

- Bolsa de papel de 4-5 libras
- Espátula para pesar
- Tijeras de acero inoxidable
- Pinza tipo tijera de acero inoxidable
- Termómetro graduado de 0-150 °C
- Papel toalla

Equipo:

- Estufa de aire reforzado o ventilación forzada calibrada a 70 °C
- Balanza analítica
- Desecador de gabinete con desecante químico

- Humedad total

Material:

- Caja de aluminio para humedad
- Pinza tipo tijera de acero inoxidable
- Termómetro graduado 0-150 °C
- Espátula para pesar

Equipo:

- Estufa de vacío
- Balanza analítica
- Desecador de gabinete con desecante químico

b) Determinación de Proteínas ⁽¹⁰⁾

Material:

- Balones Microkjeldhal para digestión
- Tubos Tecator para proteína Kjeldahl de 250 mL
- Bureta de 10.0 mL y 25.0 mL
- Soporte para bureta completo
- Papel filtro o caja de aluminio para pesar la muestra
- Espátula para pesar
- Erlenmeyer de 250 mL

Equipo:

- Aparato de digestión y destilación

- Balanza analítica y semi-analítica
- Cámara extractora de gases

Reactivos:

- Ácido sulfúrico concentrado, libre de nitrógeno y densidad de 1.84 g/mL
- Mezcla de catalizador: mezclar 7.0 g de Sulfato de potasio (pulverizado) y 0.8 g de Sulfato de cobre
- Solución de ácido clorhídrico (HCl) 0.1 N
- Solución de ácido bórico al 4%
- Solución indicadora verde de bromocresol y rojo de metilo en metanol o alcohol etílico
- Solución de hidróxido de sodio (NaOH) al 40%
- Alcohol etílico al 95%

c) Determinación de Extracto Etéreo ⁽¹⁰⁾

Material:

- Dedal de extracción de Alundum o de cartón
- Tubo de vidrio para recoger éter
- Papel filtro y Algodón
- Pinza metálica de acero inoxidable tipo tijera
- Espátula para pesar

Equipo:

- Balanza analítica
- Desecador con desecante químico
- Aparato para extracción de grasas Goldfish o Soxhlet
- Estufa

Reactivos:

- Éter de petróleo al 34 ó 35% o éter dietílico anhidro

d) Determinación de Fibra Cruda ⁽¹⁰⁾

Material:

- Beakers Berzelius forma alta sin vertedero con capacidad de 600 mL
- Crisol de Gooch de 25 mL y Soporte Walter para crisol de Gooch
- Lienzo para filtración #40 aproximadamente de 20 cm² o tela
- Frascos Kitasato de 50 ó 250 mL
- Embudos de vidrio boca ancha y tallo corto
- Espátulas de acero inoxidable
- Soporte de madera para embudos
- Probeta de 250 mL
- Vasos de precipitado de 50 y 250 mL

Equipo:

- Extractor de Fibra Cruda
- Balanza analítica
- Desecador de gabinete con desecante químico
- Estufa eléctrica
- Horno de Mufla
- Bomba para vacío

Reactivos:

- Alcohol metílico, etílico o isopropílico (Calidad Reactivo analítico)
- Indicador anaranjado de metilo al 1% en alcohol etílico
- Indicador fenolftaleína al 1% en alcohol etílico
- Solución de Ácido sulfúrico 0.0025 N (1.25%): disolver 13.8 mL de H₂SO₄ concentrado en 800 mL de agua destilada y aforar a 1000.0 mL.
- Solución de Hidróxido de sodio 0.0025 N (1.25%): disolver 12.5 g de NaOH en 800 mL de agua destilada y aforar a 1000.0 mL.

- Fibra de asbesto preparada: calentar, en una cápsula de porcelana, fibra de asbesto ácida a una temperatura de 600 °C durante 16 horas. Enfriar y digerir media hora con solución de ácido sulfúrico 1.25%, lavar con agua caliente, digerir nuevamente media hora con solución de hidróxido de sodio 1.25%, lavar con agua caliente, secar y calcinar durante 2 horas a 600 °C en horno de mufla.

e) Determinación de Cenizas ⁽¹⁰⁾

Material:

- Crisoles de porcelana de 50 ó 100 mL
- Espátula para pesar de acero inoxidable
- Pinzas metálicas para crisol

Equipo:

- Desecador de gabinete con desecante químico (Sílica gel o perclorato de magnesio)
- Balanza analítica
- Horno de Mufla

ANEXO N° 6
ESQUEMAS DE LOS PROCEDIMIENTOS DE ANALISIS PARA LA
CUANTIFICACION DE TANINOS Y ANALISIS BROMATOLOGICO
PROXIMAL

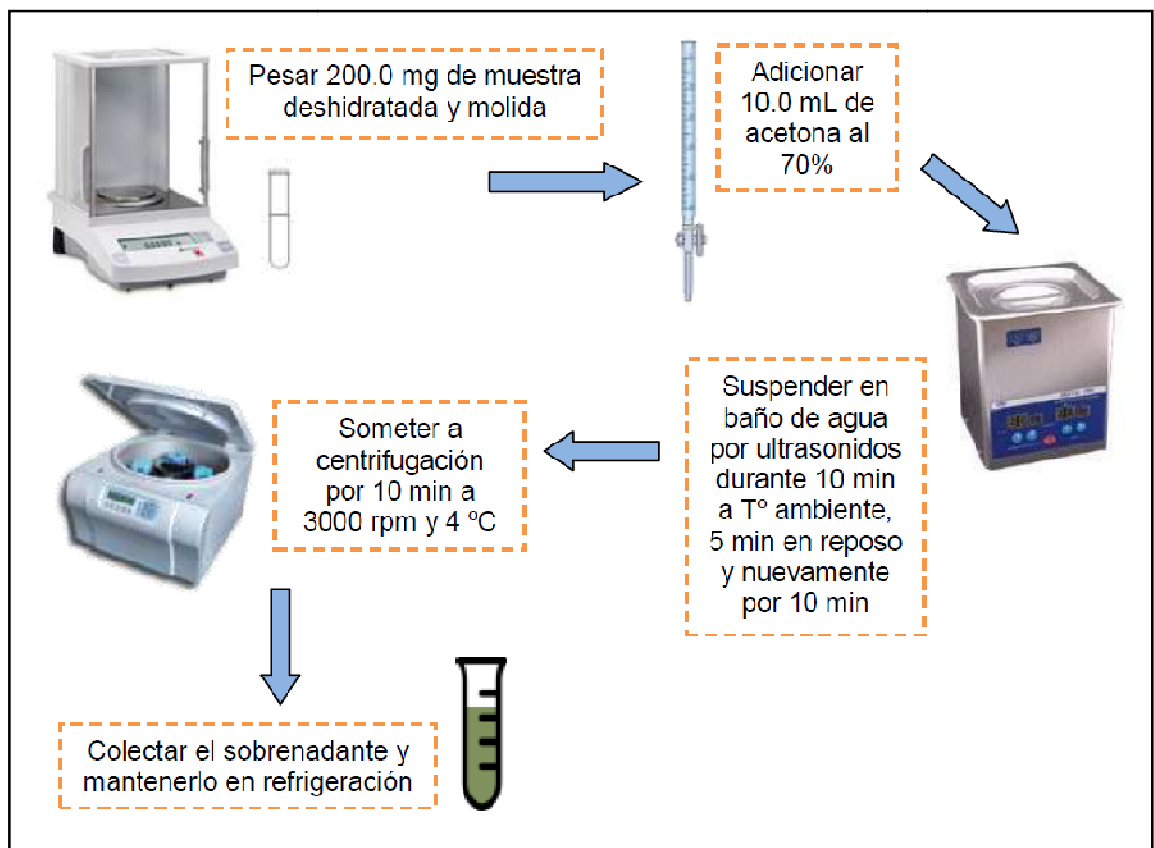


Figura N° 27 Procedimiento esquematizado para la preparación del extracto acetónico

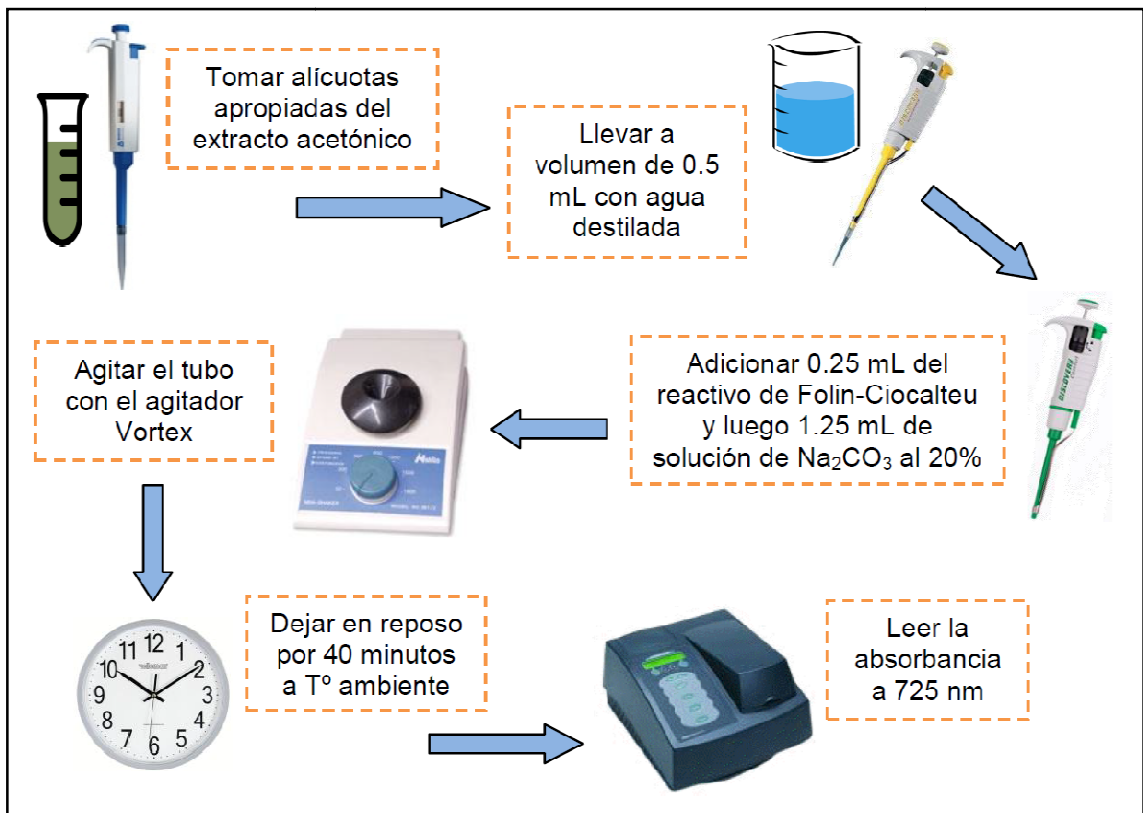


Figura N° 28 Procedimiento esquematizado para la cuantificación de fenoles totales por el Método de Folin-Ciocalteu

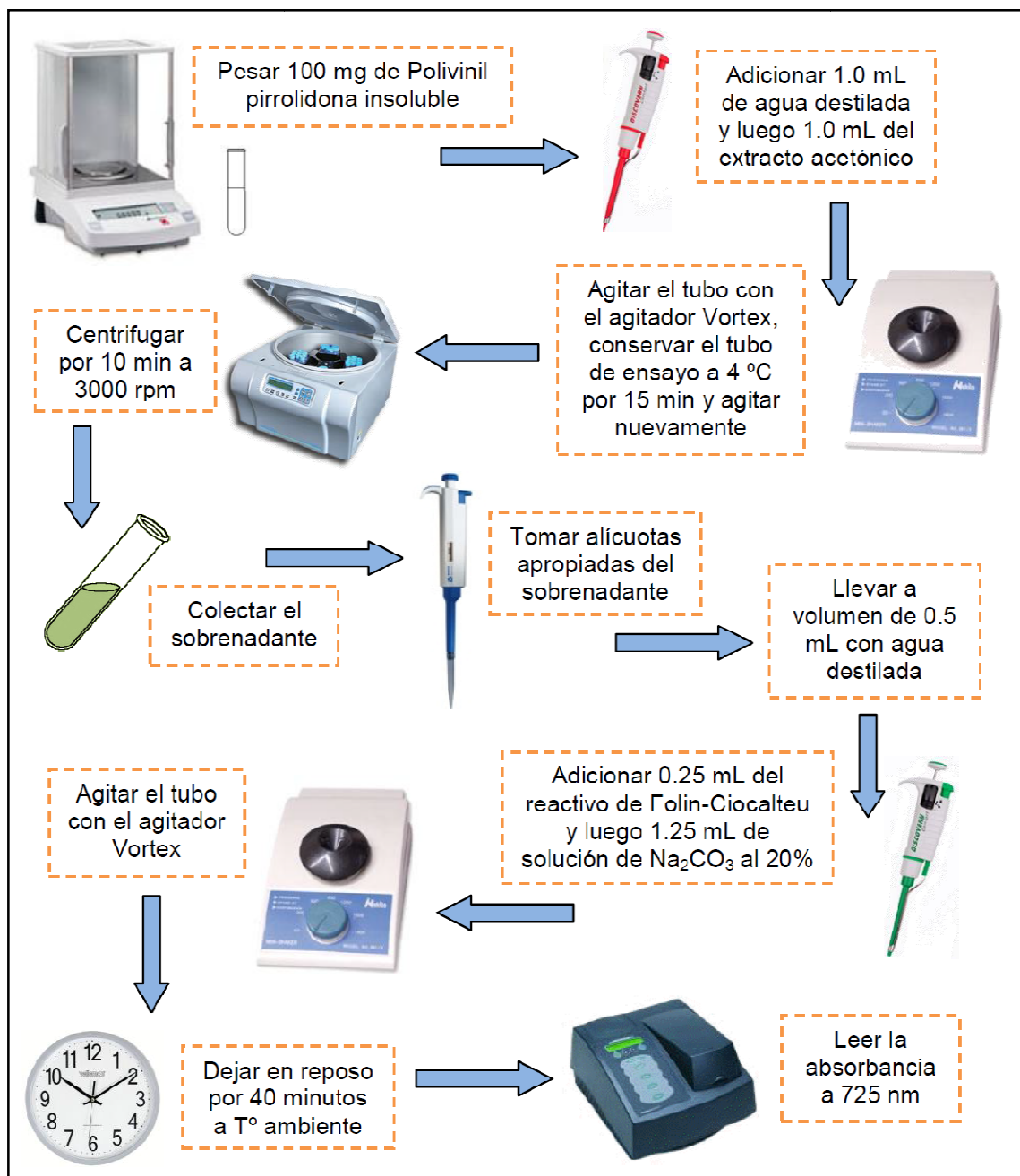


Figura N° 29 Procedimiento esquematizado para la remoción de taninos del extracto acetónico por el Método de Folin-Ciocalteu

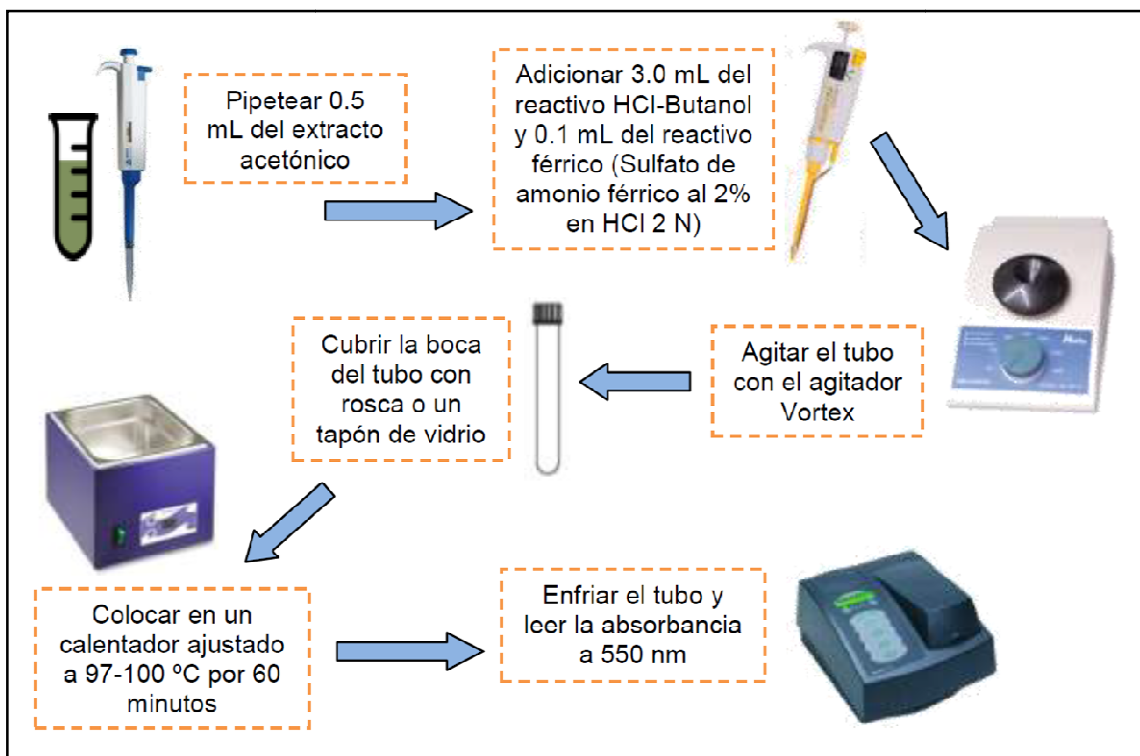


Figura N° 30 Procedimiento esquematizado para la cuantificación de taninos condensados por el Método de Proantocianidinas



Figura N° 31 Procedimiento esquematizado para la Determinación de Humedad parcial

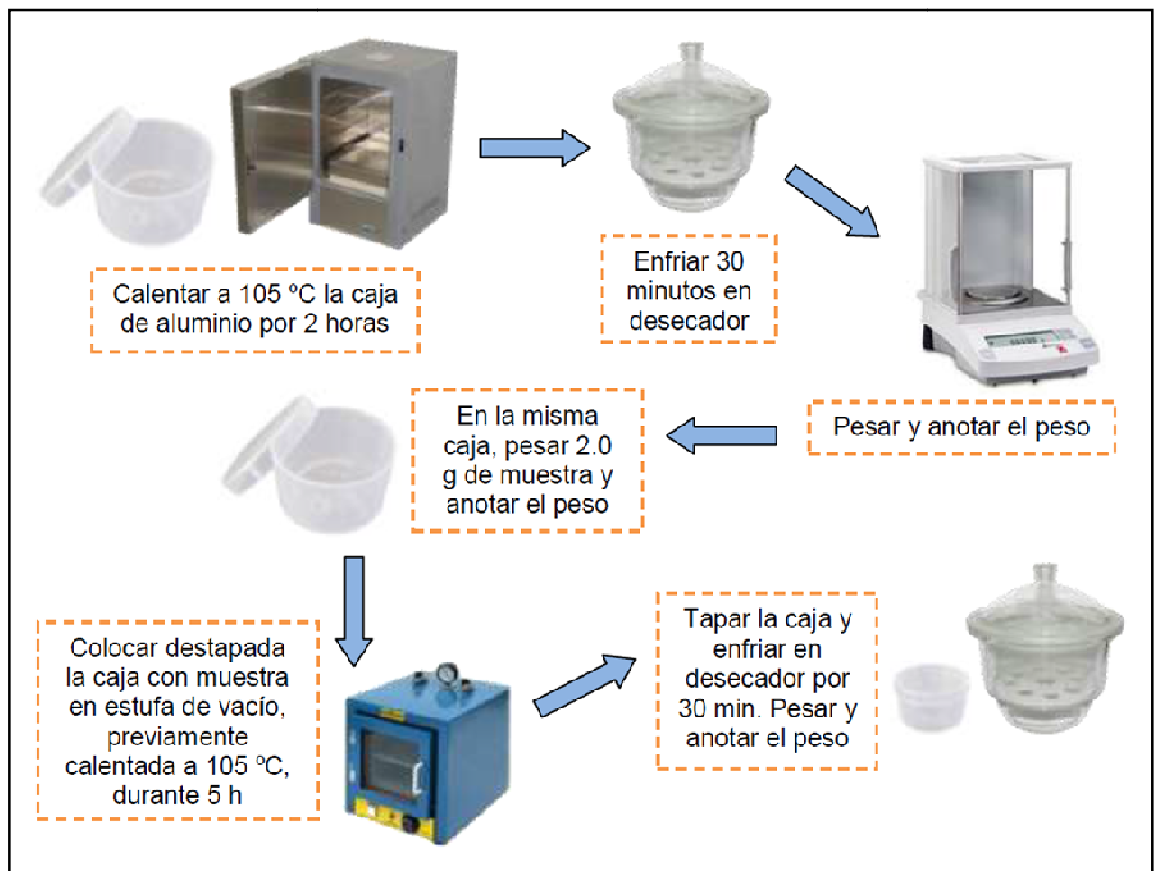


Figura N° 32 Procedimiento esquematizado para la Determinación de Humedad total

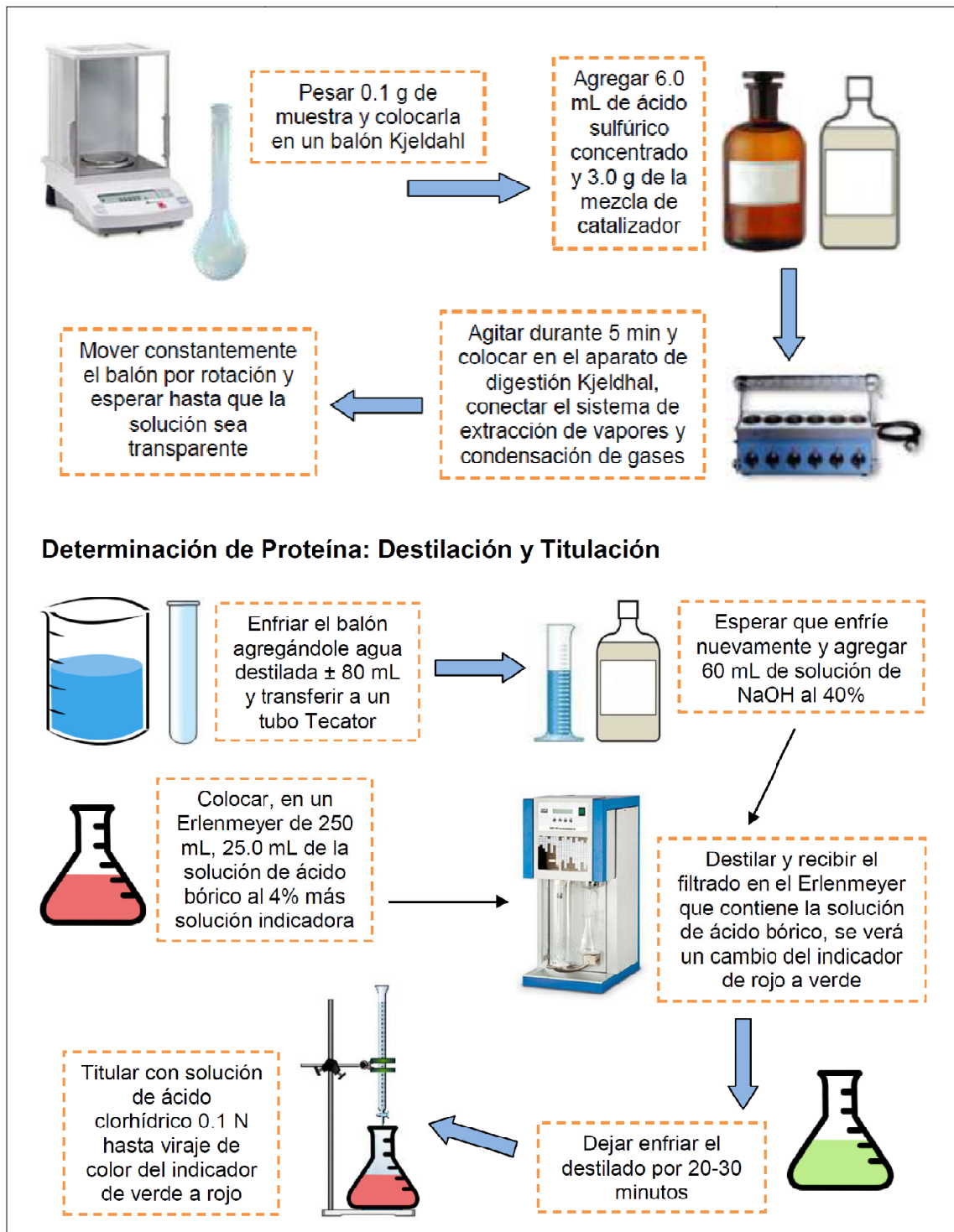


Figura N° 33 Procedimiento esquematizado para la Determinación de Proteína Cruda

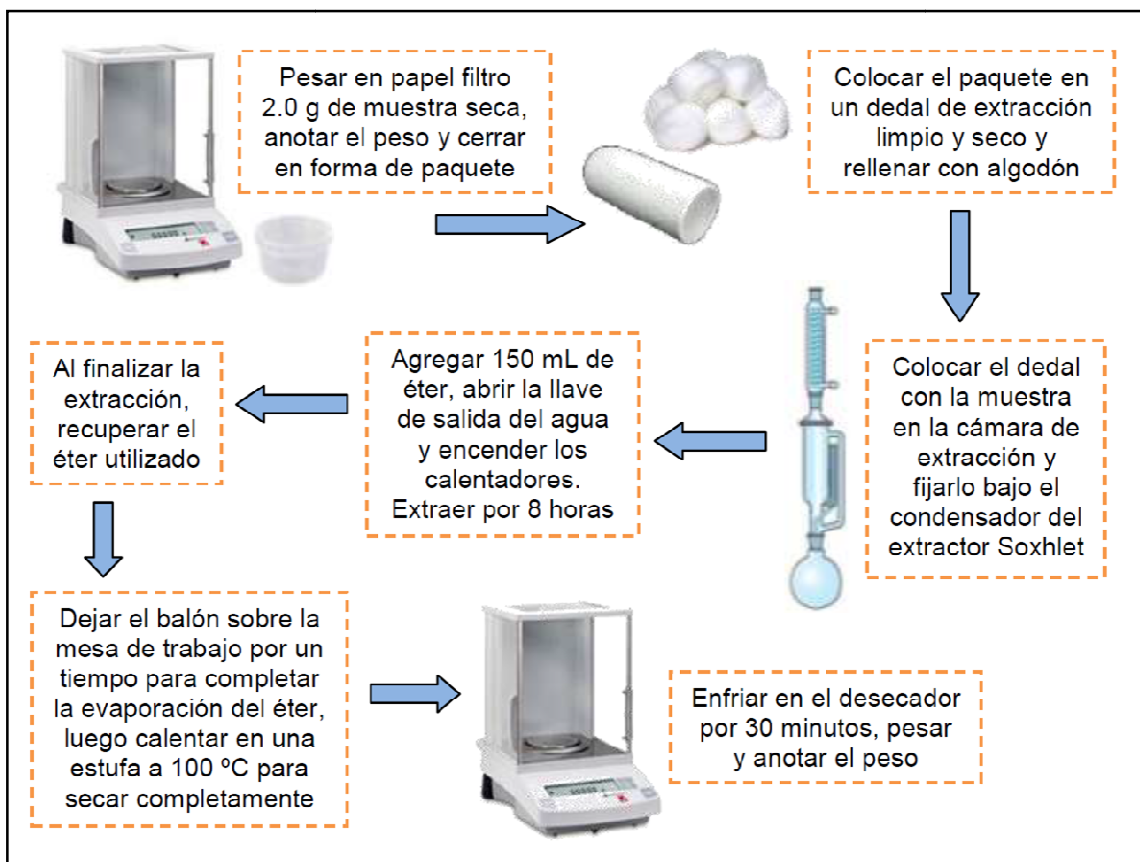


Figura N° 34 Procedimiento esquematizado para la Determinación de Extracto Etéreo

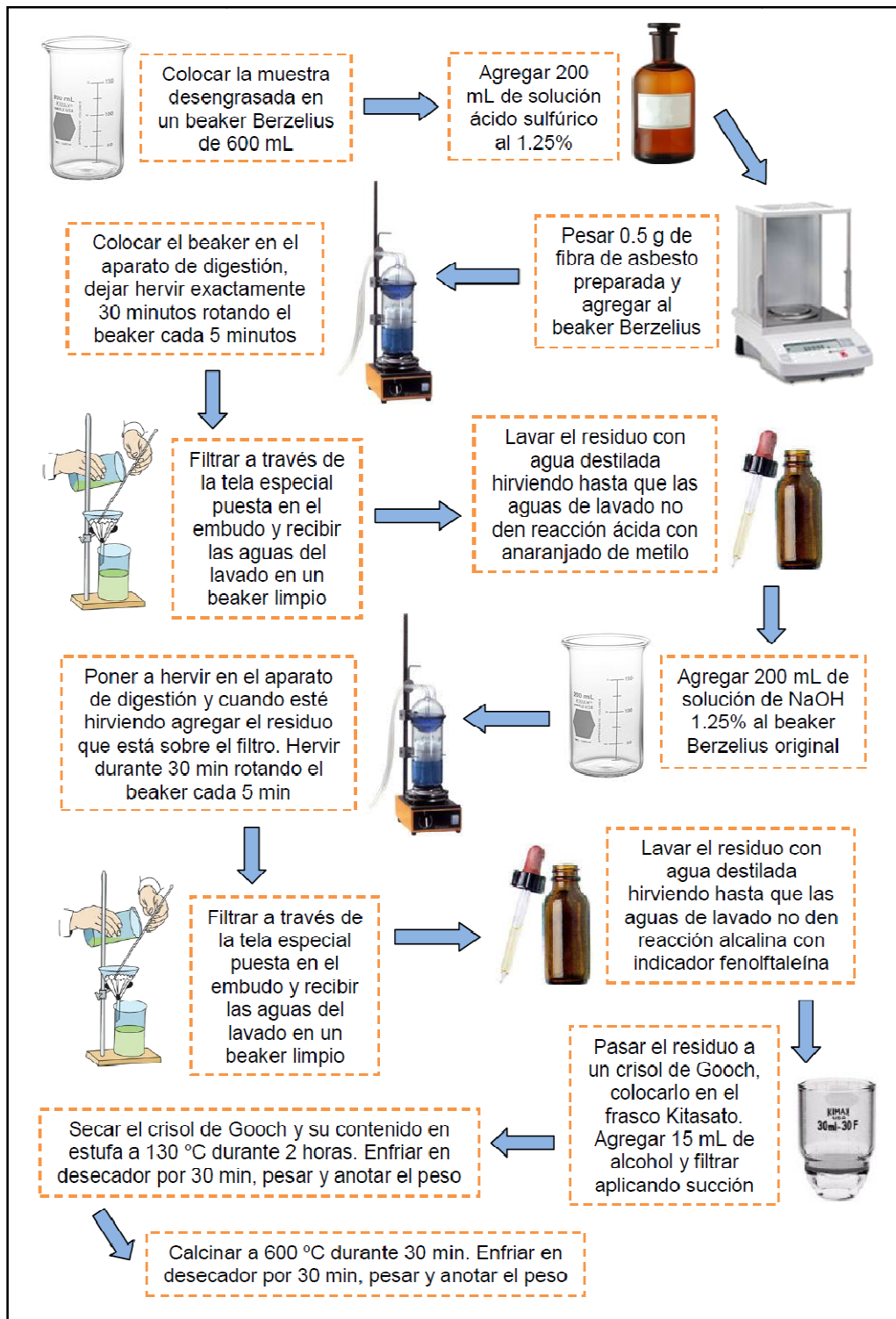


Figura N° 35 Procedimiento esquematizado para la Determinación de Fibra Cruda

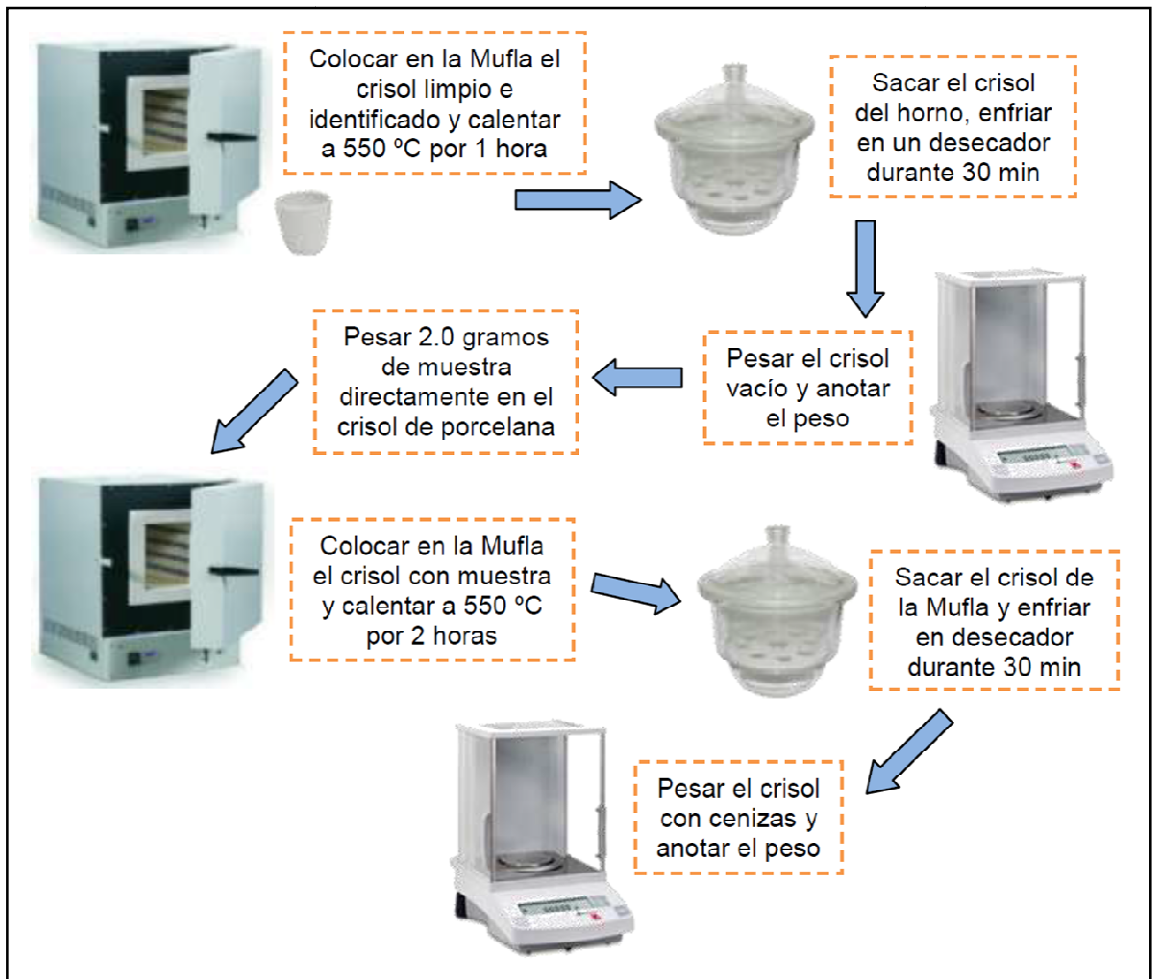


Figura N° 36 Procedimiento esquematizado para la Determinación de Cenizas

Anexo N° 7

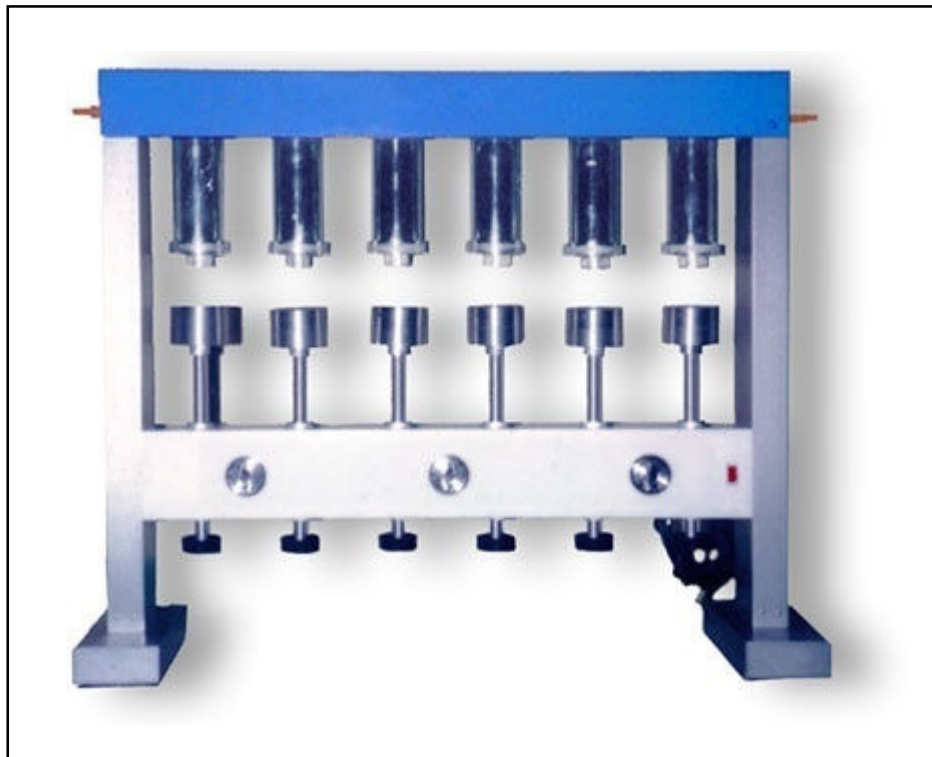


Figura N° 37 Aparato para extracción de grasas Goldfisch ⁽¹⁶⁾

Anexo N° 8

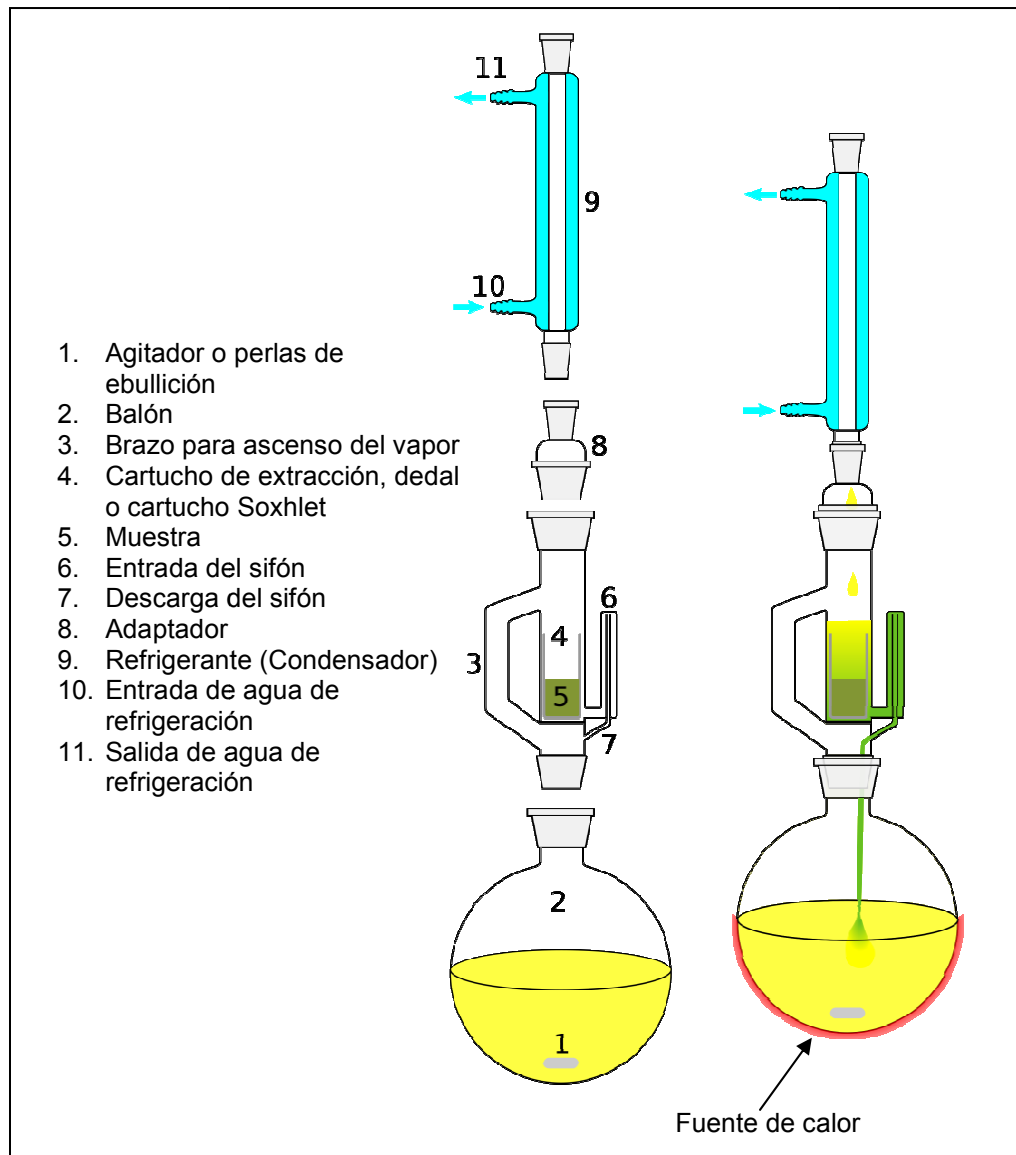


Figura N° 38 Aparato para extracción de grasas Soxhlet ⁽³¹⁾

ANEXO N° 9
RESULTADOS Y EJEMPLO DE CALCULOS DE LA CUANTIFICACION
DE TANINOS TOTALES POR EL METODO DE FOLIN-CIOCALTEU EN
LAS MUESTRAS DEL ENSAYO 1 (MUESTRAS FORRAJERAS),
ENSAYO 2 (RACIONES TOTALES MEZCLADAS) Y ENSAYO 3
(FUENTES DE FORRAJES)

Tabla N° 3 Resultados de la cuantificación de Taninos totales para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras) al tomar 0.10 mL de alícuota del Extracto acetónico

Muestra	Peso muestra (mg)	Materia seca	Absorbancia de la muestra X	Concentración muestra X (µg ácido tánico)	X (%)	Absorbancia de la muestra Y	Concentración muestra Y (µg ácido tánico)	Y (%)	X – Y (%)
AA 1	1	0,248	0,167	3,374	0,671	0,093	1,879	0,373	0,297
	2		0,169	3,414	0,685	0,091	1,838	0,369	0,316
	3		0,165	3,333	0,669	0,091	1,838	0,369	0,300
	4		0,167	3,374	0,671	0,093	1,879	0,373	0,297
	5		0,168	3,394	0,678	0,092	1,859	0,371	0,307
				Prom	0,675		Prom	0,371	0,304
AA 2	1	0,236	0,155	3,131	0,661	0,085	1,717	0,362	0,298
	2		0,156	3,152	0,665	0,083	1,677	0,354	0,311
	3		0,151	3,051	0,644	0,087	1,758	0,371	0,273
	4		0,158	3,192	0,670	0,085	1,717	0,361	0,310
	5		0,157	3,172	0,669	0,086	1,737	0,367	0,303
				Prom	0,662		Prom	0,363	0,299
AA 3	1	0,257	0,152	3,071	0,595	0,081	1,636	0,317	0,278
	2		0,151	3,051	0,585	0,085	1,717	0,329	0,256
	3		0,151	3,051	0,588	0,083	1,677	0,323	0,265
	4		0,153	3,091	0,599	0,081	1,636	0,317	0,282
	5		0,155	3,131	0,607	0,084	1,697	0,329	0,278
				Prom	0,595		Prom	0,323	0,272
								PROM	0,291
AV 1	1	0,175	0,181	3,657	1,034	0,106	2,141	0,606	0,429
	2		0,184	3,717	1,057	0,105	2,121	0,603	0,454
	3		0,182	3,677	1,040	0,103	2,081	0,589	0,451
	4		0,181	3,657	1,034	0,106	2,141	0,606	0,429
	5		0,183	3,697	1,046	0,107	2,162	0,611	0,434
				Prom	1,042		Prom	0,603	0,439
AV 2	1	0,200	0,168	3,394	0,846	0,095	1,919	0,478	0,368
	2		0,166	3,354	0,828	0,096	1,939	0,479	0,349
	3		0,169	3,414	0,847	0,095	1,919	0,476	0,371

Tabla N° 3 (continuación)

	4	201		0,165	3,333	0,831	0,094	1,899	0,473	0,358
	5	201		0,168	3,394	0,846	0,094	1,899	0,473	0,373
					Prom	0,839		Prom	0,476	0,364
AV 3	1	202	0,204	0,162	3,273	0,793	0,091	1,838	0,445	0,348
	2	201		0,164	3,313	0,807	0,093	1,879	0,457	0,349
	3	201		0,161	3,253	0,792	0,091	1,838	0,448	0,344
	4	203		0,162	3,273	0,789	0,092	1,859	0,448	0,341
	5	202		0,163	3,293	0,798	0,091	1,838	0,445	0,352
					Prom	0,796		Prom	0,449	0,347
AR 1	1	201	0,206	0,216	4,364	1,052	0,106	2,141	PROM	0,383
	2	202		0,215	4,343	1,042	0,105	2,121	0,516	0,536
	3	201		0,217	4,384	1,057	0,105	2,121	0,509	0,533
	4	201		0,214	4,323	1,042	0,107	2,162	0,511	0,546
	5	202		0,218	4,404	1,057	0,106	2,141	0,521	0,521
					Prom	1,050		Prom	0,514	0,536
AR 2	1	201	0,205	0,208	4,202	1,019	0,121	2,444	0,593	0,426
	2	203		0,206	4,162	0,999	0,119	2,404	0,577	0,422
	3	202		0,207	4,182	1,009	0,122	2,465	0,594	0,414
	4	201		0,209	4,222	1,023	0,121	2,444	0,593	0,431
	5	201		0,207	4,182	1,014	0,121	2,444	0,593	0,421
					Prom	1,013		Prom	0,590	0,423
AR 3	1	201	0,225	0,203	4,101	0,905	0,119	2,404	0,530	0,374
	2	202		0,205	4,141	0,909	0,121	2,444	0,537	0,373
	3	201		0,202	4,081	0,900	0,118	2,384	0,526	0,374
	4	203		0,203	4,101	0,896	0,123	2,485	0,543	0,353
	5	203		0,204	4,121	0,900	0,122	2,465	0,539	0,362
					Prom	0,902		Prom	0,535	0,367
									PROM	0,442

Donde:

X (%) = Porcentaje de Fenoles totales (% Fenoles no tanínicos + % Taninos totales)

Y (%) = Porcentaje de Fenoles no tanínicos

X - Y (%) = Porcentaje de Taninos totales

Tabla N° 4 Resultados de la cuantificación de Taninos totales para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras) al tomar 0.25 mL de alícuota del Extracto acetónico

Muestra	Peso muestra (mg)	Materia seca	Absorbancia de la muestra X	Concentración muestra X (µg ácido tánico)	X (%)	Absorbancia de la muestra Y	Concentración muestra Y (µg ácido tánico)	Y (%)	X - Y (%)
AA 1	203		0,431	8,707	0,692	0,235	4,776	0,380	0,313
	201		0,433	8,747	0,702	0,236	4,797	0,385	0,317
	202	0,248	0,432	8,727	0,697	0,235	4,776	0,382	0,316
	202		0,431	8,707	0,696	0,234	4,756	0,380	0,316
	202		0,429	8,667	0,693	0,232	4,715	0,377	0,316
				Prom	0,696		Prom	0,381	0,315
AA 2	201		0,375	7,576	0,64	0,213	4,303	0,363	0,276
	202		0,377	7,616	0,64	0,213	4,303	0,361	0,278
	202	0,236	0,374	7,556	0,635	0,212	4,283	0,360	0,275
	201		0,373	7,535	0,636	0,209	4,222	0,356	0,280
	201		0,375	7,576	0,640	0,214	4,323	0,365	0,275
				Prom	0,638		Prom	0,361	0,277
AA 3	201		0,358	7,232	0,561	0,202	4,081	0,316	0,244
	202		0,355	7,172	0,553	0,201	4,061	0,313	0,240
	203	0,257	0,357	7,212	0,553	0,202	4,081	0,313	0,240
	202		0,359	7,253	0,559	0,204	4,121	0,318	0,242
	202		0,358	7,232	0,558	0,203	4,101	0,316	0,242
				Prom	0,557		Prom	0,315	0,242
AV 1	202		0,455	9,192	1,04	0,261	5,273	PROM	0,278
	201		0,454	9,172	1,043	0,263	5,313	0,597	0,443
	203	0,175	0,455	9,192	1,035	0,261	5,273	0,604	0,439
	203		0,457	9,232	1,039	0,262	5,293	0,594	0,441
	202		0,453	9,152	1,035	0,261	5,273	0,596	0,444
				Prom	1,039		Prom	0,597	0,439
AV 2	201		0,413	8,343	0,832	0,232	4,687	0,597	0,441
	202		0,411	8,303	0,824	0,231	4,667	0,467	0,365
	202	0,200	0,413	8,343	0,828	0,231	4,667	0,463	0,361
	201		0,415	8,384	0,836	0,234	4,727	0,463	0,365

Tabla N° 4 (continuación)

	5	201		0,412	8,323	0,830	0,232	4,687	0,467	0,363
					Prom	0,830		Prom	0,466	0,363
AV 3	1	202	0,204	0,399	8,061	0,781	0,225	4,545	0,441	0,341
	2	203		0,395	7,980	0,770	0,224	4,525	0,436	0,333
	3	203		0,401	8,101	0,781	0,225	4,545	0,438	0,343
	4	201		0,398	8,040	0,783	0,226	4,566	0,445	0,338
	5	201		0,402	8,121	0,791	0,227	4,586	0,447	0,344
					Prom	0,781		Prom	0,441	0,340
									PROM	0,382
AR 1	1	201	0,206	0,551	11,131	1,074	0,266	5,374	0,518	0,555
	2	202		0,549	11,091	1,064	0,265	5,354	0,514	0,551
	3	202		0,553	11,172	1,072	0,266	5,374	0,516	0,556
	4	201		0,551	11,131	1,074	0,267	5,394	0,520	0,553
	5	202		0,552	11,152	1,070	0,265	5,354	0,514	0,556
					Prom	1,071		Prom	0,516	0,554
AR 2	1	201	0,205	0,518	10,465	1,015	0,303	6,121	0,593	0,421
	2	203		0,521	10,535	1,010	0,302	6,101	0,586	0,425
	3	202		0,516	10,424	1,006	0,301	6,081	0,587	0,419
	4	202		0,517	10,444	1,008	0,302	6,101	0,589	0,419
	5	202		0,518	10,465	1,010	0,303	6,121	0,591	0,419
					Prom	1,010		Prom	0,589	0,421
AR 3	1	201	0,225	0,502	10,141	0,895	0,298	6,020	0,531	0,364
	2	201		0,503	10,162	0,897	0,299	6,040	0,533	0,364
	3	202		0,502	10,141	0,891	0,298	6,020	0,529	0,362
	4	201		0,497	10,040	0,886	0,296	5,980	0,528	0,358
	5	202		0,504	10,182	0,894	0,296	5,980	0,525	0,369
					Prom	0,893		Prom	0,529	0,363
									PROM	0,446

Donde:

X (%) = Porcentaje de Fenoles totales (% Fenoles no tanínicos + % Taninos totales)

Y (%) = Porcentaje de Fenoles no tanínicos

X - Y (%) = Porcentaje de Taninos totales

Tabla N° 5 Resultados de la cuantificación de Taninos totales para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) al tomar 0.10 mL de alícuota del Extracto acetónico

Muestra	Peso muestra (mg)	Materia seca	Absorbancia de la muestra X	Concentración muestra X (µg ácido tánico)	X (%)	Absorbancia de la muestra Y	Concentración muestra Y (µg ácido tánico)	Y (%)	X - Y (%)
AY 1	201	0,234	0,122	2,465	0,525	0,053	1,071	0,228	0,297
	202		0,123	2,485	0,527	0,054	1,091	0,231	0,295
	202		0,119	2,404	0,51	0,051	1,030	0,218	0,291
	202		0,124	2,505	0,531	0,055	1,111	0,236	0,295
	201		0,122	2,465	0,525	0,053	1,071	0,228	0,297
				Prom	0,523		Prom	0,228	0,295
AY 2	203	0,261	0,127	2,566	0,485	0,089	1,798	0,340	0,145
	202		0,128	2,586	0,491	0,091	1,838	0,349	0,142
	201		0,127	2,566	0,489	0,089	1,798	0,343	0,146
	201		0,124	2,505	0,478	0,087	1,758	0,335	0,143
	201		0,129	2,606	0,497	0,088	1,778	0,339	0,158
				Prom	0,488		Prom	0,341	0,147
AY 3	201	0,224	0,113	2,283	0,508	0,091	1,838	0,409	0,099
	202		0,115	2,323	0,514	0,092	1,859	0,411	0,103
	201		0,114	2,303	0,512	0,091	1,838	0,409	0,103
	201		0,111	2,242	0,499	0,089	1,798	0,400	0,099
	201		0,113	2,283	0,508	0,091	1,838	0,409	0,099
				Prom	0,508		Prom	0,408	0,101
AG 1	202	0,234	0,131	2,646	0,561	0,056	1,131	0,240	0,321
	201		0,133	2,687	0,572	0,057	1,152	0,245	0,327
	203		0,128	2,586	0,545	0,054	1,091	0,230	0,315
	201		0,132	2,667	0,568	0,057	1,152	0,245	0,323
	201		0,131	2,646	0,563	0,055	1,111	0,237	0,327
				Prom	0,562		Prom	0,239	0,322
AG 2	201	0,276	0,135	2,727	0,491	0,073	1,475	0,265	0,225
	202		0,134	2,707	0,485	0,072	1,455	0,260	0,224
	202		0,137	2,768	0,496	0,073	1,475	0,264	0,232
	203		0,133	2,687	0,479	0,071	1,434	0,256	0,223

Tabla N° 5 (continuación)

	5	201		0,135	2,727	0,491	0,074	1,495	0,269	0,222
					Prom	0,488		Prom	0,263	0,225
AG 3	1	202	0,328	0,129	2,606	0,394	0,072	1,455	0,220	0,174
	2	202		0,128	2,586	0,390	0,071	1,434	0,217	0,174
	3	203		0,131	2,646	0,398	0,073	1,475	0,222	0,176
	4	201		0,126	2,545	0,386	0,072	1,455	0,221	0,166
	5	201		0,128	2,586	0,392	0,073	1,475	0,224	0,169
					Prom	0,392		Prom	0,220	0,172
									PROM	0,240
AZ 1	1	203	0,222	0,236	4,768	1,057	0,087	1,758	0,390	0,667
	2	201		0,237	4,788	1,072	0,088	1,778	0,398	0,674
	3	202		0,235	4,747	1,057	0,087	1,758	0,391	0,666
	4	202		0,239	4,828	1,075	0,087	1,758	0,391	0,684
	5	202		0,231	4,667	1,039	0,085	1,717	0,382	0,657
					Prom	1,060		Prom	0,391	0,669
AZ 2	1	201	0,243	0,219	4,424	0,906	0,093	1,879	0,385	0,522
	2	202		0,221	4,465	0,910	0,094	1,899	0,387	0,523
	3	201		0,215	4,343	0,89	0,092	1,859	0,381	0,509
	4	201		0,218	4,404	0,902	0,093	1,879	0,385	0,517
	5	201		0,223	4,505	0,923	0,095	1,919	0,393	0,530
					Prom	0,906		Prom	0,386	0,520
AZ 3	1	202	0,248	0,213	4,303	0,861	0,102	2,061	0,412	0,449
	2	201		0,211	4,263	0,857	0,101	2,040	0,410	0,447
	3	203		0,215	4,343	0,864	0,103	2,081	0,414	0,450
	4	203		0,213	4,303	0,856	0,101	2,040	0,406	0,450
	5	201		0,212	4,283	0,861	0,103	2,081	0,418	0,443
					Prom	0,860		Prom	0,412	0,448
									PROM	0,546

Donde:

X (%) = Porcentaje de Fenoles totales (% Fenoles no tanínicos + % Taninos totales)

Y (%) = Porcentaje de Fenoles no tanínicos

X - Y (%) = Porcentaje de Taninos totales

Tabla N° 6 Resultados de la cuantificación de Taninos totales para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) al tomar 0.25 mL de alícuota del Extracto acetónico

Muestra	Peso muestra (mg)	Materia seca	Absorbancia de la muestra X	Concentración muestra X (µg ácido tánico)	X (%)	Absorbancia de la muestra Y	Concentración muestra Y (µg ácido tánico)	Y (%)	X - Y (%)
AY 1	201		0,309	6,242	0,532	0,131	2,646	0,225	0,306
	202		0,305	6,162	0,522	0,129	2,606	0,221	0,301
	202	0,234	0,307	6,202	0,526	0,130	2,626	0,223	0,303
	201		0,312	6,303	0,537	0,132	2,667	0,227	0,310
	202		0,313	6,323	0,536	0,131	2,646	0,224	0,312
				Prom	0,531		Prom	0,224	0,307
AY 2	203		0,322	6,505	0,491	0,221	4,465	0,337	0,154
	201		0,319	6,444	0,492	0,221	4,465	0,341	0,151
	202	0,261	0,325	6,566	0,498	0,222	4,485	0,340	0,158
	201		0,321	6,485	0,495	0,220	4,444	0,339	0,156
	201		0,322	6,505	0,496	0,221	4,465	0,341	0,156
				Prom	0,494		Prom	0,340	0,155
AY 3	201		0,278	5,616	0,500	0,226	4,566	0,406	0,093
	202		0,281	5,677	0,503	0,228	4,606	0,408	0,095
	201	0,224	0,279	5,636	0,501	0,227	4,586	0,408	0,093
	203		0,278	5,616	0,495	0,226	4,566	0,402	0,093
	203		0,275	5,556	0,489	0,225	4,545	0,400	0,089
				Prom	0,498		Prom	0,405	0,093
								PROM	0,185
AG 1	202		0,332	6,707	0,568	0,143	2,889	0,245	0,324
	202		0,334	6,747	0,572	0,142	2,869	0,243	0,329
	201	0,234	0,331	6,687	0,569	0,143	2,889	0,246	0,323
	201		0,337	6,808	0,580	0,144	2,909	0,248	0,332
	201		0,335	6,768	0,576	0,143	2,889	0,246	0,330
				Prom	0,573		Prom	0,246	0,328
AG 2	201		0,323	6,525	0,470	0,181	3,657	0,263	0,206
	201		0,328	6,626	0,477	0,182	3,677	0,265	0,212
	203	0,276	0,321	6,485	0,462	0,181	3,657	0,261	0,202
	203		0,319	6,444	0,459	0,180	3,636	0,259	0,200

Tabla N° 6 (continuación)

	5	202		0,323	6,525	0,467	0,181	3,657	0,262	0,205
					Prom	0,467		Prom	0,262	0,205
AG 3	1	202	0,328	0,327	6,606	0,399	0,181	3,657	0,221	0,178
	2	202		0,324	6,545	0,395	0,180	3,636	0,220	0,176
	3	202		0,321	6,485	0,392	0,179	3,616	0,218	0,173
	4	201		0,326	6,586	0,400	0,182	3,677	0,223	0,177
	5	203		0,324	6,545	0,393	0,181	3,657	0,220	0,174
					Prom	0,396		Prom	0,220	0,175
									PROM	0,236
AZ 1	1	203	0,222	0,584	11,798	1,046	0,217	4,384	0,389	0,657
	2	202		0,579	11,697	1,042	0,217	4,384	0,391	0,651
	3	202		0,583	11,778	1,049	0,218	4,404	0,392	0,657
	4	201		0,586	11,838	1,060	0,219	4,424	0,396	0,664
	5	202		0,582	11,758	1,047	0,216	4,364	0,389	0,659
					Prom	1,049		Prom	0,391	0,658
AZ 2	1	201	0,243	0,535	10,808	0,886	0,228	4,606	0,377	0,508
	2	202		0,537	10,848	0,885	0,227	4,586	0,374	0,511
	3	201		0,533	10,768	0,882	0,225	4,545	0,373	0,510
	4	201		0,535	10,808	0,886	0,226	4,566	0,374	0,512
	5	201		0,531	10,727	0,879	0,227	4,586	0,376	0,503
					Prom	0,884		Prom	0,375	0,509
AZ 3	1	202	0,248	0,527	10,646	0,852	0,253	5,111	0,409	0,443
	2	203		0,524	10,586	0,843	0,251	5,071	0,404	0,439
	3	202		0,526	10,626	0,850	0,252	5,091	0,407	0,443
	4	201		0,523	10,566	0,850	0,251	5,071	0,408	0,442
	5	201		0,527	10,646	0,856	0,253	5,111	0,411	0,445
					Prom	0,850		Prom	0,408	0,442
									PROM	0,536

Donde:

X (%) = Porcentaje de Fenoles totales (% Fenoles no tanínicos + % Taninos totales)

Y (%) = Porcentaje de Fenoles no tanínicos

X - Y (%) = Porcentaje de Taninos totales

Tabla N° 7 Resultados de la cuantificación de Taninos totales para el Ensayo 3 (Fuentes de forrajes) al tomar 0.10 mL de alícuota del Extracto acetónico

Muestra	Peso muestra (mg)	Materia seca	Absorbancia de la muestra X	Concentración muestra X (µg ácido tánico)	X (%)	Absorbancia de la muestra Y	Concentración muestra Y (µg ácido tánico)	Y (%)	X – Y (%)
Frijol mono	1	0,104	0,062	1,253	0,598	0,027	0,545	0,260	0,337
	2		0,061	1,232	0,585	0,028	0,566	0,269	0,317
	3		0,062	1,253	0,598	0,026	0,525	0,251	0,347
	4		0,063	1,273	0,604	0,027	0,545	0,259	0,345
	5		0,062	1,253	0,595	0,028	0,566	0,269	0,326
				Prom	0,596		PROM	0,261	0,335
Sorgo	1	0,178	0,203	4,101	1,133	0,098	1,980	0,547	0,586
	2		0,201	4,061	1,127	0,097	1,960	0,544	0,583
	3		0,204	4,121	1,144	0,101	2,040	0,566	0,578
	4		0,202	4,081	1,138	0,102	2,061	0,575	0,564
	5		0,203	4,101	1,138	0,098	1,980	0,550	0,589
				Prom	1,136		PROM	0,556	0,580
Sorgo-Canavalia	1	0,154	0,149	3,010	0,969	0,073	1,475	0,475	0,494
	2		0,148	2,990	0,967	0,074	1,495	0,484	0,484
	3		0,151	3,051	0,987	0,073	1,475	0,477	0,510
	4		0,149	3,010	0,974	0,069	1,394	0,451	0,523
	5		0,147	2,970	0,956	0,073	1,475	0,475	0,481
				Prom	0,970		PROM	0,472	0,498

Donde:

X (%) = Porcentaje de Fenoles totales (% Fenoles no tánicos + % Taninos totales)

Y (%) = Porcentaje de Fenoles no tánicos

X – Y (%) = Porcentaje de Taninos totales

Tabla N° 8 Resultados de la cuantificación de Taninos totales para el Ensayo 3 (Fuentes de forrajes) al tomar 0.25 mL de alícuota del Extracto acetónico

Muestra	Peso muestra (mg)	Materia seca	Absorbancia de la muestra X	Concentración muestra X (µg ácido tánico)	X (%)	Absorbancia de la muestra Y	Concentración muestra Y (µg ácido tánico)	Y (%)	X - Y (%)
Frijol mono	1		0,153	3,091	0,590	0,069	1,394	0,266	0,324
	2		0,152	3,071	0,580	0,071	1,434	0,271	0,309
	3	0,104	0,153	3,091	0,587	0,072	1,455	0,276	0,311
	4		0,151	3,051	0,580	0,068	1,374	0,261	0,319
	5		0,152	3,071	0,583	0,066	1,333	0,253	0,330
				Prom	0,584		PROM	0,266	0,319
Sorgo	1		0,509	10,283	1,136	0,245	4,949	0,547	0,589
	2		0,508	10,263	1,145	0,244	4,929	0,550	0,595
	3	0,178	0,507	10,242	1,137	0,241	4,869	0,541	0,597
	4		0,511	10,323	1,152	0,246	4,97	0,555	0,597
	5		0,509	10,283	1,147	0,245	4,949	0,552	0,595
				Prom	1,143		PROM	0,549	0,595
Sorgo-Canavalia	1		0,375	7,576	0,975	0,186	3,758	0,484	0,492
	2		0,378	7,636	0,988	0,183	3,697	0,478	0,510
	3	0,154	0,374	7,556	0,978	0,185	3,737	0,484	0,494
	4		0,375	7,576	0,970	0,188	3,798	0,487	0,484
	5		0,376	7,596	0,983	0,181	3,657	0,473	0,510
				Prom	0,979		PROM	0,481	0,498

Donde:

X (%) = Porcentaje de Fenoles totales (% Fenoles no tánicos + % Taninos totales)

Y (%) = Porcentaje de Fenoles no tánicos

X - Y (%) = Porcentaje de Taninos totales

EJEMPLO DE CALCULOS DEL PORCENTAJE DE TANINOS TOTALES POR EL METODO DE FOLIN-CIOCALTEU

El procedimiento a seguir para este método se divide en dos partes. En la primera parte se procede con el Análisis para cuantificación de Fenoles totales y se calcula X% que corresponde al porcentaje de Fenoles totales de la muestra (Fenoles no tanínicos y Taninos totales). En la segunda parte se realiza la Remoción de taninos del extracto acetónico con Polivinil pirrolidona insoluble, quedando sólo el porcentaje de Fenoles no tanínicos de la muestra que se obtiene con los cálculos y se denomina Y%. Luego, los porcentajes de ambas cuantificaciones se restan (X% – Y%) y se obtiene el porcentaje de Taninos totales presente en la muestra.

Análisis para cuantificación de Fenoles totales:

$$\% \text{ Fenoles totales} = \% \text{ Fenoles no tanínicos} + \% \text{ Taninos totales}$$

$$X\% = Y\% - \% \text{ Taninos totales}$$

Remoción de taninos del extracto acetónico:

$$\% \text{ Fenoles totales} - \% \text{ Fenoles no tanínicos} = \% \text{ Taninos totales}$$

$$X\% - Y\% = \% \text{ Taninos totales}$$

Ejemplo de cálculos: Ensayo 1 (Muestras forrajeras) - Muestra AA 1

Análisis para cuantificación de Fenoles totales (Primera parte)

Datos:

Alícuota tomada del extracto acetónico = 0.10 mL

Peso de muestra AA 1 = 203 mg

Materia seca de muestra AA 1 = 0.248

Absorbancia a 725 nm de muestra AA 1 = 0.167

Según la Ecuación de la línea recta obtenida en la Curva de calibración:

Concentración de la muestra = (Absorbancia) / 0.0495

Concentración AA 1 = 0.167 / 0.0495 = 3.374 μg equivalente de ácido tánico

0.10 mL (ó 100 μL) de Extracto tanínico da una Absorbancia de 0.167 = 3.374 μg equivalente de ácido tánico

En 1.0 mL = (3.374 μg equivalente de ácido tánico) / (0.10 mL) = 33.740 μg de ácido tánico = 0.0337 mg de ácido tánico

Se extrajo 203 mg de muestra con 10 mL de solvente (acetona al 70%)

Para extraer 100 mg de muestra = [(100 mg) (10 mL solvente)] / 203 mg = 4.93 mL de solvente (acetona al 70%)

En 1.0 mL de Extracto tanínico = 0.0337 mg de ácido tánico

En 4.93 mL solvente = (4.93 mL solvente) (0.0337 mg) = 0.1661 mg de ácido tánico

Es decir: 100 mg de muestra = 0.1661 mg de ácido tánico

100 g muestra = 0.1661 g de ácido tánico

Porcentaje de Materia seca = 24.8%

Ácido tánico en la Materia seca = 0.1661 / 0.248 = 0.670

Ácido tánico en la Materia seca = **0.670 (X%)**

Remoción de taninos del extracto acetónico (Segunda parte)

Datos:

* Alícuota tomada del extracto acetónico = 0.20 mL

Peso de muestra AA 1 = 203 mg

Materia seca de muestra AA 1 = 0.248

Absorbancia a 725 nm (con PVPP) de muestra AA 1 = 0.093

Según la Ecuación de la línea recta obtenida en la Curva de calibración:

Concentración de la muestra = (Absorbancia) / 0.0495

Concentración AA 1 = 0.093 / 0.0495 = 1.879 µg equivalente de ácido tánico

0.20 mL (ó 200 µL) de Extracto tanínico da una Absorbancia de 0.093 = 1.879 µg equivalente de ácido tánico

En 1.0 mL = (1.879 µg equivalente de ácido tánico) / (0.20 mL) = 9.395 µg de ácido tánico = 0.0094 mg de ácido tánico

En 1.0 mL de Extracto tanínico = 0.0094 mg de ácido tánico

Se extrajo 203 mg de muestra con 20 mL de solvente acetona al 70% (ya que el extracto se ha diluido 2 veces) = [(1.0 mL) (203 mg)] / 20 mL = 10.15 mg

En 10.15 mg de muestra = 0.0094 mg de ácido tánico

Para 100 mg de muestra = [(100 mg) (0.0094 mg)] / 10.15 mg = 0.0926 mg de ácido tánico

Es decir: 100 mg de muestra = 0.0926 mg de ácido tánico

100 g muestra = 0.0926 g de ácido tánico

Porcentaje de Materia seca = 24.8%

Ácido tánico en la Materia seca = 0.0926 / 0.248 = 0.373

Ácido tánico en la Materia seca = **0.373 (Y%)**

Taninos totales = (X%) – (Y%) = (0.670 – 0.373) % = 0.297%

Taninos totales (equivalentes del ácido tánico) = 0.297% en la Materia seca

* La alícuota tomada en la cuantificación por remoción de taninos del extracto acetónico debe ser el doble del volumen usado en el Análisis para cuantificación de Fenoles totales.

Anexo N° 10

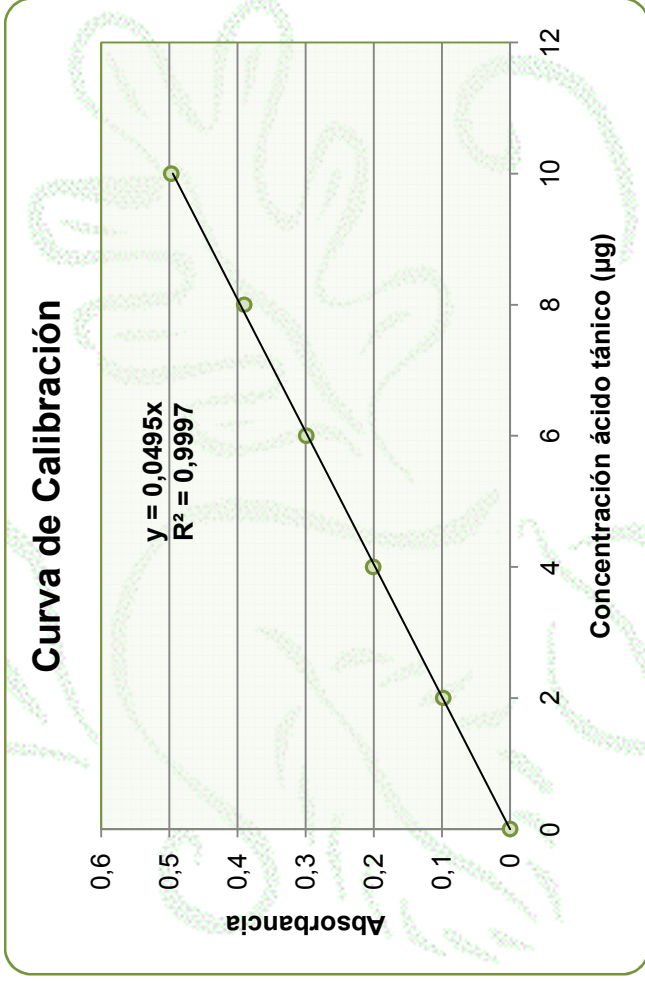


Tabla N° 9 Curva de calibración

Concentración Ácido tánico (μg)	Absorbancia a 725 nm
0	0,000
2	0,098
4	0,201
6	0,299
8	0,390
10	0,497

Figura N° 39 Curva de calibración del Ácido tánico

Ecuación de la línea recta para la Curva de calibración: $y = 0.0495 x$
Para encontrar las concentraciones de las muestras:

$$\text{Concentración muestra} = (\text{Absorbancia de la muestra a } 725 \text{ nm}) / 0.0495$$

ANEXO N° 11
RESULTADOS Y CALCULOS DE LA PRUEBA F PARA EL ANALISIS
DE VARIANZA AL 95% DE CONFIANZA DE LAS MUESTRAS DEL
ENSAYO 1 (MUESTRAS FORRAJERAS) Y ENSAYO 2 (RACIONES
TOTALES MEZCLADAS)

PRUEBA F PARA TANINOS TOTALES

Ensayo 1 (Muestras forrajeras) y Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) combinados

Tabla N° 10 Resultados de la Prueba F para el Ensayo 1 y 2 combinados

Muestra	% TT 1	% TT 2	% TT 3	Promedio	Sumatoria (Z)	FC	SCTotales	SCTrat	SCEError
AA	0,310	0,288	0,257	0,28500	0,855	2,15074	0,35620	/-0,93879/	1,29499
AV	0,440	0,364	0,344	0,38267	1,148	---	---	---	---
AZ	0,545	0,422	0,365	0,44400	1,332	---	---	---	---
AY	0,301	0,151	0,097	0,18300	0,549	---	---	---	---
AG	0,325	0,215	0,174	0,23800	0,714	---	---	---	---
AZ	0,664	0,515	0,445	0,54133	1,624	---	---	---	---
				Total	Σ 6,222				

% TT 1 = Porcentaje de Taninos totales para el tratamiento 1
 % TT 2 = Porcentaje de Taninos totales para el tratamiento 2
 % TT 3 = Porcentaje de Taninos totales para el tratamiento 3
 FC = Factor de corrección
 SCTotales = Sumatoria de Cuadrados Totales
 SCStrat = Sumatoria de Cuadrados del Tratamiento
 SCEError = Sumatoria de Cuadrados del Error

Cálculos: ⁽²⁸⁾

$$FC = \frac{(\sum X_1 + \sum X_2 + \sum X_3 + \dots + \sum X_y)^2}{n} = \frac{(6.222)^2}{18} = 2.15074$$

FC = 2.15074

$$\begin{aligned}
 SCTotales = & \sum (X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + \dots + X_y^2) - FC = (0.310)^2 + (0.288)^2 + (0.257)^2 + (0.440)^2 + (0.364)^2 + (0.344)^2 + \\
 & (0.545)^2 + (0.422)^2 + (0.365)^2 + (0.301)^2 + (0.151)^2 + (0.097)^2 + \\
 & (0.325)^2 + (0.215)^2 + (0.174)^2 + (0.664)^2 + (0.515)^2 + (0.445)^2 = \\
 & 2.50694 - 2.15074 = 0.35620
 \end{aligned}$$

SCTotales = 0.35620

$$SCTrat = \frac{\Sigma(Z_1^2 + Z_2^2 + Z_3^2 + \dots + Z_y^2)}{n} - FC/$$

$$SCTrat = \frac{(0.855)^2 + (1.148)^2 + (1.332)^2 + (0.549)^2 + (0.714)^2 + (1.624)^2}{6} - 2.15074/ = /-0.93879/$$

SCTrat = /-0.93879/

$$SCError = SCTotales - SCTrat = 0.35620 - (-0.93879) = 1.29499$$

SCError = 1.29499

Tabla N° 11 Resultados de Análisis de Varianza para el Ensayo 1 y 2 combinados

	Grados de Libertad	Sumatoria de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabla al 95% de confianza
Tratamiento	5	/-0.93879/	/-0,18776/	1,740	3,106
Error	12	1,29499	0,10792		
Total	17	---	---	---	---

Cálculos: ⁽²⁸⁾

Grados de Libertad para el Tratamiento = Tratamientos – 1 = 6 – 1 = 5

GLTrat = 5

Grados de Libertad del Total = Variables X_y – 1 = 18 – 1 = 17

GLTotal = 17

Grados de Libertad para el Error = GLTrat – GLTotal = 17 – 5 = 12

GLError = 12

Sumatoria de Cuadrados:

$$SCTrat = /-0.93879/$$

$$SCErro = 1.29499$$

Cuadrados Medios (CM):

$$CM \text{ Cuadrados Medios del Tratamiento} = \frac{SCTrat}{GLTrat} = \frac{/-0.93879/}{5} = /-0.18776/$$

$$CMTrat = /-0.18776/$$

$$Cuadrados Medios del Error = \frac{SCErro}{GLErro} = \frac{1.29499}{12} = 0.10792$$

$$CMErro = 0.10792$$

F calculado:

$$F_{\text{calculado}} = \frac{CMTrat}{CMErro} = \frac{/-0.18776/}{0.10792} = 1.740$$

$$F_{\text{calculado}} = 1.740$$

F de tabla al 95% de confianza:

$$F_{\text{tabla al 95\%}} = 3.106$$

g.d.l.	Tratamientos					Grados de libertad del Numerador			
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5
2	18,513	19,000	19,164	19,247	19,296	19,330	19,353	19,371	19,385
3	10,128	9,552	9,277	9,117	9,013	8,941	8,887	8,845	8,812
4	7,709	6,944	6,591	6,388	6,256	6,163	6,094	6,041	5,999
5	6,608	5,786	5,409	5,192	5,050	4,950	4,876	4,818	4,772
6	5,987	5,143	4,757	4,534	4,387	4,284	4,207	4,147	4,099
7	5,591	4,737	4,347	4,120	3,972	3,866	3,787	3,726	3,677
8	5,318	4,459	4,066	3,838	3,687	3,581	3,500	3,438	3,388
9	5,117	4,256	3,863	3,633	3,482	3,374	3,293	3,230	3,179
10	4,965	4,103	3,708	3,478	3,326	3,217	3,135	3,072	3,020
11	4,844	3,982	3,587	3,357	3,204	3,095	3,012	2,948	2,896
12	4,747	3,885	3,490	3,259	3,106	2,996	2,913	2,849	2,796
13	4,667	3,806	3,411	3,179	3,025	2,915	2,832	2,767	2,714
14	4,600	3,739	3,344	3,112	2,958	2,848	2,764	2,699	2,646
15	4,543	3,682	3,287	3,056	2,901	2,790	2,707	2,641	2,588
16	4,494	3,634	3,239	3,007	2,852	2,741	2,657	2,591	2,538
17	4,451	3,597	3,197	2,965	2,810	2,699	2,614	2,548	2,494
18	4,414	3,555	3,160	2,928	2,773	2,661	2,577	2,510	2,456
19	4,381	3,522	3,127	2,895	2,740	2,628	2,544	2,477	2,423
20	4,351	3,493	3,098	2,866	2,711	2,599	2,514	2,447	2,393
21	4,325	3,467	3,072	2,840	2,685	2,573	2,488	2,420	2,366
22	4,301	3,443	3,049	2,817	2,661	2,549	2,464	2,397	2,342
23	4,279	3,422	3,028	2,796	2,640	2,528	2,442	2,375	2,320
24	4,260	3,403	3,009	2,776	2,621	2,508	2,423	2,355	2,300
25	4,242	3,385	2,991	2,759	2,603	2,490	2,405	2,337	2,282

Figura N° 40 Tabla de valores críticos de la Distribución F al 95% de confianza para 5 grados de libertad del tratamiento y 12 grados de libertad del error ⁽²⁸⁾

Criterio para F de tabla al 95% de confianza: $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabla al 95\%}} = \text{No hay diferencia significativa al 95\%}$

PRUEBA F PARA TANINOS CONDENSADOS

Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Tabla N° 12 Resultados de la Prueba F para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Muestra	% TC 1	% TC 2	% TC 3	Promedio	Sumatoria (Z)	FC	SCTotales	SCTrat	SCErro
AA	0,102	0,107	0,068	0,0923	0,277	0,11811	0,00600	0,00233	0,00367
AV	0,113	0,126	0,125	0,1213	0,364	---	---	---	---
AR	0,159	0,142	0,089	0,1300	0,390	---	---	---	---
Total					Σ 1,031				

% TC 1 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 1 SCTotales = Sumatoria de Cuadrados Totales
 % TC 2 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 2 SCTrat = Sumatoria de Cuadrados del Tratamiento
 % TC 3 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 3 SCErro = Sumatoria de Cuadrados del Error
 FC = Factor de corrección

Cálculos: ⁽²⁸⁾

$$FC = \frac{(\sum X_1 + \sum X_2 + \sum X_3 + \dots + \sum X_y)^2}{n} = \frac{(1.031)^2}{9} = 0.11811$$

FC = 0.11811

$$SCTotales = \sum (X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + \dots + X_y^2) - FC = (0.102)^2 + (0.107)^2 + (0.068)^2 + (0.113)^2 + (0.125)^2 + (0.125)^2 + (0.159)^2 + (0.142)^2 + (0.089)^2 = 0.12411 - 0.11811 = 0.00600$$

SCTotales = 0.00600

$$SCTrat = \frac{\sum (Z_1^2 + Z_2^2 + Z_3^2 + \dots + Z_y^2)}{n} - FC = \frac{(0.277)^2 + (0.364)^2 + (0.390)^2}{3} - 0.11811 = \frac{0.12044 - 0.11811}{3} = \frac{0.00233}{3}$$

SCTrat = 0.00233

SCError = SCTotales – SCTrat = 0.00600 – 0.00233 = 0.00367

SCError = 0.00367

Tabla N° 13 Resultados de Análisis de Varianza para el Ensayo 1 (Muestras Forrajeras)

	Grados de Libertad	Sumatoria de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabla al 95% de confianza
Tratamiento	2	0,00233	0,00117	1,918	5,143
Error	6	0,00367	0,00061	---	---
Total	8	---	---	---	---

Cálculos: ⁽²⁸⁾

Grados de Libertad para el Tratamiento = Tratamientos – 1 = 3 – 1 = 2

GLTrat = 2

Grados de Libertad del Total = Variables X_y – 1 = 9 – 1 = 8

GLTotal = 8

Grados de Libertad para el Error = GLTrat – GLTotal = 8 – 2 = 6

GLError = 6

Sumatoria de Cuadrados:

SCTrat = 0.00233

SCError = 0.00367

Cuadrados Medios (CM):

$$\text{Cuadrados Medios del Tratamiento} = \frac{\text{SCTrat}}{\text{GLTrat}} = \frac{0.00233}{2} = 0.00117$$

CMTrat = 0.00117

$$\text{Cuadrados Medios del Error} = \frac{\text{SCErro}}{\text{GLErro}} = \frac{0.00367}{6} = 0.00061$$

CMErro = 0.00061

F calculado:

$$F_{\text{calculado}} = \frac{\text{CMTrat}}{\text{CMErro}} = \frac{0.00117}{0.00061} = 1.918$$

F calculado = 1.918

F de tabla al 95% de confianza:

F tabla al 95% = 5.143

Criterio para F de tabla al 95% de confianza: $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabla al 95\%}}$ = No hay diferencia significativa al 95%

g.d.l. Error	Tratamientos								
	1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5
2	18,513	19,000	19,164	19,247	19,296	19,330	19,353	19,371	19,385
3	10,128	9,552	9,277	9,117	9,013	8,941	8,887	8,845	8,812
4	7,709	6,944	6,591	6,388	6,256	6,163	6,094	6,041	5,999
5	6,608	5,786	5,409	5,192	5,050	4,950	4,876	4,818	4,772
6	5,987	5,143	4,757	4,534	4,387	4,284	4,207	4,147	4,099
7	5,591	4,737	4,347	4,120	3,972	3,866	3,787	3,726	3,677
8	5,318	4,459	4,066	3,838	3,687	3,581	3,500	3,438	3,388
9	5,117	4,256	3,863	3,633	3,482	3,374	3,293	3,230	3,179
10	4,965	4,103	3,708	3,478	3,326	3,217	3,135	3,072	3,020
11	4,844	3,982	3,587	3,357	3,204	3,095	3,012	2,948	2,896
12	4,747	3,885	3,490	3,259	3,106	2,996	2,913	2,849	2,796
13	4,667	3,806	3,411	3,179	3,025	2,915	2,832	2,767	2,714
14	4,600	3,739	3,344	3,112	2,958	2,848	2,764	2,699	2,646
15	4,543	3,682	3,287	3,056	2,901	2,790	2,707	2,641	2,588
16	4,494	3,634	3,239	3,007	2,852	2,741	2,657	2,591	2,538
17	4,451	3,597	3,197	2,965	2,810	2,699	2,614	2,548	2,494
18	4,414	3,555	3,160	2,928	2,773	2,661	2,577	2,510	2,456
19	4,381	3,522	3,127	2,895	2,740	2,628	2,544	2,477	2,423
20	4,351	3,493	3,098	2,866	2,711	2,599	2,514	2,447	2,393
21	4,325	3,467	3,072	2,840	2,685	2,573	2,488	2,420	2,366
22	4,301	3,443	3,049	2,817	2,661	2,549	2,464	2,397	2,342
23	4,279	3,422	3,028	2,796	2,640	2,528	2,442	2,375	2,320
24	4,260	3,403	3,009	2,776	2,621	2,508	2,423	2,355	2,300
25	4,242	3,385	2,991	2,759	2,603	2,490	2,405	2,337	2,282

Figura N° 41 Tabla de valores críticos de la Distribución F al 95% de confianza para 2 grados de libertad del tratamiento y 6 grados de libertad del error ⁽²⁸⁾

Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Tabla N° 14 Resultados de la Prueba F para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Muestra	% TC 1	% TC 2	%TC 3	Promedio	Sumatoria (Z)	FC	SCTotales	SCTrat	SCError
AY	0,107	0,126	0,076	0,1030	0,309	0,11651	0,00776	0,00190	0,00586
AG	0,078	0,148	0,086	0,1040	0,312	----	----	----	----
AZ	0,130	0,108	0,165	0,1343	0,403	----	----	----	----
Total				Σ 1,024					

% TC 1 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 1 SCTotales = Sumatoria de Cuadrados Totales
 % TC 2 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 2 SCTrat = Sumatoria de Cuadrados del Tratamiento
 % TC 3 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 3 SCError = Sumatoria de Cuadrados del Error
 FC = Factor de corrección

Cálculos: ⁽²⁸⁾

$$FC = \frac{(\sum X_1 + \sum X_2 + \sum X_3 + \dots + \sum X_y)^2}{n} = \frac{(1.024)^2}{9} = 0.11651$$

FC = 0.11651

$$SCTotales = \sum (X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + \dots + X_y^2) - FC = (0.107)^2 + (0.126)^2 + (0.076)^2 + (0.078)^2 + (0.148)^2 + (0.086)^2 + (0.130)^2 + (0.108)^2 + (0.165)^2 = 0.12427 - 0.11651 = 0.00776$$

SCTotales = 0.00776

$$SCTrat = \frac{\sum (Z_1^2 + Z_2^2 + Z_3^2 + \dots + Z_y^2)}{n} - FC = \frac{(0.309)^2 + (0.312)^2 + (0.403)^2}{3} - 0.11651 = \frac{0.11841 - 0.11651}{3} = \frac{0.00190}{3}$$

SCTrat = 0.00190

$$SC_{Error} = SCT_{Totales} - SC_{Trat} = 0.00776 - 0.00190 = 0.00586$$

$$SC_{Error} = 0.00586$$

Tabla N° 15 Resultados de Análisis de Varianza para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

	Grados de Libertad	Sumatoria de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabla al 95% de confianza
Tratamiento	2	0,00190	0,00095	0,969	5,143
Error	6	0,00586	0,00098	---	---
Total	8	---	---	---	---

Cálculos: ⁽²⁸⁾

$$\text{Grados de Libertad para el Tratamiento} = \text{Tratamientos} - 1 = 3 - 1 = 2$$

$$GL_{Trat} = 2$$

$$\text{Grados de Libertad del Total} = \text{Variables } X_y - 1 = 9 - 1 = 8$$

$$GL_{Total} = 8$$

$$\text{Grados de Libertad para el Error} = GL_{Trat} - GL_{Total} = 8 - 2 = 6$$

$$GL_{Error} = 6$$

Sumatoria de Cuadrados:

$$SC_{Trat} = 0.00190$$

$$SC_{Error} = 0.00586$$

Cuadrados Medios (CM):

$$\text{CM Cuadrados Medios del Tratamiento} = \frac{\text{SCTrat}}{\text{GLTrat}} = \frac{0.00190}{2} = 0.00095$$

$$\text{CMTrat} = 0.00095$$

$$\text{Cuadrados Medios del Error} = \frac{\text{SCEError}}{\text{GLEError}} = \frac{0.00586}{6} = 0.00098$$

$$\text{CMError} = 0.00098$$

F calculado:

$$F_{\text{calculado}} = \frac{\text{CMTrat}}{\text{CMError}} = \frac{0.00095}{0.00098} = 0.969$$

$$F_{\text{calculado}} = 0.969$$

F de tabla al 95% de confianza:

$$F_{\text{tabla al 95\%}} = 5.143$$

Criterio para F de tabla al 95% de confianza: $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabla al 95\%}}$ = No hay diferencia significativa al 95%

Ensayo 1 (Muestras forrajeras) y Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas) combinados

Tabla N° 16 Resultados de la Prueba F para el Ensayo 1 y 2 combinados

Muestra	% TC 1	% TC 2	%TC 3	Promedio	Sumatoria (Z)	FC	SCTotales	SCTrat	SCErro
AA	0,107	0,126	0,076	0,0923	0,277	0,23461	0,01377	/-0,11518/	0,12895
AV	0,078	0,148	0,086	0,1213	0,364	---	---	---	---
AZ	0,130	0,108	0,165	0,1300	0,390	---	---	---	---
AY	0,107	0,126	0,076	0,1030	0,309	---	---	---	---
AG	0,078	0,148	0,086	0,1040	0,312	---	---	---	---
AZ	0,130	0,108	0,165	0,1343	0,403	---	---	---	---
Total				Σ 2,055					

% TC 1 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 1 SCTotales = Sumatoria de Cuadrados Totales
 % TC 2 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 2 SCTrat = Sumatoria de Cuadrados del Tratamiento
 % TC 3 = Porcentaje de Taninos condensados para el tratamiento 3 SCErro = Sumatoria de Cuadrados del Error
 FC = Factor de corrección

Cálculos: ⁽²⁸⁾

$$FC = \frac{(\sum X_1 + \sum X_2 + \sum X_3 + \dots + \sum X_y)^2}{n} = \frac{(2.055)^2}{18} = 0.23461$$

FC = 0.23461

$$\begin{aligned}
 SCTotales = & \sum (X_1^2 + X_2^2 + X_3^2 + \dots + X_y^2) - FC = (0.107)^2 + (0.126)^2 + (0.076)^2 + (0.078)^2 + (0.148)^2 + (0.086)^2 + \\
 & (0.130)^2 + (0.108)^2 + (0.165)^2 + (0.107)^2 + (0.126)^2 + (0.076)^2 + \\
 & (0.078)^2 + (0.148)^2 + (0.086)^2 + (0.130)^2 + (0.108)^2 + (0.165)^2 = \\
 & 0.24838 - 0.23461 = 0.01377
 \end{aligned}$$

SCTotales = 0.01377

$$SCTrat = \frac{\sum(Z_1^2 + Z_2^2 + Z_3^2 + \dots + Z_y^2)}{n} - FC/$$

$$SCTrat = \frac{(0.277)^2 + (0.364)^2 + (0.390)^2 + (0.309)^2 + (0.312)^2 + (0.403)^2}{6} - 0.23461/ = /0.11943 - 0.23461/$$

$$= /-0.11518/$$

SCTrat = /-0.11518/

SCError = SCTotales – SCTrat = 0.01377 – (-0.11518) = 0.12895

SCError = 0.12895

Tabla N° 17 Resultados de Análisis de Varianza para el Ensayo 1 y 2 combinados

	Grados de Libertad	Sumatoria de Cuadrados	Cuadrados Medios	F calculado	F tabla al 95% de confianza
Tratamiento	5	/-0,11518/	/-0,02304/	2,143	3,106
Error	12	0,12895	0,01075	---	---
Total	17	---	---	---	---

Cálculos: ⁽²⁸⁾

Grados de Libertad para el Tratamiento = Tratamientos – 1 = 6 – 1 = 5

GLTrat = 5

Grados de Libertad del Total = Variables X_y – 1 = 18 – 1 = 17

GLTotal = 17

Grados de Libertad para el Error = GLTrat – GLTotal = 17 – 5 = 12

GLError = 12

Sumatoria de Cuadrados:

SCTrat = /-0.11518/

SCErro = 0.12895

Cuadrados Medios (CM):

CM Cuadrados Medios del Tratamiento = $\frac{\text{SCTrat}}{\text{GLTrat}} = \frac{-0.11518/}{5} = /-0.02304/$

CMTrat = /-0.02304/

Cuadrados Medios del Error = $\frac{\text{SCErro}}{\text{GLErro}} = \frac{0.12895}{12} = 0.01075$

CMErro = 0.01075

F calculado:

$F_{\text{calculado}} = \frac{\text{CMTrat}}{\text{CMErro}} = \frac{-0.02304/}{0.01075} = 2.143$

F calculado = 2.143

F de tabla al 95% de confianza:

F tabla al 95% = 3.106

Criterio para F de tabla al 95% de confianza: $F_{\text{calculado}} < F_{\text{tabla al 95\%}}$ = No hay diferencia significativa al 95%

ANEXO N° 12

**RESULTADOS DE LA CUANTIFICACION DE TANINOS
CONDENSADOS POR EL METODO DE PROANTOCIANIDINAS EN
LAS MUESTRAS DEL ENSAYO 1 (MUESTRAS FORRAJERAS),
ENSAYO 2 (RACIONES TOTALES MEZCLADAS) Y ENSAYO 3
(FUENTES DE FORRAJES)**

Tabla N° 18 Resultados de la Cuantificación de Taninos condensados para las muestras del Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Muestra	Repetición	Materia seca (%)	Absorbancia de la muestra a 550 nm	Taninos condensados (%)	Promedio Taninos condensados (%)
AA 1	1	24,780	0,032	0,101	0,102
	2		0,033	0,104	
	3		0,032	0,101	
	4		0,031	0,098	
	5		0,034	0,107	
AA 2	1	23,574	0,033	0,110	0,107
	2		0,031	0,103	
	3		0,032	0,106	
	4		0,034	0,113	
	5		0,031	0,103	
AA 3	1	25,675	0,024	0,073	0,068
	2		0,021	0,064	
	3		0,023	0,070	
	4		0,021	0,064	
	5		0,022	0,067	
				PROM	0,092
AV 1	1	17,502	0,028	0,125	0,113
	2		0,025	0,112	
	3		0,023	0,103	
	4		0,026	0,116	
	5		0,024	0,107	
AV 2	1	19,959	0,031	0,122	0,126
	2		0,033	0,129	
	3		0,034	0,133	
	4		0,032	0,125	
	5		0,031	0,122	
AV 3	1	20,433	0,032	0,123	0,125
	2		0,035	0,134	
	3		0,033	0,126	
	4		0,031	0,119	
	5		0,032	0,123	
				PROM	0,121
AR 1	1	20,632	0,042	0,159	0,159
	2		0,041	0,156	
	3		0,043	0,163	
	4		0,042	0,159	
	5		0,042	0,159	
AR 2	1	20,525	0,037	0,141	0,142
	2		0,039	0,149	
	3		0,035	0,133	
	4		0,036	0,137	
	5		0,039	0,149	

Tabla N° 18 (continuación)

AR 3	1	22,546	0,026	0,090	0,089
	2		0,027	0,094	
	3		0,026	0,090	
	4		0,024	0,083	
	5		0,025	0,087	
				PROM	0,130

Tabla N° 19 Resultados de la cuantificación de Taninos condensados para las muestras del Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Muestra	Repetición	Materia seca (%)	Absorbancia de la muestra a 550 nm	Taninos condensados (%)	Promedio Taninos condensados (%)
AY 1	1	23,356	0,031	0,104	0,107
	2		0,032	0,107	
	3		0,033	0,111	
	4		0,031	0,104	
	5		0,032	0,107	
AY 2	1	26,085	0,043	0,129	0,126
	2		0,042	0,126	
	3		0,041	0,123	
	4		0,042	0,126	
	5		0,042	0,126	
AY 3	1	22,370	0,021	0,073	0,076
	2		0,021	0,073	
	3		0,023	0,080	
	4		0,021	0,073	
	5		0,022	0,077	
				PROM	0,103
AG 1	1	23,368	0,025	0,084	0,078
	2		0,021	0,070	
	3		0,024	0,080	
	4		0,023	0,077	
	5		0,023	0,077	
AG 2	1	27,648	0,052	0,147	0,148
	2		0,053	0,150	
	3		0,051	0,144	
	4		0,053	0,150	
	5		0,052	0,147	
AG 3	1	32,784	0,037	0,088	0,086
	2		0,035	0,084	
	3		0,037	0,088	
	4		0,033	0,079	
	5		0,038	0,091	
				PROM	0,104

Tabla N° 19 (continuación)

AZ 1	1	22,228	0,039	0,137	0,130
	2		0,037	0,130	
	3		0,035	0,123	
	4		0,038	0,134	
	5		0,036	0,127	
AZ 2	1	24,282	0,035	0,113	0,108
	2		0,033	0,106	
	3		0,032	0,103	
	4		0,031	0,100	
	5		0,037	0,119	
AZ 3	1	24,751	0,051	0,161	0,165
	2		0,053	0,168	
	3		0,054	0,171	
	4		0,051	0,161	
	5		0,052	0,164	
				PROM	0,135

Tabla N° 20 Resultados de la cuantificación de Taninos condensados para las muestras del Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)

Muestra	Repetición	Materia seca (%)	Absorbancia de la muestra a 550 nm	Taninos condensados (%)
Frijol mono	1	10,423	0,045	0,338
	2		0,042	0,315
	3		0,043	0,323
	4		0,042	0,315
	5		0,044	0,330
			PROM	0,324
Sorgo	1	17,836	0,038	0,167
	2		0,037	0,162
	3		0,036	0,158
	4		0,039	0,171
	5		0,037	0,162
			PROM	0,164
Sorgo-Canavalia	1	15,382	0,051	0,259
	2		0,050	0,254
	3		0,049	0,249
	4		0,048	0,244
	5		0,052	0,265
			PROM	0,254

ANEXO N° 13
RESULTADOS DEL ANALISIS BROMATOLOGICO PROXIMAL DE
LAS MUESTRAS DEL ENSAYO 1 (MUESTRAS FORRAJERAS),
ENSAYO 2 (RACIONES TOTALES MEZCLADAS) Y ENSAYO 3
(FUENTES DE FORRAJES)

DETERMINACION DE HUMEDAD

Tabla N° 21 Resultados de la Determinación de Humedad para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Muestra	Repetición	Peso muestra húmeda (g)	Peso caja (g)	Peso caja con muestra húmeda (g)	Peso caja con muestra seca (g)	Pérdida de peso (g)	Promedio Humedad Total (%)	Promedio Humedad Parcial (%)	Humedad (%)	Materia Seca (%)
AA 1	1	5,004	37,884	42,888	42,393	0,495	9,900	65,320	75,220	24,780
	2	5,002	14,586	19,588	19,092	0,496				
	3	5,001	17,832	22,833	22,336	0,497				
	4	5,001	25,087	30,088	29,595	0,493				
	5	5,002	15,031	20,033	19,538	0,495				
AA 2	1	5,005	35,725	40,730	40,231	0,499	9,916	66,510	76,426	23,574
	2	5,001	14,505	19,506	19,011	0,495				
	3	5,001	32,634	37,635	37,138	0,497				
	4	5,003	23,156	28,159	27,663	0,496				
	5	5,001	30,543	35,544	35,051	0,493				
AA 3	1	5,003	14,511	19,514	19,019	0,495	9,915	64,410	74,325	25,675
	2	5,004	16,081	21,085	20,587	0,498				
	3	5,002	23,056	28,058	27,562	0,496				
	4	5,002	21,868	26,870	26,377	0,493				
	5	5,002	36,542	41,544	41,046	0,498				
								PROM	75,324	24,676
AV 1	1	5,005	13,906	18,911	18,428	0,483	9,668	72,830	82,498	17,502
	2	5,001	14,804	19,805	19,321	0,484				
	3	5,001	23,756	28,757	28,278	0,479				
	4	5,002	20,432	25,434	24,949	0,485				
	5	5,001	15,654	20,655	20,168	0,487				
AV 2	1	5,001	14,958	19,959	19,503	0,456	9,121	70,920	80,041	19,959
	2	5,002	16,026	21,028	20,571	0,457				
	3	5,002	21,602	26,604	26,145	0,459				
	4	5,001	26,459	31,460	31,004	0,456				
	5	5,001	18,451	23,452	22,999	0,453				

Tabla N° 21 (continuación)

AV 3	1	5.002	15,692	20,694	20,229	0,465	9,297	70,270	79,567	20,433
	2	5.002	14,964	19,966	19,498	0,468				
	3	5.001	23,445	28,446	27,979	0,467				
	4	5.001	24,565	29,566	29,105	0,461				
	5	5.001	32,677	37,678	37,214	0,464				
							PROM	80,702	19,298	
AR 1	1	5.004	14,852	19,856	19,351	0,505	10,078	69,290	79,368	20,632
	2	5.005	16,041	21,046	20,541	0,505				
	3	5.003	14,734	19,737	19,236	0,501				
	4	5.002	17,452	22,454	21,946	0,508				
	5	5.002	15,541	20,543	20,041	0,502				
AR 2	1	5.004	14,548	19,552	19,048	0,504	10,075	69,400	79,475	20,525
	2	5.004	14,235	19,239	18,734	0,505				
	3	5.003	35,874	40,877	40,375	0,502				
	4	5.001	17,652	22,653	22,151	0,502				
	5	5.001	23,457	28,458	27,951	0,507				
AR 3	1	5.002	16,870	21,872	21,369	0,503	10,044	67,410	77,454	22,546
	2	5.004	14,400	19,404	18,902	0,502				
	3	5.001	31,506	36,507	36,006	0,501				
	4	5.001	24,045	29,046	28,543	0,503				
	5	5.002	15,745	20,747	20,244	0,503				
							PROM	78,766	21,234	

Tabla N° 22 Resultados de la Determinación de Humedad para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Muestra	Repetición	Peso muestra húmeda (g)	Peso caja (g)	Peso caja con muestra húmeda (g)	Peso caja con muestra seca (g)	Pérdida de peso (g)	Promedio Humedad Total (%)	Promedio Humedad Parcial (%)	Humedad (%)	Materia Seca (%)
AY 1	1	5,001	14,496	19,497	19,098	0,399	7,994	68,650	76,644	23,356
	2	5,002	15,984	20,986	20,585	0,401				
	3	5,002	16,542	21,544	21,146	0,398				
	4	5,001	16,657	21,658	21,259	0,399				
	5	5,001	15,759	20,760	20,358	0,402				
AY 2	1	5,002	15,598	20,600	20,062	0,538	10,816	63,100	73,916	26,084
	2	5,003	14,475	19,478	18,937	0,541				
	3	5,002	16,704	21,706	21,167	0,539				
	4	5,002	13,125	18,127	17,585	0,542				
	5	5,002	16,807	21,809	21,264	0,545				
AY 3	1	5,003	16,191	21,194	20,718	0,476	9,520	68,110	77,630	22,370
	2	5,002	15,123	20,125	19,652	0,473				
	3	5,001	16,765	21,766	21,291	0,475				
	4	5,003	16,067	21,070	20,591	0,479				
	5	5,001	15,052	20,053	19,575	0,478				
								PROM	76,063	23,937
AG 1	1	5,004	15,587	20,591	20,157	0,434	8,652	67,980	76,632	23,368
	2	5,003	15,975	20,978	20,547	0,431				
	3	5,001	16,887	21,888	21,452	0,436				
	4	5,002	14,921	19,923	19,494	0,429				
	5	5,002	15,053	20,055	19,621	0,434				
AG 2	1	5,003	15,936	20,939	20,352	0,587	11,732	60,620	72,352	27,648
	2	5,003	16,568	21,571	20,984	0,587				
	3	5,001	13,045	18,046	17,461	0,585				
	4	5,001	16,576	21,577	20,991	0,586				
	5	5,001	16,243	21,244	20,655	0,589				

Tabla N° 22 (continuación)

AG 3	1	5.002	16,104	21,106	20,551	0,555	11,096	56,120	67,216	32,784
	2	5.003	16,082	21,085	20,527	0,558				
	3	5.001	17,981	22,982	22,429	0,553				
	4	5.001	16,453	21,454	20,901	0,553				
	5	5.002	14,912	19,914	19,358	0,556				
							PROM	72,067	27,933	
AZ 1	1	5.003	16,001	21,004	20,505	0,499	9,972	67,800	77,772	22,228
	2	5.001	15,897	20,898	20,399	0,499				
	3	5.002	16,024	21,026	20,525	0,501				
	4	5.003	12,788	17,791	17,289	0,502				
	5	5.002	16,872	21,874	21,381	0,493				
AZ 2	1	5.003	15,956	20,959	20,493	0,466	9,308	66,410	75,718	24,282
	2	5.003	16,073	21,076	20,613	0,463				
	3	5.002	18,034	23,036	22,571	0,465				
	4	5.001	16,901	21,902	21,433	0,469				
	5	5.001	15,756	20,757	20,292	0,465				
AZ 3	1	5.001	16,076	21,077	20,641	0,436	8,749	66,500	75,249	24,751
	2	5.004	15,065	20,069	19,634	0,435				
	3	5.001	13,703	18,704	18,263	0,441				
	4	5.001	16,098	21,099	20,661	0,438				
	5	5.001	15,054	20,055	19,617	0,438				
							PROM	76,246	23,754	

Tabla N° 23 Resultados de la Determinación de Humedad para el Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)

Muestra	Repetición	Peso muestra húmeda (g)	Peso caja (g)	Peso caja con muestra húmeda (g)	Peso caja con muestra seca (g)	Pérdida de peso (g)	Promedio Humedad Total (%)	Promedio Humedad Parcial (%)	Humedad (%)	Materia Seca (%)
Frijol mono	1	5,003	14,413	19,416	18,971	0,445	8,452	81,125	89,577	10,423
	2	5,004	16,072	21,076	20,682	0,394				
	3	5,002	15,452	20,454	20,035	0,419				
	4	5,002	23,028	28,030	27,609	0,421				
	5	5,002	15,434	20,436	20,001	0,435				
Sorgo	1	5,002	16,093	21,095	20,606	0,489	9,800	72,364	82,164	17,836
	2	5,002	14,948	19,950	19,458	0,492				
	3	5,001	15,864	20,865	20,374	0,491				
	4	5,003	16,877	21,880	21,388	0,492				
	5	5,001	12,905	17,906	17,419	0,487				
Sorgo-Canavalia	1	5,001	14,914	19,915	19,478	0,437	9,596	75,022	84,618	15,382
	2	5,004	16,010	21,014	20,493	0,521				
	3	5,001	15,402	20,403	19,924	0,479				
	4	5,002	16,774	21,776	21,294	0,482				
	5	5,002	13,875	18,877	18,396	0,481				

DETERMINACION DE PROTEINAS

Tabla N° 24 Resultados de la Determinación de Proteína Cruda para el Ensayo
1 (Muestras forrajeras)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Volumen HCl (mL)	Nitrógeno (%)	Proteína cruda (%)	Promedio Proteína cruda (%)
AA 1	1	0,1001	1,64	2,155	13,467	13,522
	2	0,1002	1,67	2,192	13,700	
	3	0,1002	1,63	2,140	13,372	
	4	0,1003	1,66	2,177	13,605	
	5	0,1001	1,64	2,155	13,467	
AA 2	1	0,1002	1,65	2,166	13,536	13,468
	2	0,1002	1,63	2,140	13,372	
	3	0,1001	1,66	2,181	13,632	
	4	0,1002	1,64	2,153	13,454	
	5	0,1004	1,63	2,135	13,345	
AA 3	1	0,1001	1,64	2,155	13,467	13,509
	2	0,1002	1,65	2,166	13,536	
	3	0,1002	1,67	2,192	13,700	
	4	0,1001	1,62	2,129	13,303	
	5	0,1002	1,65	2,166	13,536	
					PROM	13,500
AV 1	1	0,1001	1,72	2,260	14,124	14,149
	2	0,1001	1,73	2,273	14,207	
	3	0,1003	1,72	2,255	14,096	
	4	0,1002	1,74	2,284	14,274	
	5	0,1001	1,71	2,247	14,042	
AV 2	1	0,1002	1,69	2,218	13,864	14,047
	2	0,1001	1,72	2,260	14,124	
	3	0,1002	1,70	2,231	13,946	
	4	0,1002	1,71	2,245	14,028	
	5	0,1002	1,74	2,284	14,274	
AV 3	1	0,1002	1,73	2,271	14,192	14,077
	2	0,1002	1,71	2,245	14,028	
	3	0,1003	1,74	2,282	14,260	
	4	0,1001	1,69	2,220	13,878	
	5	0,1002	1,71	2,245	14,028	
					PROM	14,091
AR 1	1	0,1001	1,85	2,431	15,192	15,196
	2	0,1003	1,86	2,439	15,244	
	3	0,1001	1,82	2,391	14,946	
	4	0,1002	1,87	2,455	15,341	
	5	0,1002	1,86	2,441	15,259	
AR 2	1	0,1001	1,88	2,470	15,438	15,229
	2	0,1002	1,86	2,441	15,259	
	3	0,1002	1,84	2,415	15,095	

Tabla N° 24 (continuación)

	4	0,1001	1,87	2,457	15,356	
	5	0,1003	1,83	2,400	14,998	
AR 3	1	0,1002	1,85	2,428	15,177	15,216
	2	0,1003	1,87	2,452	15,326	
	3	0,1001	1,82	2,391	14,946	
	4	0,1001	1,86	2,444	15,274	
	5	0,1001	1,87	2,457	15,356	
					PROM	15,214
Normalidad HCl = 0,09389 N Miliequivalentes de Nitrógeno = 0,014008 meq. Factor de Conversión para Proteína = 6,25						

Tabla N° 25 Resultados de la Determinación de Proteína Cruda para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Volumen HCl (mL)	Nitrógeno (%)	Proteína cruda (%)	Promedio Proteína cruda (%)
AY 1	1	0,1003	1,87	2,452	15,326	15,248
	2	0,1002	1,85	2,428	15,177	
	3	0,1001	1,84	2,418	15,110	
	4	0,1001	1,86	2,444	15,274	
	5	0,1001	1,87	2,457	15,356	
AY 2	1	0,1001	1,84	2,418	15,110	15,202
	2	0,1001	1,86	2,444	15,274	
	3	0,1002	1,82	2,389	14,931	
	4	0,1002	1,88	2,468	15,423	
	5	0,1001	1,86	2,444	15,274	
AY 3	1	0,1001	1,86	2,444	15,274	15,229
	2	0,1002	1,89	2,481	15,505	
	3	0,1002	1,85	2,428	15,177	
	4	0,1003	1,85	2,426	15,162	
	5	0,1001	1,83	2,404	15,028	
					PROM	15,227
AG 1	1	0,1002	1,86	2,441	15,259	15,232
	2	0,1003	1,85	2,426	15,162	
	3	0,1001	1,89	2,483	15,520	
	4	0,1001	1,83	2,404	15,028	
	5	0,1001	1,85	2,431	15,192	
AG 2	1	0,1003	1,84	2,413	15,080	15,216
	2	0,1001	1,83	2,404	15,028	
	3	0,1001	1,87	2,457	15,356	
	4	0,1002	1,88	2,468	15,423	
	5	0,1001	1,85	2,431	15,192	
AG 3	1	0,1002	1,86	2,441	15,259	15,163
	2	0,1001	1,84	2,418	15,110	
	3	0,1003	1,88	2,465	15,408	

Tabla N° 25 (continuación)

	4	0,1002	1,82	2,389	14,931	
	5	0,1001	1,84	2,418	15,110	
					PROM	15,204
AZ 1	1	0,1002	1,85	2,428	15,177	15,216
	2	0,1001	1,83	2,404	15,028	
	3	0,1001	1,88	2,470	15,438	
	4	0,1003	1,84	2,413	15,080	
	5	0,1001	1,87	2,457	15,356	
AZ 2	1	0,1002	1,86	2,441	15,259	15,229
	2	0,1002	1,85	2,428	15,177	
	3	0,1001	1,89	2,483	15,520	
	4	0,1003	1,83	2,400	14,998	
	5	0,1001	1,85	2,431	15,192	
AZ 3	1	0,1002	1,87	2,455	15,341	15,193
	2	0,1002	1,82	2,389	14,931	
	3	0,1001	1,89	2,483	15,520	
	4	0,1003	1,84	2,413	15,080	
	5	0,1002	1,84	2,415	15,095	
					PROM	15,213
Normalidad HCl = 0,09389 N Miliequivalentes de Nitrógeno = 0,014008 meq. Factor de Conversión para Proteína = 6,25						

Tabla N° 26 Resultados de la Determinación de Proteína Cruda para el Ensayo 3 (Fuentes de Forrajes)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Volumen HCl (mL)	Nitrógeno (%)	Proteína cruda (%)	Promedio Proteína cruda (%)
Frijol mono	1	0,1002	2,10	2,756	17,228	17,218
	2	0,1001	2,00	2,628	16,424	
	3	0,1001	2,30	3,022	18,887	
	4	0,1003	2,10	2,754	17,211	
	5	0,1001	1,99	2,615	16,342	
Sorgo	1	0,1002	1,01	1,326	8,286	8,366
	2	0,1003	1,03	1,351	8,441	
	3	0,1003	1,02	1,338	8,359	
	4	0,1001	1,01	1,327	8,294	
	5	0,1002	1,03	1,352	8,450	
Sorgo-Canavalia	1	0,1001	2,50	3,285	20,530	20,513
	2	0,1001	2,30	3,022	18,887	
	3	0,1002	2,70	3,544	22,150	
	4	0,1001	2,60	3,416	21,351	
	5	0,1004	2,40	3,144	19,650	
Normalidad HCl = 0,09389 N Miliequivalentes de Nitrógeno = 0,014008 meq. Factor de Conversión para Proteína = 6,25						

DETERMINACION DE EXTRACTO ETEREO

Tabla N° 27 Resultados de la Determinación de Extracto Etéreo para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso balón vacío (g)	Peso balón con Extracto Etéreo (g)	Peso Extracto Etéreo (g)	Extracto Etéreo (%)	Prom Extracto Etéreo (%)
AA 1	1	1,002	107,641	107,672	0,031	3,094	3,275
	2	1,001	132,394	132,429	0,035	3,497	
	3	1,002	149,296	149,329	0,033	3,293	
	4	1,002	100,545	100,576	0,031	3,094	
	5	1,001	142,354	142,388	0,034	3,397	
AA 2	1	1,003	114,868	114,897	0,029	2,891	3,014
	2	1,003	108,421	108,452	0,031	3,091	
	3	1,001	167,056	167,088	0,032	3,197	
	4	1,001	175,981	176,009	0,028	2,797	
	5	1,002	139,083	139,114	0,031	3,094	
AA 3	1	1,002	163,019	163,053	0,034	3,393	3,293
	2	1,003	117,249	117,281	0,032	3,190	
	3	1,001	145,047	145,079	0,032	3,197	
	4	1,002	178,453	178,486	0,033	3,293	
	5	1,002	156,798	156,832	0,034	3,393	
						PROM	3,194
AV 1	1	1,003	160,989	161,035	0,046	4,586	4,533
	2	1,001	109,351	109,397	0,046	4,595	
	3	1,002	142,345	142,389	0,044	4,391	
	4	1,001	105,877	105,922	0,045	4,496	
	5	1,001	108,681	108,727	0,046	4,595	
AV 2	1	1,001	89,467	89,508	0,041	4,096	4,115
	2	1,001	125,125	125,167	0,042	4,196	
	3	1,002	151,466	151,507	0,041	4,092	
	4	1,001	124,358	124,401	0,043	4,296	
	5	1,001	120,487	120,526	0,039	3,896	

Tabla N° 27 (continuación)

AV 3	1	1,003	159,712	159,741	0,029	2,891	3,014
	2	1,001	132,931	132,962	0,031	3,097	
	3	1,002	145,762	145,795	0,033	3,293	
	4	1,002	106,754	106,781	0,027	2,695	
	5	1,002	149,021	149,052	0,031	3,094	
						PROM	3,887
AR 1	1	1,004	111,411	111,438	0,027	2,689	2,814
	2	1,002	159,102	159,131	0,029	2,894	
	3	1,001	138,333	138,364	0,031	3,097	
	4	1,002	156,941	156,969	0,028	2,794	
	5	1,002	179,062	179,088	0,026	2,595	
AR 2	1	1,002	101,754	101,789	0,035	3,493	3,395
	2	1,002	103,831	103,864	0,033	3,293	
	3	1,001	126,121	126,157	0,036	3,596	
	4	1,001	129,845	129,876	0,031	3,097	
	5	1,002	154,087	154,122	0,035	3,493	
AR 3	1	1,003	163,321	163,352	0,031	3,091	3,032
	2	1,004	158,344	158,373	0,029	2,888	
	3	1,003	165,841	165,869	0,028	2,792	
	4	1,002	143,263	143,294	0,031	3,094	
	5	1,002	153,455	153,488	0,033	3,293	
						PROM	3,080

Tabla N° 28 Resultados de la Determinación de Extracto Etéreo para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso balón vacío (g)	Peso balón con Extracto Etéreo (g)	Peso Extracto Etéreo (g)	Extracto Etéreo (%)	Prom Extracto Etéreo (%)
AY 1	1	1,003	112,625	112,652	0,027	2,692	2,694
	2	1,003	87,427	87,458	0,031	3,091	
	3	1,002	132,845	132,869	0,024	2,395	
	4	1,001	124,963	124,989	0,026	2,597	
	5	1,002	120,348	120,375	0,027	2,695	

Tabla N° 28 (continuación)

AY 2	1	1,001	159,435	159,472	0,037	3,696	3,696
	2	1,002	163,473	163,512	0,039	3,892	
	3	1,001	165,875	165,913	0,038	3,796	
	4	1,001	154,404	154,439	0,035	3,497	
	5	1,001	146,088	146,124	0,036	3,596	
AY 3	1	1,003	132,759	132,794	0,035	3,490	3,493
	2	1,002	114,682	114,715	0,033	3,293	
	3	1,002	107,641	107,678	0,037	3,693	
	4	1,001	165,872	165,906	0,034	3,397	
	5	1,002	106,461	106,497	0,036	3,593	
						PROM	3,294
AG 1	1	1,003	110,353	110,381	0,028	2,792	2,675
	2	1,002	161,215	161,241	0,026	2,595	
	3	1,002	153,059	153,086	0,027	2,695	
	4	1,002	103,745	103,769	0,024	2,395	
	5	1,001	108,059	108,088	0,029	2,897	
AG 2	1	1,001	103,415	103,442	0,027	2,697	2,736
	2	1,003	159,816	159,845	0,029	2,891	
	3	1,002	147,508	147,534	0,026	2,595	
	4	1,001	161,642	161,669	0,027	2,697	
	5	1,001	150,856	150,884	0,028	2,797	
AG 3	1	1,003	110,368	110,404	0,036	3,589	3,911
	2	1,003	161,975	162,017	0,042	4,187	
	3	1,002	155,342	155,381	0,039	3,892	
	4	1,001	163,809	163,847	0,038	3,796	
	5	1,002	156,045	156,086	0,041	4,092	
						PROM	3,107
AZ 1	1	1,002	109,078	109,104	0,026	2,595	2,456
	2	1,002	111,601	111,623	0,022	2,196	
	3	1,001	153,086	153,109	0,023	2,298	
	4	1,003	151,706	151,733	0,027	2,692	
	5	1,001	129,354	129,379	0,025	2,498	

Tabla N° 28 (continuación)

AZ 2	1	1,003	107,357	107,395	0,038	3,789	3,752
	2	1,003	131,719	131,755	0,036	3,589	
	3	1,001	123,939	123,978	0,039	3,896	
	4	1,002	134,652	134,689	0,037	3,693	
	5	1,002	108,309	108,347	0,038	3,792	
AZ 3	1	1,002	109,014	109,053	0,039	3,892	3,873
	2	1,001	160,276	160,315	0,039	3,896	
	3	1,002	147,546	147,583	0,037	3,693	
	4	1,001	133,455	133,496	0,041	4,096	
	5	1,003	112,703	112,741	0,038	3,789	
					PROM	3,360	

Tabla N° 29 Resultados de la Determinación de Extracto Etéreo para el Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso balón vacío (g)	Peso balón con Extracto Etéreo (g)	Peso Extracto Etéreo (g)	Extracto Etéreo (%)	Promedio Extracto Etéreo (%)
Frijol mono	1	1,002	112,864	112,885	0,021	2,096	2,177
	2	1,001	108,916	108,939	0,023	2,298	
	3	1,002	142,461	142,482	0,021	2,096	
	4	1,001	120,564	120,586	0,022	2,198	
	5	1,001	138,643	138,665	0,022	2,198	
Sorgo	1	1,003	106,025	106,049	0,024	2,393	2,394
	2	1,004	101,761	101,787	0,026	2,590	
	3	1,001	167,456	167,481	0,025	2,498	
	4	1,002	126,305	126,326	0,021	2,096	
	5	1,002	118,057	118,081	0,024	2,395	
Sorgo-Canavalia	1	1,002	112,651	112,677	0,026	2,595	2,516
	2	1,003	132,307	132,333	0,026	2,592	
	3	1,001	115,532	115,555	0,023	2,298	
	4	1,001	167,061	167,086	0,025	2,498	
	5	1,001	143,839	143,865	0,026	2,597	

DETERMINACION DE FIBRA CRUDA

Tabla N° 30 Resultados de la Determinación de Fibra Cruda para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso crisol con muestra (g)	Peso crisol con Cenizas (g)	Pérdida de Peso (g)	Fibra Cruda (%)	Promedio Fibra Cruda (%)
AA 1	1	1,002	31,472	31,641	0,169	16,866	16,989
	2	1,002	67,428	67,599	0,171	17,066	
	3	1,003	65,452	65,623	0,171	17,049	
	4	1,001	63,879	64,047	0,168	16,783	
	5	1,001	48,051	48,223	0,172	17,183	
AA 2	1	1,003	68,702	68,891	0,189	18,843	18,842
	2	1,002	68,502	68,689	0,187	18,663	
	3	1,001	67,073	67,261	0,188	18,781	
	4	1,002	64,219	64,408	0,189	18,862	
	5	1,002	67,846	68,037	0,191	19,062	
AA 3	1	1,002	68,706	68,867	0,161	16,068	16,171
	2	1,003	68,492	68,655	0,163	16,251	
	3	1,001	67,054	67,217	0,163	16,284	
	4	1,001	51,635	51,797	0,162	16,184	
	5	1,002	67,482	67,643	0,161	16,068	
						PROM	17,334
AV 1	1	1,004	69,564	69,791	0,227	22,610	22,577
	2	1,004	69,364	69,589	0,225	22,410	
	3	1,002	68,258	68,485	0,227	22,655	
	4	1,001	67,741	67,968	0,227	22,677	
	5	1,003	68,396	68,622	0,226	22,532	
AV 2	1	1,001	67,974	68,206	0,232	23,177	23,143
	2	1,002	67,403	67,634	0,231	23,054	
	3	1,001	59,543	59,774	0,231	23,077	
	4	1,002	57,681	57,914	0,233	23,253	
	5	1,002	69,134	69,366	0,232	23,154	

Tabla N° 30 (continuación)

AV 3	1	1,003	68,632	68,837	0,205	20,439	20,523
	2	1,003	69,642	69,851	0,209	20,837	
	3	1,001	61,349	61,555	0,206	20,579	
	4	1,001	68,428	68,633	0,205	20,480	
	5	1,001	68,121	68,324	0,203	20,280	
					PROM	22,081	
AR 1	1	1,004	68,987	69,194	0,207	20,618	20,67
	2	1,003	68,646	68,857	0,211	21,037	
	3	1,001	67,029	67,237	0,208	20,779	
	4	1,002	68,256	68,459	0,203	20,259	
	5	1,002	59,067	59,274	0,207	20,659	
AR 2	1	1,003	68,108	68,299	0,191	19,043	18,962
	2	1,003	68,883	69,075	0,192	19,143	
	3	1,002	67,001	67,188	0,187	18,663	
	4	1,001	60,975	61,164	0,189	18,881	
	5	1,001	67,154	67,345	0,191	19,081	
AR 3	1	1,003	68,911	69,102	0,191	19,043	19,038
	2	1,001	67,661	67,854	0,193	19,281	
	3	1,002	73,542	73,733	0,191	19,062	
	4	1,002	67,874	68,061	0,187	18,663	
	5	1,003	64,077	64,269	0,192	19,143	
					PROM	19,557	

Tabla N° 31 Resultados de la Determinación de Fibra cruda para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso crisol con muestra (g)	Peso crisol con Cenizas (g)	Pérdida de Peso (g)	Fibra Cruda (%)	Promedio Fibra Cruda (%)
AY 1	1	1,003	69,364	69,576	0,212	21,137	21,082
	2	1,003	69,128	69,339	0,211	21,037	
	3	1,001	68,452	68,664	0,212	21,179	
	4	1,001	68,024	68,236	0,212	21,179	
	5	1,001	67,951	68,160	0,209	20,879	

Tabla N° 31 (continuación)

AY 2	1	1,001	68,705	68,866	0,161	16,084	16,094
	2	1,002	68,633	68,796	0,163	16,267	
	3	1,001	67,156	67,315	0,159	15,884	
	4	1,002	68,328	68,489	0,161	16,068	
	5	1,002	68,129	68,291	0,162	16,168	
AY 3	1	1,003	68,718	68,910	0,192	19,143	19,062
	2	1,003	69,395	69,587	0,192	19,143	
	3	1,002	68,245	68,436	0,191	19,062	
	4	1,001	69,864	70,053	0,189	18,881	
	5	1,001	69,028	69,219	0,191	19,081	
						PROM	18,746
AG 1	1	1,003	69,102	69,287	0,185	18,445	18,503
	2	1,002	68,362	68,548	0,186	18,563	
	3	1,002	62,087	62,274	0,187	18,663	
	4	1,002	67,431	67,615	0,184	18,363	
	5	1,001	68,823	69,008	0,185	18,482	
AG 2	1	1,002	68,531	68,687	0,156	15,569	15,572
	2	1,002	67,992	68,148	0,156	15,569	
	3	1,001	67,219	67,373	0,154	15,385	
	4	1,002	68,221	68,378	0,157	15,669	
	5	1,002	63,604	63,761	0,157	15,669	
AG 3	1	1,003	69,028	69,174	0,146	14,556	14,528
	2	1,001	69,133	69,277	0,144	14,386	
	3	1,003	68,429	68,576	0,147	14,656	
	4	1,002	65,238	65,384	0,146	14,571	
	5	1,002	69,011	69,156	0,145	14,471	
						PROM	16,201
AZ 1	1	1,002	68,209	68,489	0,280	27,944	27,930
	2	1,001	68,606	68,887	0,281	28,072	
	3	1,002	67,044	67,322	0,278	27,745	
	4	1,002	68,215	68,496	0,281	28,044	
	5	1,002	67,345	67,624	0,279	27,844	

Tabla N° 31 (continuación)

AZ 2	1	1,003	67,994	68,167	0,173	17,248	17,289
	2	1,002	68,557	68,732	0,175	17,465	
	3	1,002	68,043	68,216	0,173	17,265	
	4	1,001	68,287	68,458	0,171	17,083	
	5	1,001	65,351	65,525	0,174	17,383	
AZ 3	1	1,003	68,955	69,148	0,193	19,242	19,165
	2	1,002	68,511	68,702	0,191	19,062	
	3	1,001	67,043	67,234	0,191	19,081	
	4	1,001	65,798	65,990	0,192	19,181	
	5	1,002	68,088	68,281	0,193	19,261	
						PROM	21,461

Tabla N° 32 Resultados de la Determinación de Fibra cruda para el Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso crisol con muestra (g)	Peso crisol con Cenizas (g)	Pérdida de Peso (g)	Fibra Cruda (%)	Promedio Fibra Cruda (%)
Frijol mono	1	1,003	69,447	69,690	0,243	24,227	24,232
	2	1,003	67,788	68,029	0,241	24,028	
	3	1,001	68,452	68,694	0,242	24,176	
	4	1,002	67,054	67,297	0,243	24,251	
	5	1,001	67,781	68,026	0,245	24,476	
Sorgo	1	1,004	69,161	69,480	0,319	31,773	31,856
	2	1,002	68,538	68,858	0,320	31,936	
	3	1,002	62,267	62,586	0,319	31,836	
	4	1,001	67,789	68,106	0,317	31,668	
	5	1,001	67,195	67,516	0,321	32,068	
Sorgo-Canavalia	1	1,003	69,655	69,927	0,272	27,119	27,186
	2	1,002	69,013	69,287	0,274	27,345	
	3	1,002	67,298	67,569	0,271	27,046	
	4	1,001	69,376	69,649	0,273	27,273	
	5	1,002	68,541	68,813	0,272	27,146	

DETERMINACION DE CENIZAS

Tabla N° 33 Resultados de la Determinación de Cenizas para el Ensayo 1 (Muestras forrajeras)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso crisol vacío (g)	Peso crisol con muestra (g)	Peso crisol con cenizas (g)	Peso cenizas (g)	Cenizas (%)	Promedio Cenizas (%)
AA 1	1	1,003	19,680	20,683	19,751	0,071	7,079	7,007
	2	1,002	18,881	19,883	18,952	0,071	7,086	
	3	1,002	21,874	22,876	21,941	0,067	6,687	
	4	1,001	34,548	35,549	34,621	0,073	7,293	
	5	1,001	15,077	16,078	15,146	0,069	6,893	
AA 2	1	1,004	27,971	28,975	28,045	0,074	7,371	7,243
	2	1,001	36,821	37,822	36,894	0,073	7,293	
	3	1,003	23,765	24,768	23,837	0,072	7,178	
	4	1,002	18,673	19,675	18,744	0,071	7,086	
	5	1,002	26,975	27,977	27,048	0,073	7,285	
AA 3	1	1,002	30,314	31,316	30,386	0,072	7,186	7,104
	2	1,003	18,767	19,770	18,835	0,068	6,780	
	3	1,002	12,435	13,437	12,508	0,073	7,285	
	4	1,002	16,879	17,881	16,951	0,072	7,186	
	5	1,002	24,324	25,326	24,395	0,071	7,086	
							PROM	7,118
AV 1	1	1,006	27,869	28,875	27,948	0,079	7,853	7,597
	2	1,003	20,298	21,301	20,373	0,075	7,478	
	3	1,002	26,875	27,877	26,949	0,074	7,385	
	4	1,002	15,462	16,464	15,538	0,076	7,585	
	5	1,002	19,054	20,056	19,131	0,077	7,685	
AV 2	1	1,002	29,950	30,952	30,025	0,075	7,485	7,344
	2	1,004	15,452	16,456	15,525	0,073	7,271	
	3	1,001	16,704	17,705	16,775	0,071	7,093	
	4	1,002	34,872	35,874	34,948	0,076	7,585	
	5	1,002	18,064	19,066	18,137	0,073	7,285	

Tabla N° 33 (continuación)

AV 3	1	1,002	38,794	39,796	38,871	0,077	7,685	7,649
	2	1,001	29,498	30,499	29,572	0,074	7,393	
	3	1,001	17,432	18,433	17,509	0,077	7,692	
	4	1,002	32,804	33,806	32,883	0,079	7,884	
	5	1,001	16,576	17,577	16,652	0,076	7,592	
							PROM	7,530
AR 1	1	1,003	28,936	29,939	29,009	0,073	7,278	7,147
	2	1,003	26,850	27,853	26,923	0,073	7,278	
	3	1,001	19,875	20,876	19,946	0,071	7,093	
	4	1,001	34,003	35,004	34,072	0,069	6,893	
	5	1,001	19,451	20,452	19,523	0,072	7,193	
AR 2	1	1,005	25,501	26,506	25,574	0,073	7,264	7,174
	2	1,006	16,744	17,750	16,813	0,069	6,859	
	3	1,003	21,465	22,468	21,536	0,071	7,079	
	4	1,001	22,607	23,608	22,680	0,073	7,293	
	5	1,003	34,857	35,860	34,931	0,074	7,378	
AR 3	1	1,005	21,070	22,075	21,141	0,071	7,065	7,180
	2	1,004	16,097	17,101	16,171	0,074	7,371	
	3	1,002	14,004	15,006	14,075	0,071	7,086	
	4	1,002	19,458	20,460	19,533	0,075	7,485	
	5	1,001	16,706	17,707	16,775	0,069	6,893	
							PROM	7,167

Tabla N° 34 Resultados de la Determinación de Cenizas para el Ensayo 2 (Raciones Totales Mezcladas)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso crisol vacío (g)	Peso crisol muestra (g)	Peso crisol con cenizas (g)	Peso cenizas (g)	Cenizas (%)	Promedio Cenizas (%)
AY 1	1	1,004	22,301	23,305	22,369	0,068	6,773	6,544
	2	1,004	22,833	23,837	22,897	0,064	6,375	
	3	1,002	31,481	32,483	31,547	0,066	6,587	
	4	1,001	18,007	19,008	18,070	0,063	6,294	
	5	1,001	15,409	16,410	15,476	0,067	6,693	

Tabla N° 34 (continuación)

AY 2	1	1,004	18,512	19,516	18,578	0,066	6,574	6,868
	2	1,002	17,609	18,611	17,680	0,071	7,086	
	3	1,001	30,152	31,153	30,221	0,069	6,893	
	4	1,001	34,458	35,459	34,529	0,071	7,093	
	5	1,001	31,029	32,030	31,096	0,067	6,693	
AY 3	1	1,003	19,251	20,254	19,316	0,065	6,481	6,608
	2	1,002	28,433	29,435	28,501	0,068	6,786	
	3	1,002	26,745	27,747	26,814	0,069	6,886	
	4	1,001	24,546	25,547	24,612	0,066	6,593	
	5	1,001	19,768	20,769	19,831	0,063	6,294	
							PROM	6,673
AG 1	1	1,002	19,986	20,988	20,070	0,084	8,383	8,302
	2	1,003	18,270	19,273	18,353	0,083	8,275	
	3	1,002	34,541	35,543	34,627	0,086	8,583	
	4	1,002	31,012	32,014	31,093	0,081	8,084	
	5	1,002	17,714	18,716	17,796	0,082	8,184	
AG 2	1	1,002	35,046	36,048	35,127	0,081	8,084	8,265
	2	1,003	18,752	19,755	18,837	0,085	8,475	
	3	1,001	34,054	35,055	34,137	0,083	8,292	
	4	1,001	22,342	23,343	22,423	0,081	8,092	
	5	1,002	28,541	29,543	28,625	0,084	8,383	
AG 3	1	1,006	29,694	30,700	29,775	0,081	8,052	8,191
	2	1,005	20,183	21,188	20,263	0,080	7,960	
	3	1,002	21,509	22,511	21,591	0,082	8,184	
	4	1,003	18,064	19,067	18,147	0,083	8,275	
	5	1,002	17,752	18,754	17,837	0,085	8,483	
							PROM	8,253
AZ 1	1	1,003	21,327	22,330	21,396	0,069	6,879	6,647
	2	1,002	21,079	22,081	21,147	0,068	6,786	
	3	1,002	23,781	24,783	23,846	0,065	6,487	
	4	1,001	17,867	18,868	17,929	0,062	6,194	
	5	1,002	31,048	32,050	31,117	0,069	6,886	

Tabla N° 34 (continuación)

AZ 2	1	1,004	15,838	16,842	15,905	0,067	6,673	6,744
	2	1,004	36,243	37,247	36,309	0,066	6,574	
	3	1,001	33,047	34,048	33,118	0,071	7,093	
	4	1,001	25,878	26,879	25,946	0,068	6,793	
	5	1,002	27,059	28,061	27,125	0,066	6,587	
AZ 3	1	1,005	16,834	17,839	16,903	0,069	6,866	6,681
	2	1,003	19,974	20,977	20,040	0,066	6,580	
	3	1,002	24,227	25,229	24,292	0,065	6,487	
	4	1,002	31,246	32,248	31,314	0,068	6,786	
	5	1,002	35,804	36,806	35,871	0,067	6,687	
							PROM	6,691

Tabla N° 35 Resultados de la Determinación de Cenizas para el Ensayo 3 (Fuentes de forrajes)

Muestra	Repetición	Peso muestra (g)	Peso crisol vacío (g)	Peso crisol con muestra (g)	Peso crisol con cenizas (g)	Peso cenizas (g)	Cenizas (%)	Promedio Cenizas (%)
Frijol mono	1	1,003	21,620	22,623	21,802	0,182	18,146	18,196
	2	1,003	18,793	19,796	18,976	0,183	18,245	
	3	1,002	23,402	24,404	23,583	0,181	18,064	
	4	1,003	28,087	29,090	28,271	0,184	18,345	
	5	1,001	24,654	25,655	24,836	0,182	18,182	
Sorgo	1	1,001	25,212	26,213	25,271	0,059	5,894	5,788
	2	1,003	27,239	28,242	27,299	0,060	5,982	
	3	1,003	21,487	22,490	21,543	0,056	5,583	
	4	1,002	32,445	33,447	32,506	0,061	6,088	
	5	1,001	18,089	19,090	18,143	0,054	5,395	
Sorgo-Canavalia	1	1,002	20,147	21,149	20,215	0,068	6,786	6,790
	2	1,001	18,899	19,900	18,965	0,066	6,593	
	3	1,001	33,751	34,752	33,816	0,065	6,494	
	4	1,001	26,807	27,808	26,877	0,070	6,993	
	5	1,002	24,058	25,060	24,129	0,071	7,086	

DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS

Tabla N° 36 Resultados de la Determinación de Carbohidratos para los tres Ensayos en estudio

Muestra	Proteína Cruda (%)	Extracto Etéreo (%)	Fibra cruda (%)	Cenizas (%)	Carbohidratos (%)
ENSAYO 1					
AA	13,500	3,194	17,334	7,118	58,854
AV	14,091	3,887	22,081	7,530	52,411
AR	15,214	3,080	19,557	7,167	54,982
ENSAYO 2					
AY	15,227	3,294	18,746	6,673	56,060
AG	15,204	3,107	16,201	8,253	57,235
AZ	15,213	3,360	21,461	6,691	53,275
ENSAYO 3					
Frijol mono	17,218	2,177	24,232	18,200	38,173
Sorgo	8,366	2,394	31,856	5,788	51,596
Sorgo-Canavalia	20,513	2,516	27,186	6,790	42,995