



**FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS  
ESCUELA PROFESIONAL DE MEDICINA VETERINARIA**

**TESIS**

**“DETERMINACIÓN DE LA COMPOSICIÓN QUÍMICA Y LA  
CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO TÁNICO DEL TRÉBOL ROJO (*Trifolium  
pratense*) EN DIFERENTES EDADES DE CORTE EN LA REGIÓN JUNÍN”**

**PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE MÉDICO VETERINARIO**

**VERÓNICA RAQUEL PANTOJA BERROCAL**

**BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA**

**LIMA – PERÚ**

**2018**

## DEDICATORIA

A Dios por permitirme haber elegido la carrera de Medicina Veterinaria.

A mis padres, abuela, tíos y hermano por creer en mí, darme la oportunidad y apoyo incondicional para iniciar y culminar mi etapa universitaria.

A dos personas en especial las cuales no están presente físicamente, pero sé que siempre me acompañarán desde donde estén, agradecerles por creer en mí, su motivación y mucho cariño.

A mis profesores por la enseñanza, exigencia y mucha paciencia.

A aquellos amigos que conocí los cuales estuvieron brindándome su motivación, apoyo y afecto durante todo este tiempo.

## AGRADECIMIENTO

A Dios por brindarme salud para poder cumplir mis metas.

A mi familia por su confianza y darme la oportunidad de alcanzar mis objetivos propuestos.

A mi padre José Félix Pantoja Pérez y tío Oscar Berrocal Cueva, los cuales me brindaron la oportunidad de estudiar esta carrera, agradecerles de corazón por la confianza y paciencia.

A mi amiga Rossana Vargas Vargas, la cual me dio apoyo moral e incondicional para realizar esta investigación.

A mi director el M.V. Carlos A. Estupiñán Morales quien fue mi guía para realizar esta investigación.

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo determinar la composición química y la concentración de ácido tánico del trébol rojo (*Trifolium pratense*) en diversas edades de corte en la región Junín. Se recolectaron 25 muestras de trébol rojo (TR) variedad Quiñequeli y Kendland de 3, 6, 9, 12 y 15 semanas de edad provenientes de los campos experimentales del Centro de Investigación IVITA (Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura) - El Mantaro, ubicado en el valle del mismo nombre, en el departamento de Junín. Se realizó el análisis químico para los componentes proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas totales (CZ), fibra cruda (FC), extracto libre de nitrógeno (ELN) y fibra detergente neutro (FDN). Además, se determinó la concentración de ácido tánico presente en cada muestra. Posteriormente, los resultados obtenidos se analizaron estadísticamente mediante promedio, desviación estándar, varianza, coeficiente de variación, coeficiente de correlación (R), coeficiente de determinación ( $R^2$ ) y gráficas de dispersión. Se logró determinar la composición química y la concentración de ácido tánico del TR en diferentes edades de corte en la Región Junín. Se obtuvieron elevados coeficientes de determinación para los componentes PC, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico siendo los más elevados para la variedad Quiñequeli PC = 93,05% y ELN=94,21%, mientras que el menor valor de  $R^2$  fue para EE=74,55%. Por otro lado, para la variedad Kendland los  $R^2$  de mayor valor fueron PC=94,14% y ELN=94,21%, por el contrario el menor valor fue para EE=75,53%.

**Palabras clave:** Análisis proximal, ácido tánico, leguminosas, Quiñequeli, Kendland.

## ABSTRACT

The aim of the investigation was to determine the chemical composition and concentration of tannic acid of red clover (*Trifolium pratense*) at different cutting ages in the Junín Region. The 25 samples were collected of red clover (TR) variety Quiñequeli and Kendland of 3, 6, 9, 12 and 15 weeks of age from the experimental fields of the IVITA (Veterinary Institute of Tropical and High-altitude Research) Research Center - El Mantaro, located in the valley of the same name, in the department of Junín. The chemical analysis was performed for the components of crude protein (CP), extract ethereal (EE), total ash (CZ), crude fiber (CF), nitrogen-free extract (ELN) and neutral detergent fiber (NDF), in addition, the concentration of tannic acid present in each sample was determined. Subsequently, the results obtained will be statistically delayed through (the average, standard deviation, variance, coefficient of variation, correlation coefficient (R), coefficient of determination ( $R^2$ ) and graphical dispersion. It was possible to determine the chemical composition and the concentration of tannic acid of the TR in different cutting ages in the Junín Region. High coefficients of determination were obtained for the components PC, CZ, FC, ELN, NDF and tannic acid, the largest for the variety Quiñequeli were PC=93,05% and ELN=94,21%, while the lowest  $R^2$  was for EE=74,55%. For the Kendland variety the largest coefficients of determination were PC=94,14% and ELN=94,21%, on the contrary the lowest value was for EE =75,53%.

**Key words:** proximal analysis, tannic acid, legumes, Quiñequeli, Kendland.

## ÍNDICE

<b>Contenido</b>	<b>Página</b>
Dedicatoria.....	i
Agradecimiento.....	ii
Resumen.....	iii
Abstract.....	iv
I. Introducción.....	1
II. Marco teórico.....	3
III. Materiales y métodos.....	17
IV. Resultados .....	23
V. Discusión.....	31
VI. Conclusiones.....	36
VII. Recomendaciones.....	37
VIII. Referencias bibliográficas.....	38
Anexos.....	43

## I. INTRODUCCIÓN

Los forrajes son una de las fuentes de alimentación más importantes de los rumiantes. El manejo adecuado de la alimentación del ganado requiere el entendimiento de factores que afectan a la calidad del forraje; esto debido a que los mamíferos herbívoros se ven obligados a superar diversos retos en la utilización de las plantas forrajeras en su dieta diaria. Estos desafíos incluyen la variabilidad en el valor nutritivo entre diferentes especies de plantas forrajeras, estados de desarrollo tales como edad y porción de la planta consumible, así como las defensas mecánicas y químicas que presenta este material vegetal las cuales son importantes en algunos forrajes ya que producen una gran variedad de metabolitos secundarios que actúan como defensas químicas propias de las mismas (1).

Las especies leguminosas, en gran número, constituyen un recurso alimentario importante para los rumiantes, por su alto contenido de proteína cruda y minerales. Sin embargo, muchas especies vegetales presentan metabolitos secundarios, como taninos, saponinas, compuestos fenólicos y alcaloides, que pueden tener efecto negativo en el valor nutritivo de estos forrajes (2). El Trébol rojo (*Trifolium pratense*) es una leguminosa de gran importancia para la producción ganadera en el Perú y el mundo debido a su gran contenido nutricional, siendo un eficiente recurso forrajero con un elevado potencial para la formulación de raciones.

Los taninos son compuestos polifenólicos que se encuentran en muchas plantas, especialmente en leguminosas forrajeras los cuales pueden tener efectos antinutricionales o benéficos en animales, dependiendo de su concentración en las plantas. Los taninos en altas concentraciones reducen la ingesta

voluntaria, la digestibilidad de las proteínas y de los carbohidratos y el rendimiento de la producción animal, pero en concentraciones bajas o moderadas previene el meteorismo, protegen contra el parasitismo intestinal e incrementan el flujo de nitrógeno amoniacal y de aminoácidos esenciales desde el rumen al intestino (3).

Por lo tanto, el objetivo del presente estudio fue determinar la composición química y la concentración de ácido tánico del Trébol rojo (*Trifolium pratense*) en diferentes edades de corte en la Región Junín, para lo cual se recolectó hojas de este forraje que fueron procesadas para su predicción. Con esto se busca obtener información actualizada e inédita con la consecuente mejora de explotaciones del sector agropecuario contribuyendo así al desarrollo de una ganadería sostenible.



## II. MARCO TEÓRICO

### 2.1. Trébol rojo (*Trifolium pratense*)

#### 2.1.1. Generalidades

El trébol rojo (*Trifolium pratense*), tiene como centros de origen Asia Menor y el sureste de Europa. Probablemente, fue cultivado en Europa desde hace tres o cuatro siglos atrás; se conoció en España alrededor del año 1500, en Holanda 1550 y llegó a Alemania un poco después. Su semilla fue introducida a Inglaterra desde Alemania en el año 1650 y probablemente fue traída a América por los colonos ingleses. Se introdujo en Rusia Europea en el siglo XVIII y fue cultivado en el área de Moscú en 1790 (4).

El trébol rojo (*Trifolium pratense*) es una leguminosa herbácea de polinización cruzada, ampliamente distribuida en el mundo. Está presente en el Norte de África, Europa, Asia y América según lo documentado por Hopkins (1914), McGregor (1976), Brown y Scott (1992) y Correa (2006). Esta planta es reconocida por su rápido crecimiento y capacidad para fijar nitrógeno atmosférico, debido a bacterias nitrificantes del género *Rhizobium*, *Agrobacterium*, *Bacillus* y *Curtubactrium*, que realizan asociaciones, en nódulos ubicados en sus raíces según lo reporta Shuel (1951) y Sturz y col. (1997) (5).

#### 2.1.2. Descripción

El trébol rojo es una planta herbácea semiperenne de 0,10 a 0,60 m de altura (aunque puede alcanzar hasta los 1,10 m) y pilosidad variable. Los tallos son erectos o ascendentes, su sistema radicular consta de una raíz pivotante que es relativamente pequeña en comparación con las numerosas raíces adventicias

que forman una corona que arranca del cuello. Presenta hojas trifoliadas, alternas con foliolos ovalados, blandos, de 1-3 cm de longitud y 8-15 mm de ancho, con dos estípulas basales estrechadas en arista, un peciolo de 1-4 cm de longitud y de color verde, con un característico pálido creciente de la mitad hacia el borde del foliolo (6).

En los climas templados, se comporta como una especie anual o de corto período de vida; sin embargo, en el valle del Mantaro, por su capacidad de auto sembrarse, se le suele encontrar en algunos campos de cinco o más años. Para la asociación de pastos, el trébol rojo es de gran utilidad, no solo porque fija nitrógeno atmosférico, sino también porque, junto con el rye grass italiano, sirven de plantas protectoras en el establecimiento de pastos. Además, se recomienda en una pastura asociada, por aumentar la calidad del pasto. Tiene raíces profundas que se desarrollan cubriendo el terreno rápidamente, protegiéndolo de la desecación y la erosión. En las zonas altas y frías su crecimiento se limita a la época de lluvias y ausencia de heladas, a la que es susceptible. Igualmente, cuando se usa para pastoreo, se presume que produce mayores problemas de “timpanismo” que el trébol blanco, característica que frecuentemente limita su utilización (7).

### **2.1.3. Variedades**

Las variedades que tienen buena adaptación en el valle del Mantaro son: el “Kendland” de USA, las variedades provenientes de Nueva Zelanda: “Hamua”, “Turoa” y “Pawera” y la introducida de Chile “Quiñequeli” (7).

#### **2.1.4. Adaptación y clima**

Romero y Bonert (1979) indican que prospera bien en suelos moderadamente ácidos (pH sobre 5,5), lo que coincide con “Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries” (MAFF) en Japón (1983), el cual señala que el trébol rosado es una de las leguminosas forrajeras más resistentes a la acidez del suelo. Sin embargo, a pH inferior a 5,5 la nodulación es pobre y habría respuesta a la fertilización nitrogenada. Además, indica que algo similar puede ocurrir en suelos neutros con prolongados períodos de sequía. Romero y Bonert (1979) concuerdan con MAFF (1983) en señalar que el elemento normalmente más limitante para su desarrollo es el fósforo y si se obtienen altos rendimientos, aumentan los requerimientos de potasio, por lo que tendría que aplicarse en suelos que tengan déficit de este elemento (4).

En relación con el clima, Romero y Bonert (1979) indican que es una leguminosa de clima templado y algo húmedo, en áreas de secano se adapta bien cuando las lluvias son mayores a 1.000 mm anuales y las sequías no mayores de tres a cuatro meses. Por otra parte, MAFF (1983) señala que necesita algunas precipitaciones en verano para un mejor comportamiento. Con respecto a la temperatura dice que necesita 7° C como mínimo para iniciar crecimiento activo, situación que es similar a la señalada por Silva, citado por Lizama (1964), quien indica que la planta paraliza su crecimiento con temperaturas inferiores a 10° C y superiores a 38°C (4).

#### **2.2. Composición Química del Trébol rojo**

La composición química del trébol rojo se muestra en el Anexo 1(8).

### **2.2.1. Método para determinar la composición química**

Los métodos comprendidos dentro de este grupo, también conocido como análisis proximales Weende, se aplican en primer lugar a los materiales que se usarán para formular una dieta como fuente de proteína o de energía y a los alimentos terminados, como un control para verificar que cumplan con las especificaciones o requerimientos establecidos durante la formulación. Estos análisis indican el contenido de humedad, proteína cruda (nitrógeno total), fibra cruda, lípidos crudos, ceniza y extracto libre de nitrógeno en la muestra (Anexo 2) (9).

#### **2.2.1.1. Materia seca (MS)**

La determinación de MS de una muestra consiste en provocar la evaporación del agua presente en la misma, así se da conocer el contenido en MS por simple gravimetría. Tenemos básicamente dos vías distintas para realizar esta determinación. La primera es la que podemos realizar sólo a nivel de laboratorio y consiste en someter la muestra a un secado en estufa de ventilación forzada a 100 °C durante 24 horas, a 105 °C durante 16 horas o a 135 °C durante 2 horas según "Association of Official Analytical Chemists" AOAC (1990) y Undersander y col. (1993) (10,11).

#### **2.2.1.2. Proteína cruda (PC)**

Es el nutriente más importante en la dieta; su adecuada evaluación permite controlar la calidad de los insumos proteicos que están siendo adquiridos o del alimento que se está suministrando. Su análisis se efectúa mediante el método de Kjeldahl (9).

El método Kjeldahl es el método estándar de determinación del contenido en nitrógeno desde finales del siglo XIX. El método consiste básicamente en tres grandes pasos:

- 1) Digestión de la muestra en ácido sulfúrico con un catalizador, hasta convertir todo el nitrógeno a la forma amoniacal.
- 2) Destilación del sulfato amónico en una solución atrapadora.
- 3) Cuantificación del amoníaco por valoración con una solución estándar.

Una vez conocido el contenido en nitrógeno de la muestra, la multiplicación de aquel por el factor de conversión 6,25 nos aproxima al conocimiento del contenido en PB (10).

#### **2.2.1.3. Extracto etéreo (EE)**

La determinación de extracto etéreo consiste en la extracción con éter dietílico el cual disuelve grasas, aceites, pigmentos y otras sustancias liposolubles. El éter se evapora de la solución y el residuo resultante adherido a las paredes del recipiente, es pesado. Las muestras deben estar libres de agua para evitar la coextracción de componentes hidrosolubles en la muestra, como carbohidratos, urea, ácido láctico, glicerol, etc. En el supuesto que la muestra contenga importantes cantidades de agua, debe desecarse previamente (10).

#### **2.2.1.4. Materias minerales o cenizas (MM)- (CZ)**

La determinación del contenido en cenizas consiste en la oxidación de toda la materia orgánica que contiene la muestra, sometiéndola a una combustión en un horno a 600 °C durante 2 horas, hasta conseguir unas cenizas blanquecinas (10).

#### **2.2.1.5. Fibra cruda (FC)**

Este método permite determinar el contenido de fibra en la muestra. Una muestra libre de humedad y grasa se somete a dos digestiones, una en ácido diluido y otra en álcali diluido. Los residuos orgánicos restantes se recogen en un crisol del filtro. La pérdida de peso después de incinerar la muestra se denomina fibra cruda (Anexo 3) (12).

#### **2.2.1.6. Extracto libre de nitrógeno (ELN)**

Los componentes principales del ELN son azúcares y almidones, o en general carbohidratos solubles, ya sean de origen vegetal o animal. Incluye también todos los materiales orgánicos no fibrosos, insolubles en éter y solubles todos los materiales orgánicos no fibrosos, insolubles en éter y solubles en agua, del alimento (o del producto analizado). Cuando se determina por diferencia la cifra del ELN está sujeta a un error apreciable, (pero variable), que puede ser tan grande como la suma algebraica de cualquier error analítico y/o de muestreo cometido al determinar por análisis directo cada una de las otras fracciones.

Cálculos: Por diferencia en Base Seca

$ELN = 100 - (\%Proteína + \%Ext. Etéreo + \%Fibra Cruda + \%Ceniza)$  (12).

#### **2.2.1.7. Fibra de detergente Neutro (FDN)**

Para la determinación del contenido de FDN Van Soest y col. (1991) emplean una solución de detergente neutro que disuelve las pectinas de la pared, fácilmente digestibles, y los solubles celulares (proteínas, azúcares y lípidos), resultando un residuo que representa el contenido en paredes celulares (celulosa, hemicelulosas y lignina). El detergente solubiliza las proteínas, contribuyendo el sulfito sódico que se añade a eliminar la materia nitrogenada

por ruptura de los enlaces disulfuro. El ácido etilendiamintetracético (EDTA) es empleado como quelante del calcio y para eliminar las pectinas a la temperatura de ebullición. El trietilenglicol ayuda a eliminar parte de la materia no fibrosa de los alimentos concentrados y la amilasa termoestable es usada para eliminar el almidón. Dos adiciones de amilasa ayudan a mejorar la precisión de la determinación y sobre todo, facilita la filtración cuando los alimentos contienen importantes cantidades de almidón. Debido a la contaminación de la muestra con tierra, se recomienda tener en cuenta el contenido en cenizas y excluir éste del valor de FND. Van Soest y col. (1991) dan como opcional el uso de sulfito sódico que reduce el contenido proteico de la muestra y elimina los residuos de queratina de origen animal (13).

## **2.3. Taninos**

### **2.3.1. Generalidades**

El término tanino fue acuñado históricamente a finales del siglo XVIII para describir sustancias orgánicas solubles en agua los cuales se encuentran presentes en extractos de hojas, corteza, maderas, frutas y agallas de ciertos helechos, gimnospermas y angiospermas capaces de curtir pieles, convirtiéndolas en cueros impermeables que a la vez resultan resistentes al ataque bacteriano, al calor y la abrasión según informa Swain (1979). Los taninos son metabolitos secundarios de las plantas, compuestos fenólicos no nitrogenados con peso molecular que oscila entre 300 y 20 000 Da según cita Khanbabaee y Ree (2001), con estructura amorfa, que presentan sabor astringente y son débilmente ácidos (14).

El proceso de conversión de las pieles animales en cueros durables utilizando extractos de plantas en regiones mediterráneas data desde al menos 2 000

años atrás. Este proceso se conoce como curtiembre (tanning), con lo cual se popularizó el uso del término “tanino” en la literatura científica. Hace más de cien años atrás, Trimble comentó: “los taninos ocupan una parte de la línea fronteriza en ciencias entre la botánica y la química”. Aunque la importancia de los taninos vegetales en diversas disciplinas científicas ha sido reconocida, no es fácil dar una definición firme. Probablemente, la definición más simple, concisa y aceptable sigue siendo la de Bate-Smith y Swain (1962): “Compuestos fenólicos solubles en agua, con pesos moleculares entre 500 y 3 000 Da, que además de dar las reacciones fenólicas usuales, tienen propiedades especiales tales como la habilidad de precipitar alcaloides, gelatina y otras proteínas” (15).

En los últimos años, ha sido posible el aislamiento y determinación estructural de muchos de estos taninos, aumentando así la investigación de sus actividades biológicas en base a las diferencias estructurales presentes. Dichas actividades, dependen en muchos casos de los tipos de taninos y concentraciones empleadas, esto nos indica la necesidad de su identificación y análisis estructural, como paso previo a la investigación de sus posibles aplicaciones (16).

### **2.3.2. Definición**

Son polifenoles de masa molecular y complejidad variable presentes en una gran variedad de plantas en altas concentraciones y se caracterizan por su capacidad para reaccionar con macromoléculas y proteínas solubles de forrajes durante el paso a través del rumen según reporta Bueno y col. (2008), Kariuki y Norton (2008). Se unen a proteínas de diferente origen, como plantas, saliva, tejidos,



enzimas de los huéspedes y microbios del rumen e intestino. Pertenecen a los flavonoides, lo que significa que hacen parte de una de las clases más importantes nutricionalmente, entre las que se incluyen las proantocianidinas, las antocianinas y las isoflavonas. Los taninos son moléculas de alto peso molecular y tienen propiedades para precipitar sustancias como proteínas, alcaloides, ácidos nucleicos, esteroides, saponinas y carbohidratos (17).

Los taninos se encuentran extensamente distribuidos en las plantas dicotiledóneas, en especial en las leguminosas forrajeras de regiones templadas y tropicales, también se encuentran en frutas, árboles y en otras especies, como el sorgo y el maíz, empleadas con frecuencia en la alimentación de bovinos según informa Provenza y col. (2000), Min y col. (2003) y Otero e Hidalgo (2004). Diversos factores influyen en la cantidad y clase de taninos que una planta puede sintetizar; la genética y especie de la planta, las condiciones climáticas como la temperatura, la fertilidad del suelo, el estado de desarrollo, el cultivo, el corte y el estado de crecimiento de la planta determinan la concentración de taninos en las plantas (17).

La capacidad de los taninos vegetales para acomplejarse con proteínas y otras macromoléculas a través de puentes hidrogeno, interacciones hidrofóbicas o enlaces covalentes hace de los taninos unos productos metabólicos únicos cuya presencia en los tejidos vegetales tiene consecuencias de gran interés en la nutrición de mamíferos (3).

#### **2.3.2.1. Clasificación**

Los taninos son clasificados en 2 grandes grupos taninos condensados (TC) o proantocianidinas y taninos hidrolizables (TH) o pirogálicos (15).

### **2.3.2.1.1. Taninos condensados**

Los taninos condensados son oligómeros y polímeros de unidades monoméricas de polihidroxi-flavan-3-ol unidas por enlaces ácido-lábiles  $4 \rightarrow 6$  o  $4 \rightarrow 8$ . Los polímeros son polidispersos, las cadenas son irregulares a veces ramificadas y a menudo contienen más de un tipo de unidad base configuracional. Los taninos condensados son relativamente inestables en solución acuosa y desproporcionada en ácidos o bases suaves. Las unidades monoméricas se reorganizan ampliamente en soluciones ácidas o básicas más fuertes. Las reacciones son en gran parte mediadas por radicales en soluciones básicas para formar productos altamente reordenados y acoplados oxidativamente. Los taninos condensados se combinan fuertemente con iones metálicos, carbohidratos y proteínas (18).

### **2.3.2.2. Taninos hidrolizados**

Los taninos hidrolizados son ésteres de ácidos fenólicos (ácido gálico y elágico) con un azúcar (generalmente glucosa) o un polialcohol (19). Todos ellos derivan su parte fenólica por la vía shikímica a partir de la forma enol del ácido 3-dehidroshikímico, el cual se transforma en el precursor, ácido gálico, por acción de la enzima dehidroshikimato deshidrogenada (20).

La porción de glucosa la proporciona el UDP-glucosa para producir la primera esterificación sobre el carbono anomérico que produce el donador de acilo, glucogalin; el cual conduce secuencialmente a las 1,6-di-, 1,2,6-tri-, 1,2,3,6- tetra- y 1,2,3,4,6-pentagaloilglucosas (21,22), en su conformación más estable  $4C_1$ , conformando el subgrupo de los ésteres simples. A partir de estos, se derivan tanto los gallotaninos como los elagitaninos, mediante cuatro rutas biogénicas principales:

A) Galoilaciones adicionales hasta 10 u 11 residuos galoílo, que producen los galotaninos o ácido tánico, caracterizados por la presencia de uno o más enlaces m-digaloil depsídicos, como se ilustra en la estructura hexagaloilglucosa, 2-Odigaloil-1,3,4,6-tetra-O-galol- $\beta$ -D-glucopiranososa.

B) Acoplamiento oxidativo con apertura de la glucosa y condensación con flavan-3-oles, para dar los taninos complejos.

C) Inversión de la configuración de la glucosa, seguida de acoplamiento oxidativo para dar los ésteres DHHDP de 1 C4 glucopiranososa.

D) Acoplamiento oxidativo C-C para producir los éteres HHDP de 4 C1 glucopiranososa, seguido de acoplamiento oxidativo C-O que produce los elagitaninos oligoméricos (23, 24).

### **2.3.3. Taninos en forrajes**

Los forrajes son unos de los componentes más importantes en las dietas de rumiantes. Ciertos forrajes contienen niveles apreciables de compuestos polifenólicos, muchos de los cuales son taninos. Los forrajes contienen principalmente taninos condensados según informa McLeod (1974), mientras que otras poseen tanto taninos hidrolizables como condensados. La presencia de taninos en los forrajes ha sido implicada en efectos beneficiosos como perjudiciales (3).

### **2.3.4. Taninos en la nutrición animal**

Su efecto sobre la nutrición de los rumiantes puede ser beneficioso o perjudicial, dependiendo del tipo de tanino que se considere, su concentración, estructura y peso molecular, del resto de componentes de la dieta y de la especie y fisiología del animal que los consuma (25).

Los taninos en forrajes de leguminosa pueden tener efectos tanto negativos como positivos en el valor nutritivo del forraje, esto es debido principalmente a su efecto inhibitorio de la microflora ruminal. Los taninos en altas concentraciones reducen el consumo y la digestibilidad de proteína y carbohidratos, y el desarrollo de los animales según reporta Reed y col. (1990), así como también diversos efectos tóxicos. Sin embargo, los taninos en concentraciones que van de bajas a moderadas previenen timpanismos e incrementan el flujo de nitrógeno no amoniacal y aminoácidos esenciales del rumen (26,27). Entre sus efectos benéficos, se destaca la mejor utilización de las proteínas ya que se reduce la degradabilidad ruminal lo que genera una mayor disponibilidad de aminoácidos en el intestino, mejorando la producción animal (27).

La degradabilidad disminuye debido a la interferencia de los taninos con los microorganismos del rumen por una menor adhesión microorganismo partícula, también por inhibición de la actividad enzimática según indica Bae y col. (1993) y el crecimiento de varias cepas de bacterias ruminales según Nelson y colaboradores (1997). Otro efecto que se logra al incluir taninos en la dieta es el control de parásitos gastrointestinales; lo cual puede ser resultado de efectos directos o indirectos (25).

#### **2.4. Antecedentes**

En investigaciones anteriores realizadas en Perú se ha comprobado la capacidad nutricional del trébol rojo comprobándose así su eficiencia alimenticia. En estudios previos también se ha cuantificado taninos en diversos materiales vegetales de consumo humano, además del efecto que estos causan.

Meza (2010) realizó un estudio en la estación experimental IVITA – El Mantaro, a fin de encontrar una ración alimenticia que incremente el tamaño de camada en cobayas. En los resultados se halló que la inclusión de harina de cebada a una ración forrajera incrementó la proporción de cobayas con camada mayor a tres crías en un 52%. Por otro lado la ración que contenía trébol rojo solo incremento 30% resultado que fue menor a los demás (28).

Cano (2016) evaluó el efecto de la adición de una mezcla probiótica en la dieta sobre la ganancia de peso, consumo de alimento y conversión alimenticia de cuyes en crecimiento y engorde. Los cuyes fueron distribuidos en cuatro tratamientos consistentes en una dieta base de forraje (ryegrass-trébol rojo). Se concluyó que la mezcla probiótica tiene el potencial de incrementar la productividad y la eficiencia alimenticia en cuyes en crecimiento y acabado; sin embargo, mayores niveles del probiótico deberían ser explorados para obtener resultados biológicos y prácticos óptimos (29).

Pérez (2010) cuantificó taninos en el fruto maduro de *Caesalpinia spinosa* "taya", el porcentaje de taninos totales expresado como ácido tánico fue del 49,88%. De acuerdo con las lecturas obtenidas, se concluyó que la concentración de metabolitos secundarios y especialmente los compuestos derivados del tanino están condicionadas a diferentes factores climáticos (30).

Venegas (2012) en su investigación purificó y cuantificó los flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. Los porcentajes de taninos totales presentes expresados como ácido tánico en el extracto liofilizado del decocto e infuso de hojas de *Thea sinensis* L. de té verde fue 15,29% y para el infuso de la misma leguminosa fue 0,23%. Asimismo, tenemos que para el decocto de té negro fue de 21,68% y para el infuso del

mismo fue de 2,61%; la absorbancia promedio de ácido tánico fue de 0,1063 (31).

Moscoso y col. (2017) determinaron la producción de metano en vacunos al pastoreo en el altiplano peruano en un pastizal de *Festuca dolichophylla* - *Muhlenbergia fastigiata* (Chilliguar), suplementado con ensilado y concentrado o taninos durante la época seca (agosto). La determinación de metano se realizó con la técnica del marcador con hexafluoruro de azufre (SF<sub>6</sub>), siendo la frecuencia de medición por animal de 24 h por 7 d. En este estudio la utilización de taninos redujo significativamente ( $p < 0,05$ ) las emisiones de metano frente al uso o no de concentrado (32).

En el caso de taninos hidrolizables, también se han reportado variaciones en su efecto los cuales están relacionados con el contenido de estos compuestos en los alimentos. Así, por ejemplo, en un experimento llevado a cabo con ovejas a las que se les administraron 8 gr de ácido tánico por kilo de PV, la ingestión de alimento redujo significativamente a las 24 horas de haberles administrado oralmente los taninos; según lo documentado por Zhu y col. (1992) (27).

### **III. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1. Espacio y tiempo**

La recolección de muestras se realizó en la estación IVITA (Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura) - El Mantaro, ubicado en Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, en la margen izquierda en el valle del Mantaro, distrito El Mantaro, de la provincia de Jauja, región Junín, a 3320 msnm, a 12° 05' 10" latitud sur y 75° 16' 33" longitud oeste. La temperatura media anual es 11°C (6,7), en el mes febrero del 2017.

El análisis de la composición química y la concentración de ácido tánico se realizaron en el Laboratorio de Bioquímica, Nutrición y Alimentación Animal (LBNAA) de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (Lima, Perú) y en el Management of Quality Assurance and Services Laboratories S.A.C (EE. UU) respectivamente, desde agosto hasta noviembre del 2017.

#### **3.2. Población y muestra**

El área de estudio comprendió una extensión de 200m<sup>2</sup> de trébol rojo, las muestras utilizadas fueron 25 muestras representativas de TR variedad Kendland y Quiñequeli. Estas fueron elegidos por probabilística por conveniencia mediante muestreo aleatorio estratificado con 3, 6, 9, 12 y 15 semanas de corte manteniendo como característica que todas estas leguminosas sean trébol rojo (variedad Quiñequeli y Kendland), que el corte sea a 10 centímetros del suelo según documenta Pereira y col. (2012) (33) y que los tallos y hojas estén en buen estado. El peso aproximado por muestra fue 250 gramos.

Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel kraft y llevadas a una estufa convencional a 60°C durante 48 horas. Después fueron llevadas al LBNA para ser molidas (molino Thomas Wiley™) y pasadas por malla de 1mm según informa Garrido y col. (2000) (34). Finalmente se almacenaron en bolsas de plástico tipo ziploc hasta el análisis químico proximal y el análisis de la concentración de ácido tánico.

### **3.3. Diseño de la investigación**

El diseño que se utilizó en la presente investigación es de tipo no experimental (descriptiva) de tipo transversal debido a que las variables no poseen manipulación intencional, no existe grupo control y se analizaron los hechos y fenómenos de la realidad; el presente estudio inicio con la recolección de las muestras (tallos y hojas), posteriormente paso por un proceso de deshidratación y molienda para posteriormente realizar el análisis químico.

### **3.4. Equipos y procedimiento**

#### **3.4.1. Materiales y Equipos**

##### **3.4.1.1. Materiales Biológicos**

- Trébol rojo de diferentes edades variedad Quiñequeli y Kendland.

##### **3.4.1.2. Materiales de campo**

- Hoz
- Cúter
- Bolsas de papel Kraft y bolsas de plástico.
- Botas



### **3.4.1.3. Materiales de Laboratorio**

- Pyrex
- Estufa Schutzart DIN EN 60529 – IP 20
- Desecador
- Balanza de Precisión
- Aparato extractor tipo “Goldsfich”
- Vasos de extracción Goldsfich
- Dedales celulósicos de extracción forrados con papel whatman
- Portadedales de vidrio
- Tubos recolectores de éter
- Aparato para a digestión que consiste de calentadores individuales controlados y condensadores de agua
- Vaso de 600ml de capacidad
- Crucible para ceniza
- Aspiradora o bomba al vacío
- Filtro de tela
- Frasco de lavador
- Sistema de digestión colocado en campana extractora de gases
- Tubos para digestión
- Sistema de Destilación Automático
- Matraces Erlenmeyer de 250 ml
- Bureta de Lectura Digital
- Mufla de incineración
- Crisoles de porcelana
- Desecador
- Reactivos

### **3.4.1.2. Materiales de escritorio:**

- Impresora

- Laptop
- Libros
- Hojas bond A4
- Cuaderno
- Lapiceros
- Resaltador

#### **3.4.1.3. Servicios:**

- Internet
- Electricidad
- Transporte

#### **3.4.1.4. Capital humano:**

- Investigador
- Directores encargados.

### **3.4.2. Procedimiento**

#### **3.4.2.1. Lugar de recolección**

El lugar de recolección fueron los campos experimentales de la estación IVITA (Instituto Veterinario de Investigaciones Tropicales y de Altura) – Mantaro, en el valle del mismo nombre, en departamento Junín.

#### **3.4.2.2. Toma de muestra**

Se tomaron tallos y hojas en buen estado mediante muestreo aleatorio estratificado con 3, 6, 9, 12 y 15 semanas de edad manteniendo como característica que todas estas leguminosas sean trébol rojo variedad Quiñequeli y Kendland y que el corte sea a 10 centímetros del suelo (33). El corte se realizó con una hoz y cúter; el peso aproximado por muestra fue 250 gramos.

#### **3.4.2.3. Envasado**

Las muestras fueron colocadas en bolsas de papel Kraft y selladas, además fueron rotuladas hasta su llegada a Lima.

#### **3.4.2.4. Deshidratación**

Las muestras fueron llevadas el mismo día en la noche a una estufa Schutzart DIN EN 60529 – IP 20 convencional a 60°C durante 48 horas.

#### **3.4.2.5. Molienda**

Después fueron llevadas al LBNA A para ser molidas (molino Thomas Wiley™) y pasadas por malla de 1mm de diámetro.

#### **3.4.2.6. Almacenado**

Finalmente se almacenaron en bolsas de plástico (easy open tabs) hasta el análisis químico proximal y para la determinación de la concentración de ácido tánico.

#### **3.4.2.7. Análisis (Composición química (Análisis proximal) – Concentración de ácido tánico)**

El análisis químico proximal se realizó en el LBNAA según el protocolo de AOAC (1990) para las variables nutricionales de proteína cruda (AOAC 976.05), extracto etéreo (AOAC 920.39), fibra cruda (AOAC 978.10) y cenizas totales (AOAC). En el caso de FDN se utilizó el protocolo de Van Soest y colaboradores (1991) y para el ácido tánico se siguió el método (ISO 9648:1988 Sorghum-Determination of Tannin Content). Los análisis se realizaron por duplicado y se reportaron como porcentaje en base seca.

- Para el Análisis proximal se utilizará el protocolo según: “Association of Official Analytical Chemists” (10).

- Para la determinación de Acido tánico se utilizará: (ISO 9648:1988 Sorghum-Determinación of tannin Content) (35).

#### **3.5. Diseño estadístico**

En la presente investigación se utilizó como métodos estadísticos el diseño “muestreo aleatorio estratificado” (para la toma de muestras), y para el análisis químico se utilizaron el promedio, desviación estándar, varianza, coeficiente de variación, coeficiente de correlación (R) (toma valores de -1 a 1) y coeficiente de determinación ( $R^2$ ) (toma valores de 0 a 1). Además, estas medidas de dispersión serán representadas mediante gráficas para lo cual se utilizó el programa Minitab 18 (última versión, año 2018).

#### IV. RESULTADOS

Los resultados para la determinación de la composición química y la concentración de ácido tánico en trébol rojo (*Trifolium pratense*) en diferentes edades de corte en la Región Junín se representan en los Anexos 4 y 5.

En los Anexos 4 y 5 se observa que las edades de 3, 6, 9, 12 y 15 semanas están distribuidas en grupos de 5 de menor a mayor edad; asimismo los valores de proteína cruda (PC), extracto etéreo (EE), cenizas (CZ), fibra cruda (FC), extracto libre de nitrógeno (ELN), fibra de detergente neutro (FDN) y ácido tánico reflejan la variación del contenido de nutrientes según la edad de crecimiento de forraje. Se observa también que el porcentaje de EE, FC, ELN, FDN y ácido tánico aumentan conforme mayor es la edad, siendo esto no tan reflejado en EE, por contrario para PC y CZ disminuye conforme aumenta la edad de corte. Además, los resultados con mayor y menor valor se muestran resaltados en cada columna para cada componente de trébol rojo tanto para la variedad Quiñequeli y Kendland.

**Tabla 1. Análisis de la composición química y la concentración de ácido tánico de las 25 muestras de trébol rojo (*Trifolium pratense*) variedad Quiñequeli.**

<b>Componente</b>	<b>Proteína cruda</b>	<b>Extracto etéreo</b>	<b>Cenizas</b>	<b>Fibra cruda</b>	<b>ELN</b>	<b>FDN</b>	<b>Acido tánico</b>
<b>Mínimo</b>	16,8	1,75	7,75	10,98	48,91	26,8	1,33
<b>Máximo</b>	27,86	2,96	10,12	13,5	59,49	38,1	2,33
<b>Promedio</b>	23,601	2,249	8,921	12,183	53,046	31,359	1,803
<b>Desviación estándar</b>	3,712	0,360	0,695	0,707	3,355	3,890	0,329
<b>Varianza</b>	13,779	0,130	0,483	0,499	11,254	15,134	0,108
<b>Coficiente de variación</b>	0,157	0,160	0,078	0,058	0,063	0,124	0,182

Fuente: Elaboración propia, 2018.

En la tabla 1 se observa la amplitud de los valores de las 25 muestras de TR variedad Quiñequeli siendo los valores mínimos 16,8%, 1,75%, 7,75%, 10,98%, 48,91%, 26,8%, y 1,33%; por el contrario los máximos fueron 27,86%, 2,96%, 10,12%, 13,5%, 59,49%, 38,1%, 2,33% para los componentes PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico respectivamente.

Los promedios obtenidos fueron 23,601%, 2,249%, 8,921%, 12,183%, 53,046%, 31,359%, y 1,803% para los constituyentes PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico respectivamente.

La desviación estándar nos permite observar de una forma precisa qué tan dispersos están los datos obtenidos de PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico con respecto a la media, los resultados fueron PC 3,712, EE 0,360, CZ 0,695, FC 0,707, ELN 3,355, FDN 3,890 y ácido tánico 0,329.

La varianza nos muestra distancias existentes entre los diferentes valores obtenidos de PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN, Ácido tánico y el promedio obteniéndose PC 13,779, EE 0,130, CZ 0,483, FC 0,499, ELN 11,254, FDN 15,134 y ácido tánico 0,108.

El coeficiente de variación nos permite comparar el nivel de dispersión entre cada uno de los componentes del TR variedad Quiñequeli y la edad, el cual fue 0,157 PC, 0,160 EE, 0,078 CZ, 0,058 FC, 0,063 ELN, 0,124 FDN y 0,182 ácido tánico.

**Tabla 2. Análisis de la composición química y la concentración de ácido tánico de las 25 muestras de trébol rojo (*Trifolium pratense*) variedad Kendland.**

<b>Componente</b>	<b>Proteína cruda</b>	<b>Extracto etéreo</b>	<b>Cenizas</b>	<b>Fibra cruda</b>	<b>ELN</b>	<b>FDN</b>	<b>Acido tánico</b>
<b>Mínimo</b>	16,8	1,44	7,05	11,9	48,89	26,84	1,28
<b>Máximo</b>	27,5	2,88	10,2	13,1	59,88	38,1	2,4
<b>Promedio</b>	22,756	2,218	8,556	12,546	53,925	32,386	1,736
<b>Desviación estándar</b>	4,010	0,396	0,965	0,366	4,237	4,366	0,329
<b>Varianza</b>	16,081	0,157	0,931	0,134	17,954	19,059	0,108
<b>Coficiente de variación</b>	0,176	0,179	0,113	0,029	0,079	0,135	0,190

Fuente: Elaboración propia, 2018.

La tabla 2 muestra la amplitud de los valores de las 25 muestras de TR variedad Kendland siendo los valores mínimos 16,82%, 1,44%, 7,05%, 11,9%, 48,89%, 26,84% y 1,28%; por el contrario, los valores máximos fueron 27,5%, 2,88%, 10,2%, 13,1%, 59,88%, 38,1% y 2,4% para los componentes PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico respectivamente.

Los promedios obtenidos fueron 22,756%, 2,218%, 8,556%, 12,546%, 53,925%, 32,386% y 1,736% para los constituyentes PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico respectivamente.



La desviación estándar nos permite observar de una forma precisa qué tan dispersos están los datos obtenidos de PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico con respecto a la media, los resultados fueron PC 4,010, EE 0,396, CZ 0,965, FC 0,366, ELN 4,237, FDN 4,366 y ácido tánico 0,329.

La varianza nos muestra distancias existentes entre los diferentes valores obtenidos de PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN, Ácido tánico y el promedio obteniéndose PC 16,081, EE 0,157, CZ 0,931, FC 0,134, ELN 17,954, FDN 19,059, y ácido tánico 0,108.

El coeficiente de variación nos permite comparar el nivel de dispersión entre cada uno de los componentes del TR variedad Kendland y la edad, el cual fue PC 0,176, EE 0,179, CZ 0,113, FC 0,029, ELN 0,079, FDN 0,135 y ácido tánico 0,190.

**Tabla 3. Estadísticos de coeficiente de correlación (R) y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) para las 25 muestras de trébol rojo (*Trifolium pratense*) variedad Quiñequeli.**

<b>Constituyente</b>	<b>n</b>	<b>R</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Proteína cruda</b>	25	-0,965	0,931
<b>Extracto etéreo</b>	25	0,863	0,746
<b>Cenizas totales</b>	25	-0,951	0,905
<b>Fibra cruda</b>	25	0,956	0,914
<b>ELN</b>	25	0,970	0,941
<b>FDN</b>	25	0,952	0,907
<b>Ácido tánico</b>	25	0,964	0,929

Fuente: Elaboración propia, 2018.

**Tabla 4. Estadísticos de coeficiente de correlación (R) y coeficiente de determinación (R<sup>2</sup>) para las 25 muestras de trébol rojo (*Trifolium pratense*) variedad Kendland.**

<b>Constituyente</b>	<b>n</b>	<b>R</b>	<b>R<sup>2</sup></b>
<b>Proteína cruda</b>	25	-0,970	0,941
<b>Extracto etéreo</b>	25	0,869	0,755
<b>Cenizas totales</b>	25	-0,951	0,903
<b>Fibra cruda</b>	25	0,960	0,922
<b>ELN</b>	25	0,971	0,942
<b>FDN</b>	25	0,955	0,912
<b>Ácido tánico</b>	25	0,956	0,913

Fuente: Elaboración propia, 2018.

En las tablas 3 y 4 observamos que los componentes PC y CZ muestran un coeficiente de correlación negativo y cercanos a  $-1$ . Por otro lado, para los componentes EE, FC, ELN, FDN y ácido tánico los valores obtenidos son positivos y cercanos a 1 a excepción de EE.

Los coeficientes de determinación para los componentes PC, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico son cercanos a 1; mientras que el EE es el que más tiende acercarse a 0, además se observa que tanto para la variedad Quiñequeli como Kendland los constituyentes PC y ELN obtienen los mayores coeficientes de determinación; Quiñequeli con PC=93,05% y ELN=94,13% mientras Kendland con PC=94,14% y ELN=94,21, por el contrario para EE se obtiene el menor  $R^2$  para las 2 variedades Quiñequeli con 74,55% y Kendland con 75,53%.

Mediante las gráficas de dispersión podemos mostrar cual es el comportamiento y como se correlacionan cada uno de los constituyentes de trébol rojo (*trifolium pratense*) variedad Quiñequeli (Anexo 6-12) y Kendland (Anexo 13-19) con la edad. También podemos establecer la línea o recta de mejor ajuste.

## V. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos muestran para la variedad Quiñequeli (Anexo 4) y Kendland (Anexo 5) una declinación en el contenido de PC y CZ además de un aumento de la FC y extracto no nitrogenado (ELN), lo cual coincide con lo reportado por Ruíz, Blaser y Brown en 1966 en Virginia-EE.UU. En consecuencia, se establece una relación inversamente proporcional para los constituyentes PC y CZ, Adicionalmente para FC y ELN se refleja una relación directamente proporcional (36).

Además, se observa el incremento en la concentración de ácido tánico para la variedad Quiñequeli (Anexo 4) y Kendland (Anexo 5) lo cual concuerda con lo citado por Verdecia y col. (2014) al reportar el incremento de taninos durante el crecimiento (2). Por otro lado, García y col. (2016) informan que los taninos hidrolizables alcanzan una mayor concentración a mayor edad de desarrollo, lo cual concuerda con los resultados obtenidos (37). El incremento de ácido tánico a mayor estado de desarrollo coincide con lo informado por Makkar (2003) y Karolewski y col. (2011) quienes señalan que el aumento de fenoles totales y taninos totales está relacionado con el incremento de la madurez, siendo la edad un factor determinante para la variabilidad (38,39).

En el presente trabajo se obtuvieron valores proteicos PC promedio de 23,77% y 22,86% para las variedades Quiñequeli (Tabla 1) y Kendland (Tabla 2) respectivamente; los cuales son valores muy por encima al 15,78% hallado por Mieres en la Estanzuela, Uruguay en el 2004 a 85 msnm; asimismo, fueron muy parecidos al 23,36% reportado por Torres y Vélez en el 2010 en Arequipa – Perú a 2 328 msnm (41,40). Adicionalmente, observamos que la PC de la variedad Quiñequeli se encuentra ligeramente por encima al 22,86% informado por Laforé y col. (1999), mientras que Kendland resulta ser idéntico para TR cultivado en el Valle del Mantaro, Huancayo-Perú a 3 316 msnm. A su

vez fueron superiores al 20,88% reportado por Anrique en el 2014 en Remehue-Chile a 14 msnm (8,42).

Los valores para EE promedio fueron 2,25% y 2,22% para Quiñequeli (Tabla 1) y Kendland (Tabla 2), respectivamente. Estos valores fueron superiores al 1,61% informado por Torres y Vélez en el 2010 en Arequipa-Perú a 2 328 msnm. Pero a su vez, el valor EE promedio de las 2 variedades fue similar al 2,02% documentado por Anrique en el 2014 en Remehue-Chile 14 msnm (40,42).

Por otro lado, para el constituyente FC fue de 12,18% para la variedad Quiñequeli (Tabla 1) y 12,55% para Kendland (Tabla 2), inferiores al 20,03% reportado por Anrique en Remehue-Chile 14 msnm (42).

Para CZ se obtuvo promedio de 8,89% para la variedad Quiñequeli (Tabla 1), mientras que la variedad Kendland (Tabla 2) obtuvo 8,56%, valores los cuales fueron muy similares a lo documentado por Torres y Vélez en el 2010 con 8,76% en Arequipa - Perú 2 328 msnm e inferiores a los reportados por Mieres en el 2004 con 9,76% en la Estanzuela, Uruguay a , 85 msnm (40,41). Por otro lado, los valores CZ promedio para Quiñequeli con 8,89% y Kendland con 8,56% son muy similares al 8,53% reportado por Anrique en el 2014 en Remehue-Chile a 14 msnm (42).

Adicionalmente para FDN se obtuvieron valores promedio 31,36% para la variedad Quiñequeli (Tabla 1), mientras que la variedad Kendland (Tabla 2) obtuvo 32,39%. Estos valores fueron muy similares a lo señalado por Torres y Vélez en el 2010 con 31,75% en Arequipa - Perú a 2 328 msnm. A su vez fueron

inferiores a los hallado por Mieres en el 2004 con 47,00% en la Estanzuela, Uruguay a 85 msnm (40,41). Pero estas variedades se encuentran por encima al 29,44% informado por Anrique en el 2014 en Remehue-Chile a 14 msnm. A su vez están muy por debajo al 55,71% informado por Laforé y col. (1999) en el Valle del Mantaro, Huancayo- Perú a 3 316 msnm (42,8).

En esta investigación se obtuvo valores muy parecidos para los constituyentes PC, CZ, FDN a valores reportados en estudios realizados en la misma zona valle de Mantaro Huancayo Junín y en otras regiones del nuestro país como Arequipa-Perú. Sin embargo con relación a los estudios que tuvieron procedencia otro país (Uruguay y Chile) hubo diferencia entre los porcentajes de los constituyentes mencionados. Esta similitud y diferencia entre los resultados se podrían deber según señala Bezada en el 2017 a que factores como latitud, longitud, altitud, clima, suelo influyen en la composición química, por tal motivo lugares con las mismas características entre estos factores tendrán similitud en los resultados.

Para los nutrientes EE y FC se obtuvieron valores con mayor diferencia entre los porcentajes obtenidos y estudios previos. Esto se podría deber a que en investigaciones anteriores tales como Laforé y col. (1999) en el Valle del Mantaro, Huancayo- Perú, si bien se menciona la variedad utilizada kendland no se menciona el estado de madurez; por otro lado Torres y Vélez en el 2010 en Arequipa – Perú y Anrique en el 2014 en Remehue-Chile mencionan estado de desarrollo pero no la variedad. Por tanto, estos factores como la edad y la variedad son importantes y necesarios para determinar y cuantificar adecuadamente estos componentes.

Los resultados muestran la variación existente en la composición nutricional trébol rojo variedad Quiñequeli y Kendland; dada especialmente por el tiempo de crecimiento. Asimismo, un aspecto importante a tomar en cuenta es la procedencia de las muestras analizadas; debido a que las condiciones del valle interandino donde esta se encuentra influyen en la composición química del estudio realizado. La información sobre la composición química es amplia y la calidad va a estar influenciada por diversos factores, el tipo de suelo, la variedad utilizada, el lugar de cultivo, etc (43).

En las tablas 3 y 4 los componentes PC y CZ muestran un coeficiente de correlación negativo lo cual nos indica que la relación entre estos componentes y la edad es inversamente proporcional. Además, los valores obtenidos para los constituyentes PC Y CZ son cercanos a  $-1$  lo cual nos muestra una correlación significativa es decir la línea de regresión se ajusta bien a los datos. También podemos mencionar que para EE tiene el coeficiente de correlación regular ya que es el que más tiende alejarse de 1 y/o acercarse a 0, esto considerando que los valores que tienden acercarse a cero establecen una correlación vaga o débil. Por otro lado, para los componentes FC, ELN, FDN y ácido tánico los valores obtenidos son positivos lo cual establece una relación directamente proporcional. Adicionalmente a esto los valores son cercanos a 1 lo cual determina una correlación significativa según lo reportado por Triola en el 2000, Celis de la Rosa en el 2008 y Norman en 1996 (44,45,46).

Los coeficientes de determinación para los componentes PC, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico indican un buen ajuste debido a que son cercanos a 1 según lo reportado por Triola en el 2000 y Celis de la Rosa en el 2008; mientras que el EE tiene un porcentaje de ajuste regular debido a que es el que más tiende acercarse a 0 (44,45). Además se observa que tanto para la variedad Quiñequeli como Kendland PC y ELN obtienen los mayores coeficientes de determinación;



Quiñequeli con  $PC=93,05\%$  y  $ELN=94,13\%$  mientras Kendland con  $PC=94,14\%$  y  $ELN=94,21\%$ . Esto quiere decir que se ajustan bastante bien a la variable real; mientras que para EE obtiene el menor para las 2 variedades Quiñequeli con  $74,55\%$  y Kendland con  $75,53\%$  lo que resulta un ajuste regular.

## VI. CONCLUSIONES

- Se logró determinar la composición química y la concentración de ácido tánico del TR en diferentes edades de corte en la Región Junín.
- Se cuantificó la cantidad total de PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico en cada una de las 25 muestras de TR variedad Quiñequeli siendo el promedio obtenido 23,60%, 2,25%, 8,92%, 12,18%, 53,05%, 31,36%, y 1,80%; respectivamente.
- Se cuantificó la cantidad total de PC, EE, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico en cada una de las 25 muestras de TR variedad Kendland siendo el promedio obtenido 22,76%, 2,23%, 8,56%, 12,55%, 53,92%, 32,39% y 1,74%; respectivamente.
- Se hallaron elevados coeficientes de determinación para los componentes PC, CZ, FC, ELN, FDN y ácido tánico de las 2 variedades estudiadas siendo los mejores para la variedad Quiñequeli PC = 93,05% y ELN=94,13%, mientras que el menor  $R^2$  fue para EE=74,55%. Por otro lado, para la variedad Kendland los coeficientes de determinación con mayor valor fueron PC=94,14% y ELN=94,21%, por el contrario el menor valor fue para EE=75,53%.

## VII. RECOMENDACIONES

- Se recomienda trabajar con un mayor número de muestras de TR con un rango de edad más amplio y una mayor variedad para así poder complementar los resultados.
- Se sugiere conducir un estudio similar en este y en otros tipos de forrajes, en diferentes condiciones ambientales (otras estaciones del año) y otros países a fin de analizar la composición nutricional de los alimentos para así conocer y dar un uso eficiente del recurso forrajero.
- Se recomienda realizar más estudios acerca del ácido tánico la relación entre estos metabolitos secundarios, la digestibilidad y concentración en forrajes.
- Se recomienda el consumo de este forraje TR a mediados de floración (6 y 9 semanas) ya que el contenido nutricional es óptimo y en donde la concentración de ácido tánico es moderada.

## VIII. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. González M, Starkey E, Karchesy J. Variación del contenido de taninos en plantas del monte gallego. *Pastos*.1999; 29(1):67-77
2. Verdecia D, Herrera R, Ramírez J, Leonard I, Bodas R, Prieto N, et al. Efecto de la edad de rebrote en el contenido de metabolitos secundarios de la *Neonotonia wightii* en el Valle del Cauto, Cuba. *Rev Cub Cienc Agric*. 2014;48(2):149-154.
3. Martínez T. Incremento de la disponibilidad intestinal de proteína y almidón mediante la manipulación de su degradabilidad en el rumen [tesis doctoral]. Almería: Universidad de Almería, Departamento de biología aplicada; 2001.
4. Torres A, Sierra C. Producción y utilización del trébol rosado (*trifolium pratense* L.). Osorno: Instituto de investigaciones agropecuarias estación experimental remehue;2000.
5. Lobatón J, Cure J, Almanza M. Fenología y oferta floral de trébol rojo *trifolium pratense* (fabales: fabaceae) en praderas de kikuyo *penissetum clandestinum* (poales: poaceae), como fuente alimento para *bombus atratus* (hymenoptera, apoidea) en Cajicá, Colombia. *Rev Latinoam Bioet*. 2012;8(1):18-27.
6. Ordóñez J, Bojórquez C. Manejo del establecimiento de pasturas para zonas altoandinas del Perú. Huancayo: CONCYTEC; 2011.
7. Bojórquez C, Rojas J, Ordóñez H. Pastos cultivados en el valle del Mantaro. 1ª.ed.Lima: Fondo Editorial Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2015.
8. Laforé M, San Martín F, Carcelén F, Borjórquez R, Arbaiza T, Carcelén F. Diagnóstico alimenticio y composición químico nutricional de los principales insumos de uso pecuario del Valle del Mantaro. *Rev Inv Vet Perú*.1999;10(2):74-78.
9. FAO. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. Análisis proximales. [Internet] México, D.F., 1993 [Consultado el 29 de junio del 2018]. Disponible en: <http://www.fao.org/docrep/field/003/AB489S/AB489S03.htm>

10. AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis. 15<sup>th</sup> ed. Vol. 1. Arlington; 1990. 746 p.
11. Undersander, D., Mertens, D.R. y Thiex, N. Recommends forage analyses procedure. National Forage Testing Association, USA, 1993.
12. Arbaiza T. Manual de procedimientos para el análisis proximal de alimentos. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos Facultad de Medicina Veterinaria; 2007.
13. Van Soest P, Roberts J, Lewis B. Methods for dietary fiber, neutraldetergent fiber, and nonstarch polysacc-harides in relation to animal nutrition. JDairy. 1991;74:3583-3597.
14. González E, Rodríguez R, Aguilar C. Biodegradación de taninos. Ciencia cierta. 2009;1(17).
15. Isaza JH. Taninos o polifenoles vegetales. Scientia Et Technica. 2007;8(33):13-18.
16. Alvarez C, Lock O. Taninos. Rev Soc Quím Perú. 1992; 6(1):47-63.
17. Porter J. Estructura y propiedades químicas de los taninos condensados. En: Hemingway R, Laks P, eds. Plant Polyphenols. Boston: Springer; 1992. Pp245-258.
18. Márquez D, Suárez A. El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes. Rev Med Vet. 2008;16:87-109.
19. Okuda, T. Yoshida, T. Hatano T. Hydrolyzable tannins and related polyphenols. Fortschritte der Chemie organischer Naturstoffe. Progress in the chemistry of organic natural products. 1995;66:1-117.
20. Ossipov V, et al. Gallic acid and hydrolysable tannins are formed in birch leaves from an intermediate compound of the shikimate pathway. Biochemical Systematics and Ecology. 2003;31(1):3-16.
21. Gross G. Partial purification and properties of UDP-glucose:vanillate 1-O-glucosyl transferase from oak leaves. Phytochemistry. 1983;22(10):2179-2182.
22. Niemetz R, Gross G. Gallotannin biosynthesis: purification of [beta]-glucogallin:1,2,3,4,6-pentagalloyl-[beta]-d-glucose galloyltransferase from sumac leaves In honour of professor G. H. Neil Towers 75th birthday. Phytochemistry. 1998; 49(2):327-332.

23. Niemetz R, Gross G. Enzymology of gallotannin and ellagitannin biosynthesis. *Phytochemistry*.2005; 66(17):2001-2011.
24. Grundhofer P, Niemetz R, Schilling G, Gross G. Biosynthesis and subcellular distribution of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry*.2001;57(6):915-927.
25. Barboza M, Machado G. Suplementación proteica en la recría de corderas sobre campo natural [tesis]. Montevideo: Universidad de la República Facultad de Agronomía; 2013.
26. Solano H. Efecto de diferentes concentraciones de taninos sobre la flora microbiana ruminal y en la degradabilidad in vitro del forraje de alfalfa [tesis].Monterrey: Universidad Autónoma de Nuevo León, Facultad de Agronomia; 1997.
27. Hervás G. Los taninos condensados de quebracho en la nutrición de ovejas Efecto sobre la fermentación en el rumen y la digestibilidad, toxicidad y utilización como protectores frente a la degradación ruminal [tesis doctoral]. España: Universidad de León, Departamento de Producción animal I; 2001.
28. Meza C. Efecto del incremento de la densidad energética y proteica de la ración con harina de Cebada y de Haba durante el período de lactación y empadre sobre el tamaño de camada en Cobayas [Tesis]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos; 2010.
29. Cano W. Efecto de la suplementación con una mezcla probiótica sobre el comportamiento productivo de cuyes (*Cavia porcellus*) durante la fase de crecimiento y acabado. *Rev Inv Vet Perú*. 2016; 27(1):51-58.
30. Pérez L. Cuantificación espectrofotométrica de taninos en el fruto maduro de caesalpinia spinosa "taya"- procedente del distrito del Porvenir – Trujillo. [Tesis]. Lima: Universidad Nacional de Trujillo Facultad de Farmacia y Bioquímica; 2010.
31. Venegas E. Cuantificación de flavonoides totales y taninos presentes en el extracto acuoso de hojas de *Thea sinensis* L. y su capacidad antioxidante [Tesis]. Universidad Nacional de Trujillo;2010.
32. Moscoso M., Juan E. et al. Producción de Metano en Vacunos al Pastoreo Suplementados con Ensilado, Concentrado y Taninos en el Altiplano Peruano en Época Seca. *Rev Inv Vet Perú*.2017; 28(4): 822-833.

33. Pereira S, Valladares J, Flores G, Díaz N, Fernández B, Resch C, Gonzales A, et al. Rendimiento y valor nutritivo de nuevas leguminosas anuales como cultivo de invierno en rotaciones forrajeras intensivas en Galicia. *Pastos*. 2012;42(1):29-50.
34. Garrido V, Pérez M, Guerrero J, Gómez C. Avances en la utilización de la tecnología NIRS, aplicaciones en producción animal. Universidad Politécnica de Córdoba, España;2000.
35. International Organization for Standardization. ISO 9648:1988 Sorghum-Determinación of tannin Content. [Internet], 2009 [Consultado el 29 de junio del 2018]. Disponible en: <https://www.iso.org/standard/17487.html>
36. Ruiz I, Blaser R, Brown R. Crecimiento y calidad de trébol rosado durante tres estaciones en relación a algunas variables morfológicas y fisiológicas. *Agric Téc*.1966;29(1):1-8.
37. García L, Bolaños ED, Lagunes LC, Ramos J, Osorio MM. Concentración de compuestos fenólicos en fabáceas forrajeras tropicales en edad diferente del rebrote. *Agrociencia*. 2016;50(4):429-440.
38. Makkar H, Harinder P. Quantification of tannins in tree and shrub foliage. Netherlands: A laboratory manual;2003.
39. Karolewski, P., Jagodziński, A.M, Grzebyta, J. Influence of tree age, needle age and location in the crown on the phenolic compounds content in needles of young Scots pines. *Sylwan*. 2011;155:797.
40. Torres J, Vélez V. Tablas de composición química nutricional de alimentos y forrajes. Arequipa: Clínica Veterinaria - Universidad Católica de Santa María; 2010.
41. Mieres J. Guía para la alimentación de rumiantes. Estanduela: INIA la Estanduela; 2004.
42. Anrique R. Composición de alimentos para ganado bovino. 4ª.ed. Remehue:Universidad Austral de Chile;2014.

43. Bezada S, Arbaiza F, Carcelén F, San Martín F, López C, Rojas J, et al. Predicción de la Composición Química y Fibra Detergente Neutro de Rye Grass Italiano (*Lolium multiflorum Lam*) mediante Espectroscopía de Reflectancia en Infrarrojo Cercano (NIRS). Rev Inv Vet Perú. 2017;28(3):538-548.
44. Triola M. Correlación y regresión. En: Wesley A, ed. Estadística elemental. 7ª. ed. México: Pearson educación; 2010. Pp476- 531.
45. Celis de la Rosa A. Regresión y correlación simple. En: Martínez M, ed. Bioestadística. 2ª. ed. México: El Manual Moderno; 2008. p165-172.
46. Norman G, Streiner D. Regresión y correlación. Bioestadística. 1ª. ed. Madrid: Harcourt; 1996. Pp101-107.



**ANEXOS**

## Anexo 1

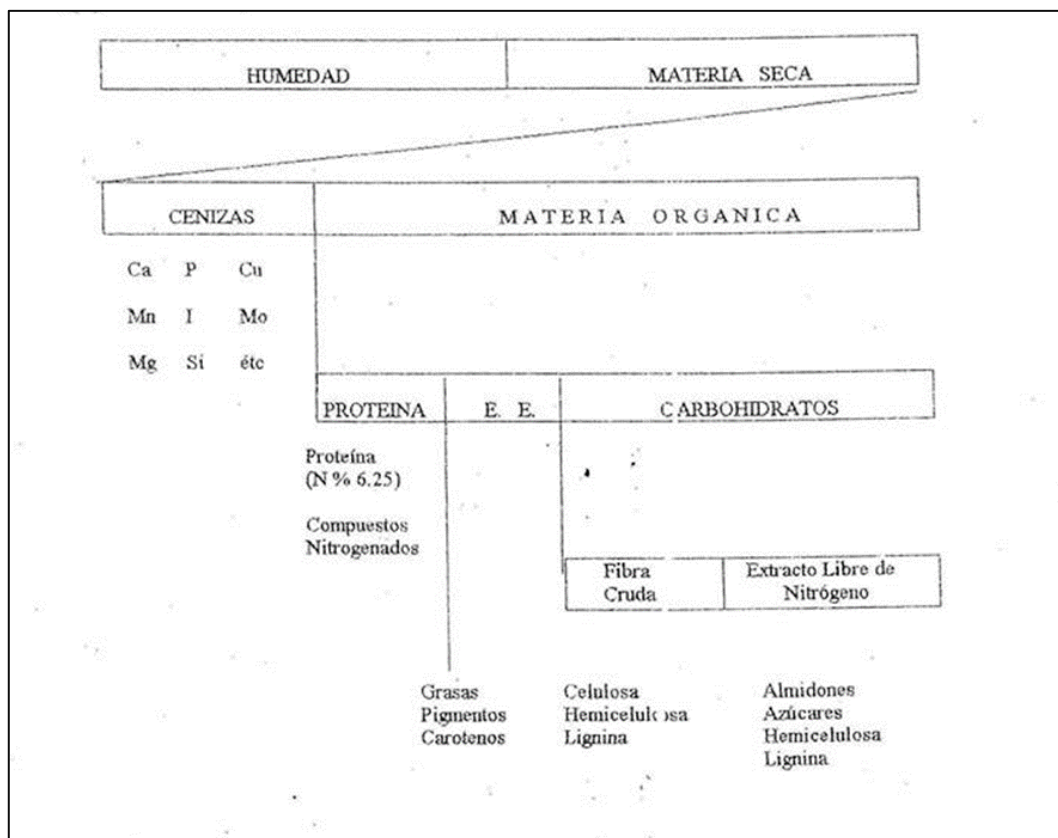
Tabla 1. Composición químico Nutricional del trébol rojo

<b>Forraje</b>	<b>Trébol rojo</b>
Materia seca (MS) %	22,76
Proteína Cruda (PC)%	22,86
Fibra de detergente neutro (FDN)%	55,71
Digestibilidad in vitro de la materia seca (DIVMS)%	52,34
Nutrientes digestibles totales NDT	52,03
Energía metabolizable Mcal/Kg	1,88
Energía digestible Mcal/Kg	2,29

Fuente: Laforé y col. (1999) (8).

## Anexo 2

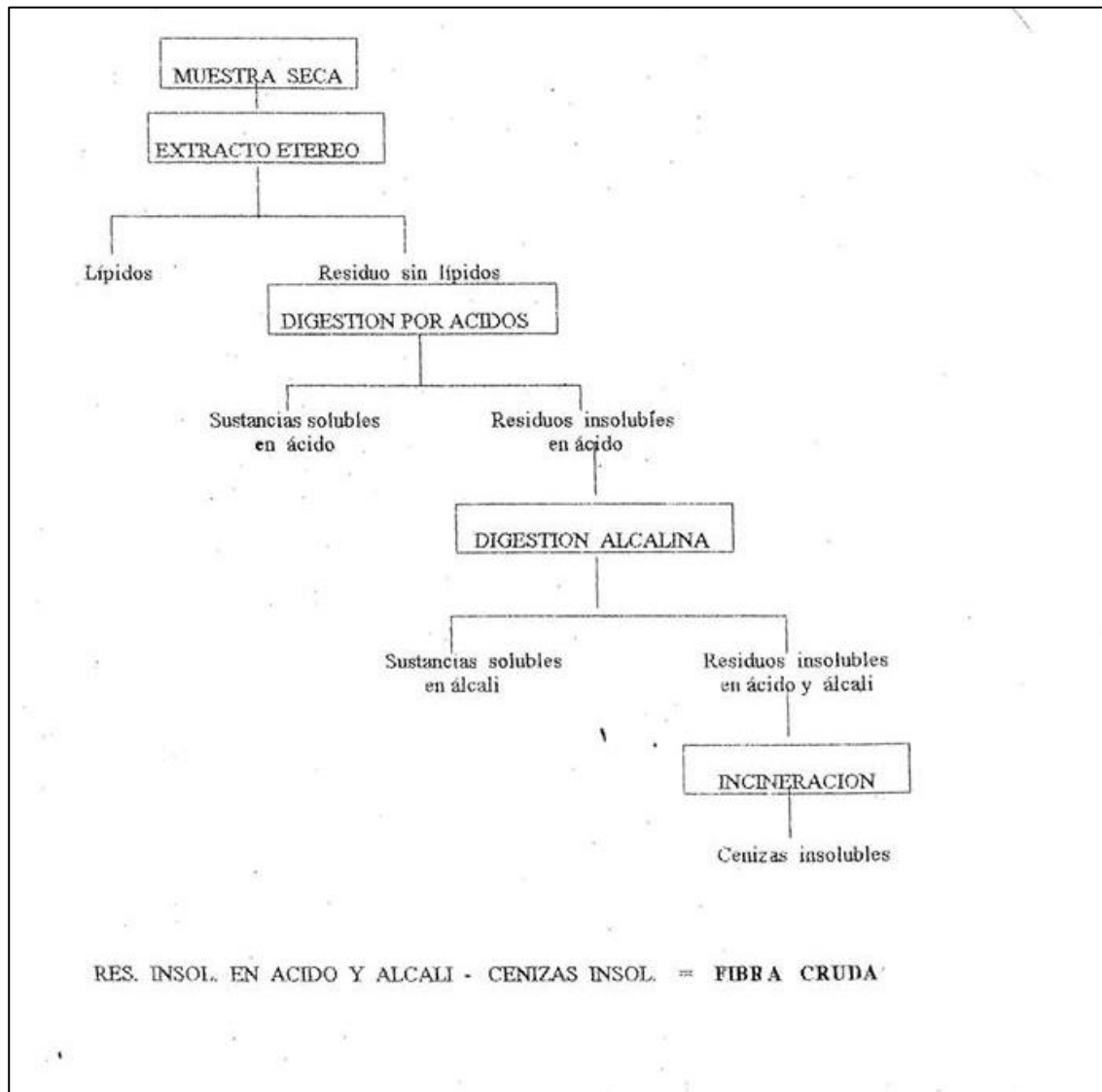
Figura 1. Fraccionamiento químico de un forraje por el método de weende.



Fuente: Arbaiza, 2007(12).

### Anexo 3

Figura 2. Determinación de fibra cruda



Fuente: Arbaiza, 2007(12).

## Anexo 4

Tabla 2. Resultados de la composición química y la concentración de ácido tánico de las 25 muestras de trébol rojo (*Trifolium pratense*) variedad Quiñequeli en diferentes edades de corte. (n=25)

Edad (semanas)	Proteína cruda (%)	Extracto etéreo (%)	Cenizas totales (%)	Fibra cruda (%)	FDN (%)	ELN (%)	Ácido tánico (%)
3	<b>27,86</b>	1,9	10,1	11,22	27,52	48,92	1,45
3	27,8	<b>1,75</b>	9,92	11,48	<b>26,8</b>	49,05	<b>1,33</b>
3	27,66	1,83	10,08	11,52	26,94	<b>48,91</b>	1,48
3	27,82	1,84	<b>10,12</b>	11,18	27,4	49,04	1,35
3	27,68	1,94	10,05	<b>10,98</b>	27,38	49,35	1,4
6	26,18	2,12	9,1	11,73	27,95	50,87	1,38
6	25,94	2,2	9,45	11,52	27,88	50,89	1,59
6	26,2	2	9,08	11,85	28,55	50,87	1,62
6	26,14	2,05	9,12	12,05	28,48	50,64	1,58
6	26,42	2,1	9,05	11,8	29,05	50,63	1,66
9	25,59	2,18	8,88	11,87	30,14	51,48	1,82
9	23,88	2,2	8,7	11,75	30,18	53,47	1,72
9	25,61	2,22	8,74	11,9	30,22	51,53	1,8
9	25,1	2,1	8,55	12,18	31,05	52,07	1,83
12	21,88	2,05	8,45	12,74	31,3	54,88	1,92
12	21,92	2,12	8,6	12,62	32,12	54,74	2,01
12	21,3	2,72	8,69	12,88	32,18	54,41	2,19
12	22,3	2,62	8,5	12,71	34,2	53,87	2,06
12	20,2	2,6	8,73	12,82	34,55	55,65	1,88
15	<b>16,8</b>	2,88	<b>7,75</b>	13,08	37,5	<b>59,49</b>	2,22
15	17,84	2,66	8,12	<b>13,5</b>	37,68	57,88	2,24
15	17,84	2,78	8,05	13,05	37,66	58,28	<b>2,33</b>
15	17,98	2,55	8,14	13,1	38,05	58,23	2,29
15	17,98	<b>2,96</b>	8,18	12,94	<b>38,1</b>	57,94	2,3

Fuente: Elaboración propia, 2018.

## Anexo 5

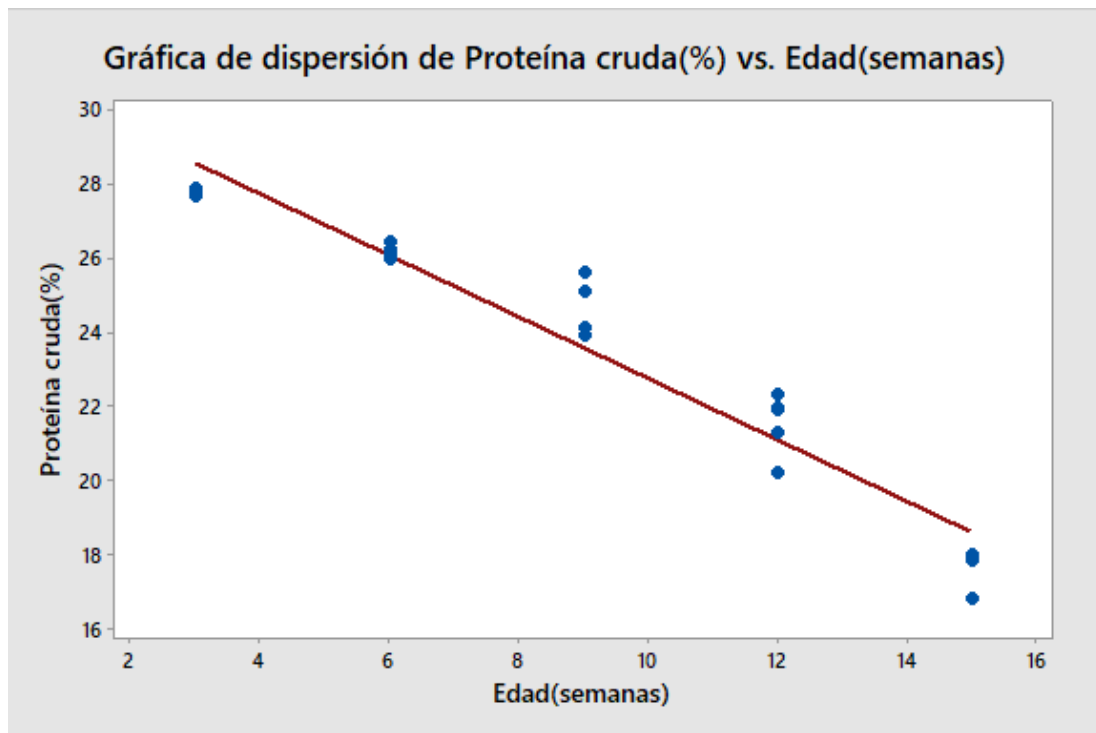
Tabla 3. Resultados de la composición química y la concentración de ácido tánico de las 25 muestras de trébol rojo (*Trifolium pratense*) variedad Kendland en diferentes edades de corte. (n=25)

Edad (semanas)	Proteína cruda (%)	Extracto etéreo (%)	Cenizas totales (%)	Fibra cruda (%)	FDN (%)	ELN (%)	Ácido tánico (%)
3	26,98	1,86	9,75	11,98	27,24	49,43	1,33
3	<b>27,5</b>	1,78	9,88	11,95	<b>26,84</b>	<b>48,89</b>	1,3
3	27,45	<b>1,44</b>	10,1	12,05	27,1	48,96	<b>1,28</b>
3	26,98	1,83	10,15	<b>11,9</b>	27,42	49,14	1,4
3	26,9	1,58	<b>10,2</b>	12,05	28,78	49,27	1,35
6	26,74	2,18	9,18	12,5	28,92	49,4	1,42
6	26,78	2,1	9,2	12,25	28,56	49,67	1,66
6	26,6	2,12	9,14	12,45	28,55	49,69	1,52
6	26,42	2,1	9,05	12,2	29,05	50,23	1,48
6	25,88	2,14	8,7	12,38	29,1	50,9	1,59
9	24,88	2,2	8,7	12,6	30,18	51,62	1,62
9	22,61	2,22	8,74	12,58	30,22	53,85	1,62
9	23,52	1,84	8,55	12,62	31,05	53,47	1,6
9	24,05	1,86	8,5	12,72	31,1	52,87	1,75
9	22,48	2,1	7,88	12,68	31,2	54,86	1,78
12	19,4	2,5	8,05	12,7	36,78	57,35	1,8
12	19,2	2,08	7,8	12,82	36,83	58,1	1,88
12	20,2	2,64	7,72	12,69	36,9	56,75	1,91
12	18,6	2,7	7,55	12,71	37,38	58,44	1,9
12	19,6	2,72	7,58	12,74	37,46	57,36	2,01
15	16,82	2,6	7,6	13,1	37,48	<b>59,88</b>	2,22
15	16,95	2,78	7,78	12,88	<b>38,1</b>	59,61	2,06
15	<b>16,8</b>	2,55	7,85	12,94	37,88	59,86	<b>2,4</b>
15	17,9	<b>2,88</b>	<b>7,05</b>	13,05	37,74	59,12	2,18
15	17,66	2,64	7,2	<b>13,1</b>	37,8	59,4	2,33

Fuente: Elaboración propia, 2018.

## Anexo 6

Figura 3. Relación proteína cruda (PC) y las diferentes edades de corte.



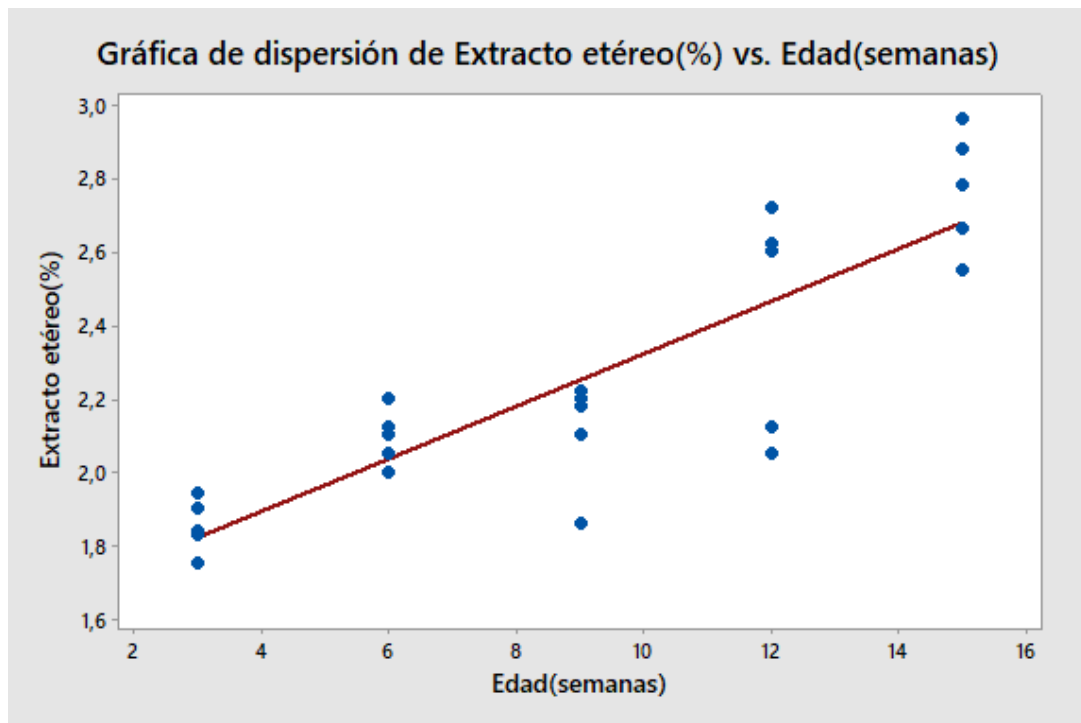
La gráfica PC (%) vs. Edad(semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

$PC (\%) = 31,04 - 0,8269 \text{ Edad(semanas)}$ ; además el  $R^2 = 93,1\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 7

Figura 4. Relación extracto etéreo (EE) y las diferentes edades de corte.



La gráfica EE (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

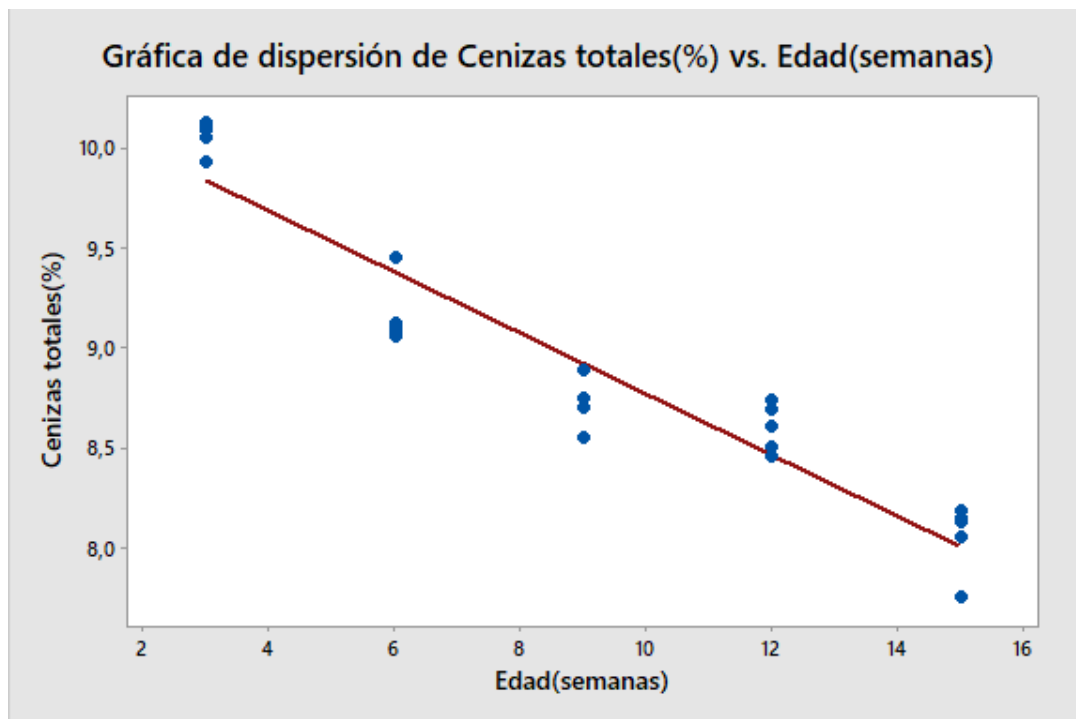
$EE (\%) = 1,602 + 0,07187 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 74,6\%$  lo que indica un buen regular.

Fuente: Minitab 18, 2018.



## Anexo 8

Figura 5. Relación de cenizas (CZ) y las diferentes edades de corte.

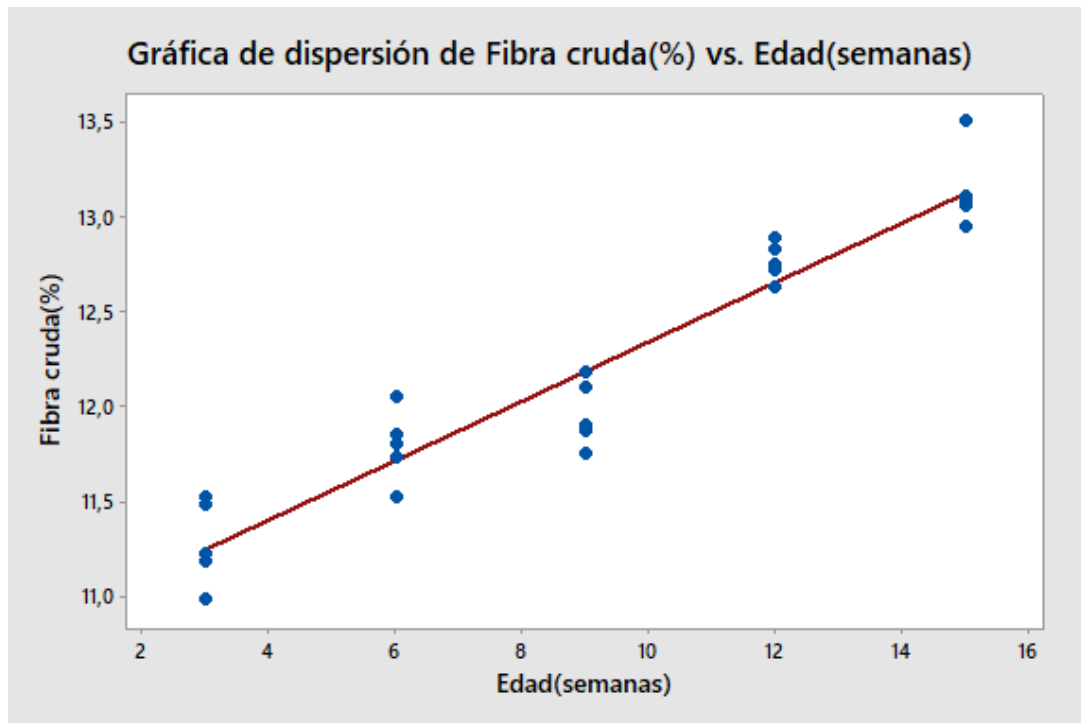


La gráfica CZ (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:  
 $CZ (\%) = 10,29 - 0,1526 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 90,5\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 9

Figura 6. Relación fibra cruda (FC) y las diferentes edades de corte



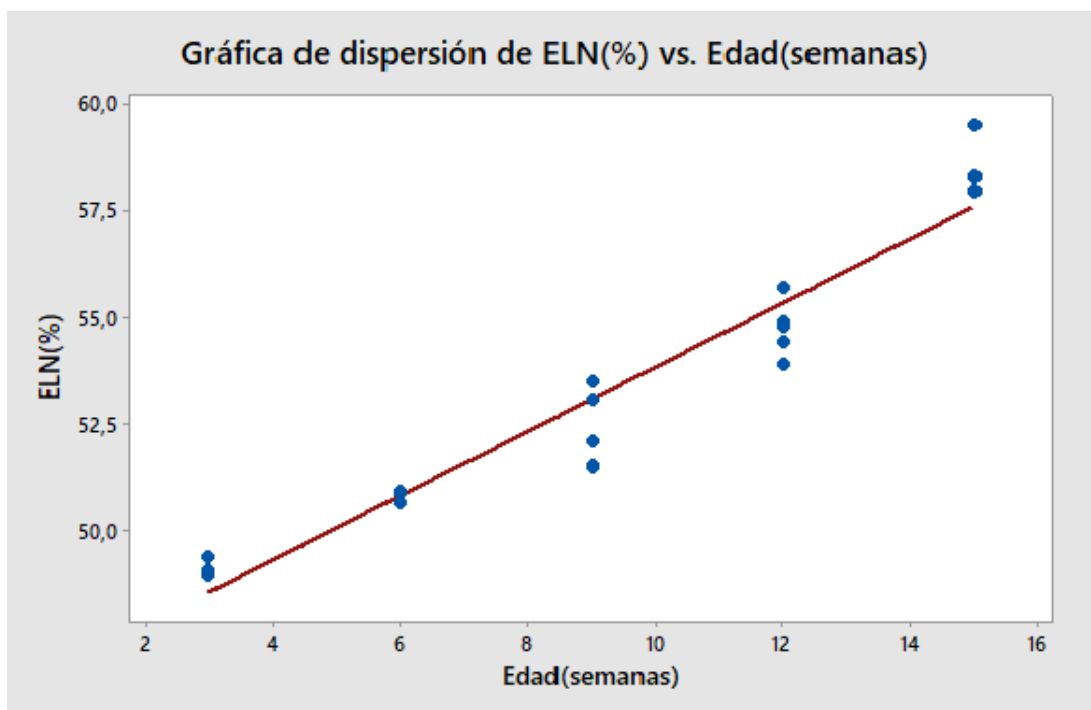
La gráfica FC (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

$FC (\%) = 10,78 + 0,1560 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 91,4\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 10

Figura 7. Relación extracto libre de nitrógeno (ELN) y las diferentes edades de corte.

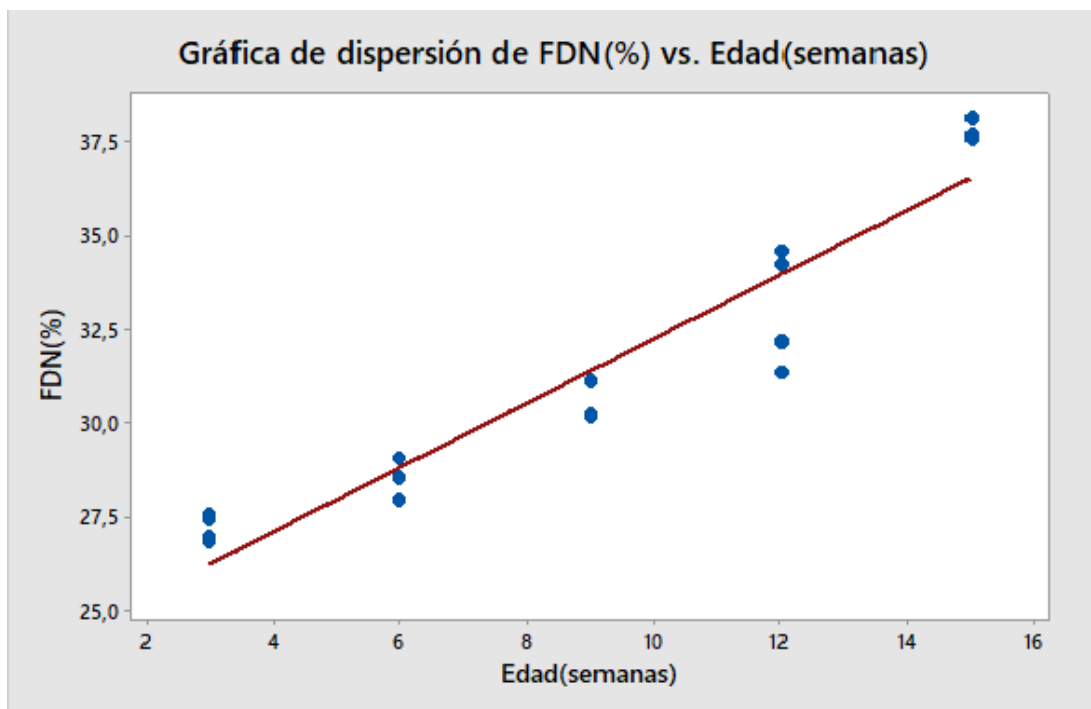


La gráfica ELN (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:  
 $ELN(\%) = 46,28 + 0,7517 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 94,1\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 11

Figura 8. Relación fibra de detergente neutro (FDN) y las diferentes edades de corte.



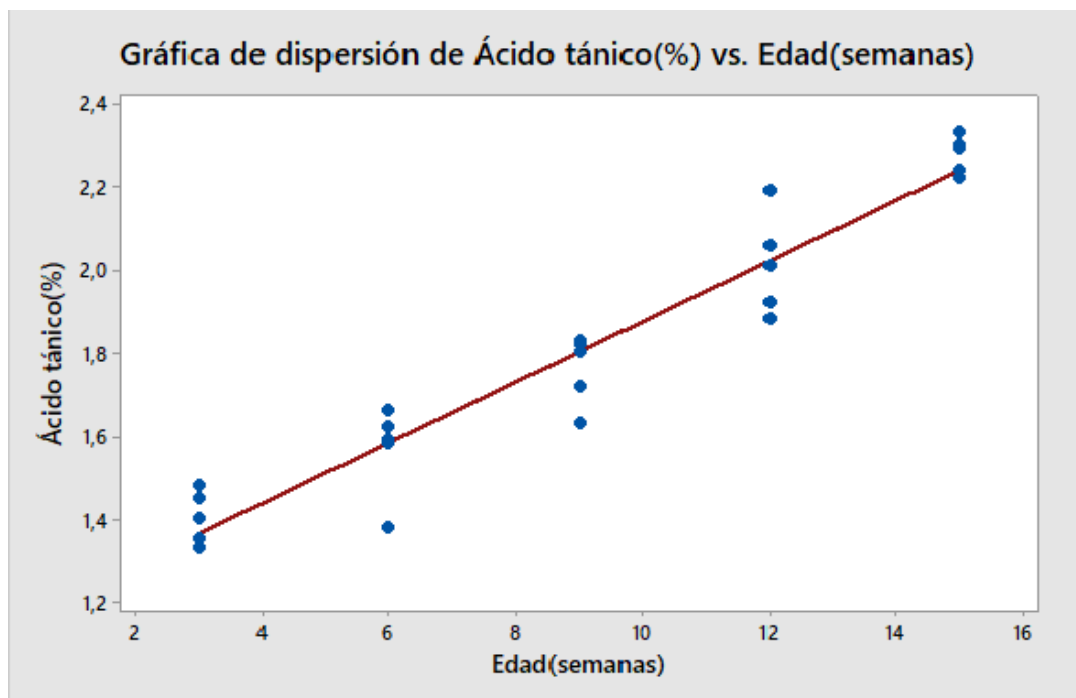
La gráfica FDN (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

$FDN (\%) = 23,66 + 0,8556 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 90,7\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018

## Anexo 12

Figura 9. Relación ácido tánico y las diferentes edades de corte.

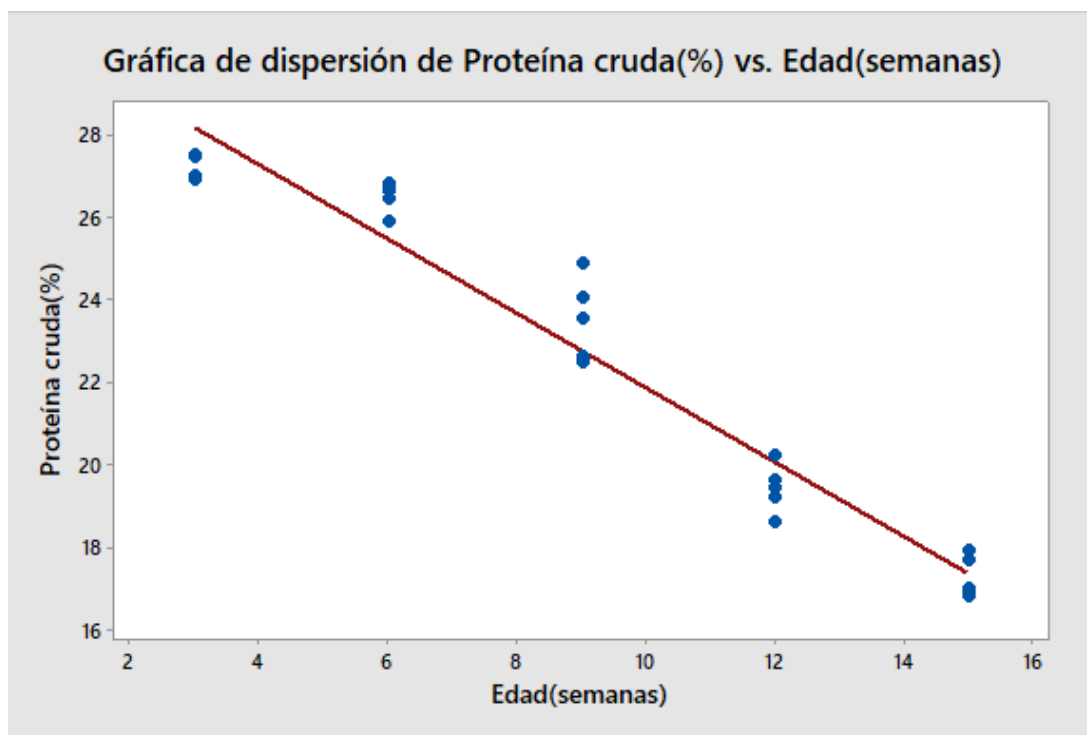


La gráfica Ácido tánico (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:  
Ácido tánico (%) =  $1,145 + 0,07313$  Edad (semanas); además el  $R^2 = 92,9\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

### Anexo 13

Figura 10. Relación proteína cruda (PC) y las diferentes edades de corte.

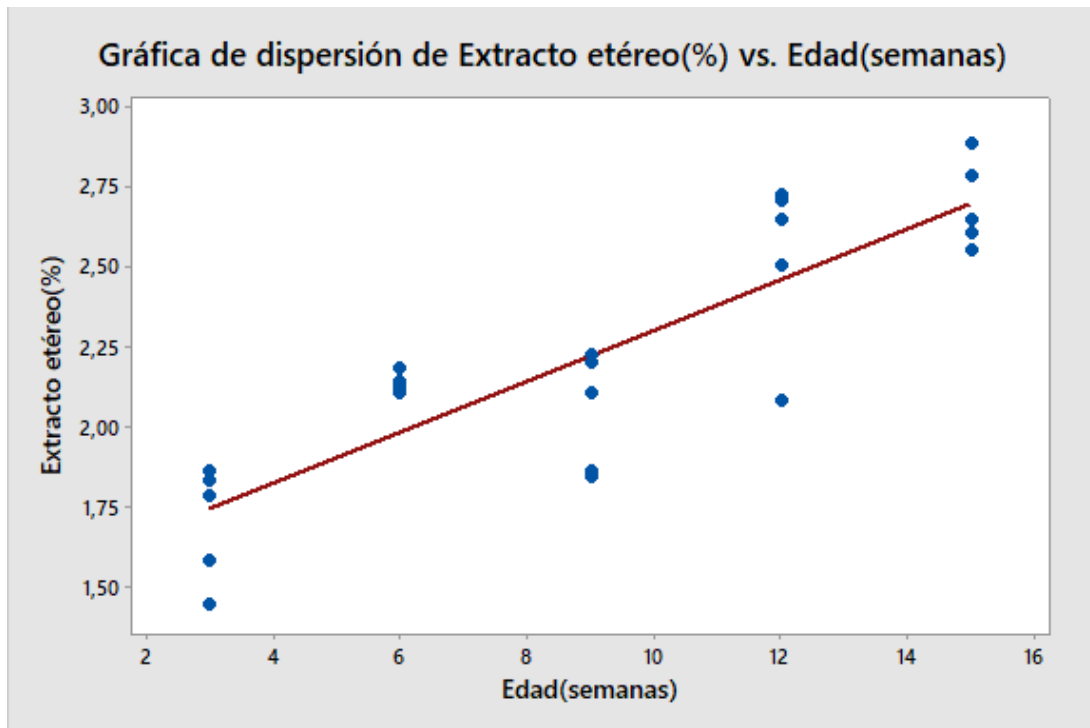


La gráfica PC (%) vs. Edad(semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:  
 $PC (\%) = 30,84 - 0,8985 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 94,1\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 14

Figura 11. Relación extracto etéreo (EE) y las diferentes edades de corte.



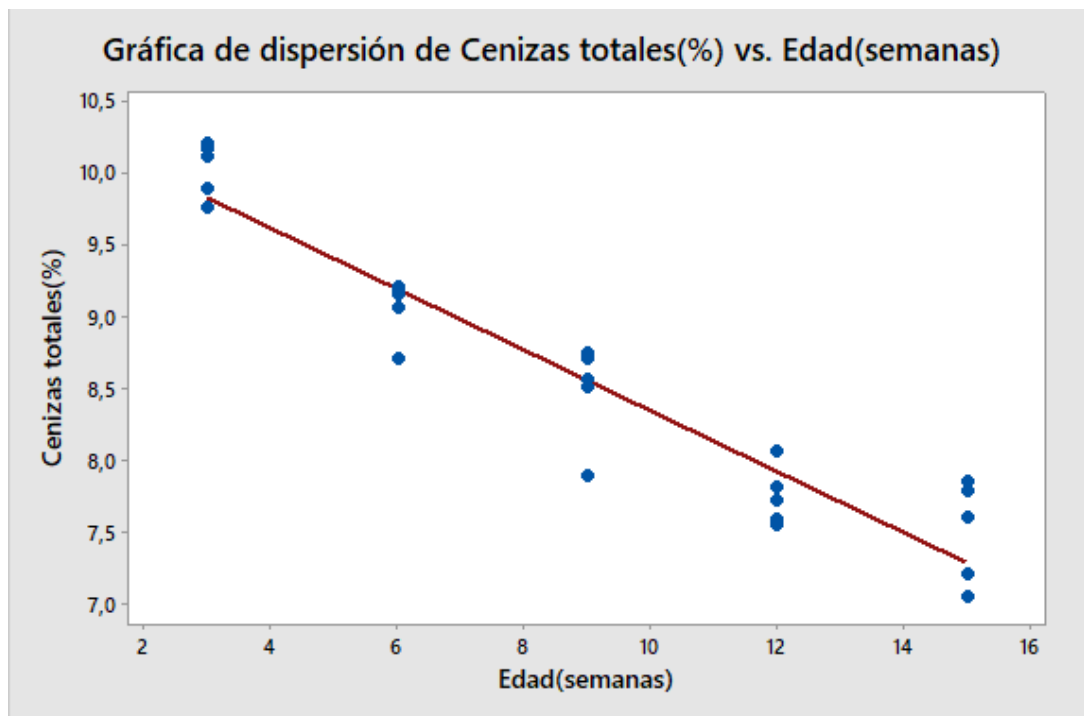
La gráfica EE (%) vs. Edad(semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

$EE (\%) = 1,502 + 0,07947 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 75,5\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 15

Figura 12. Relación cenizas (CZ) y las diferentes edades de corte.



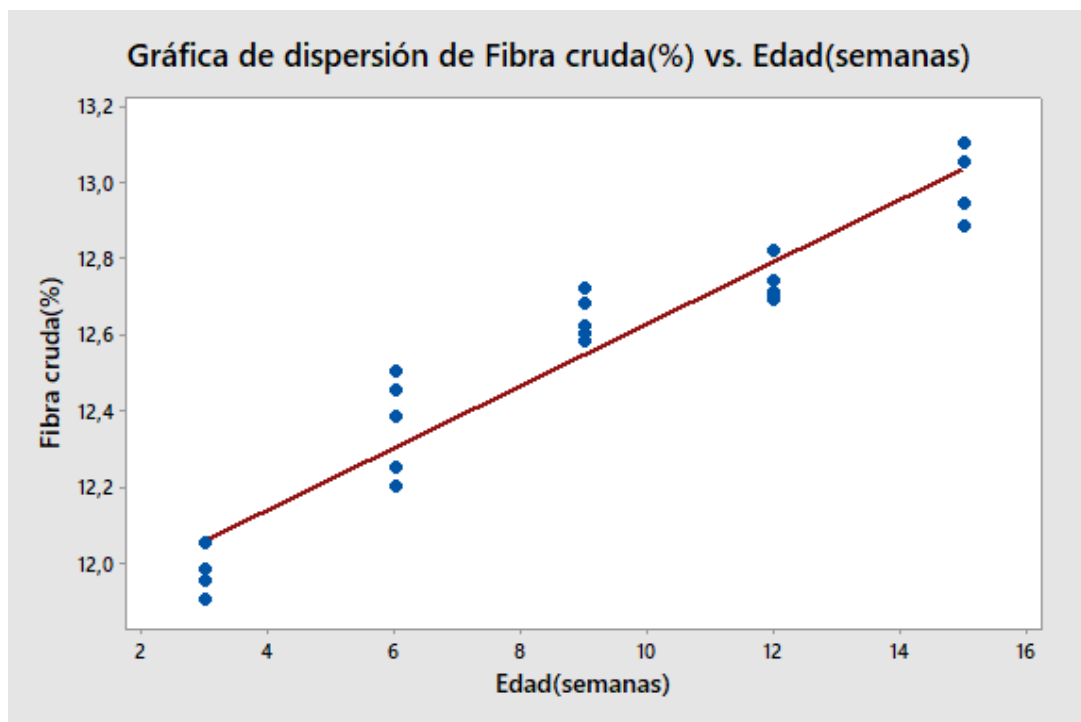
La gráfica CZ (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:  
 $CZ (\%) = 10,46 - 0,2118 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 90,3\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.



## Anexo 16

Figura 13. Relación fibra cruda (FC) y las diferentes edades de corte.



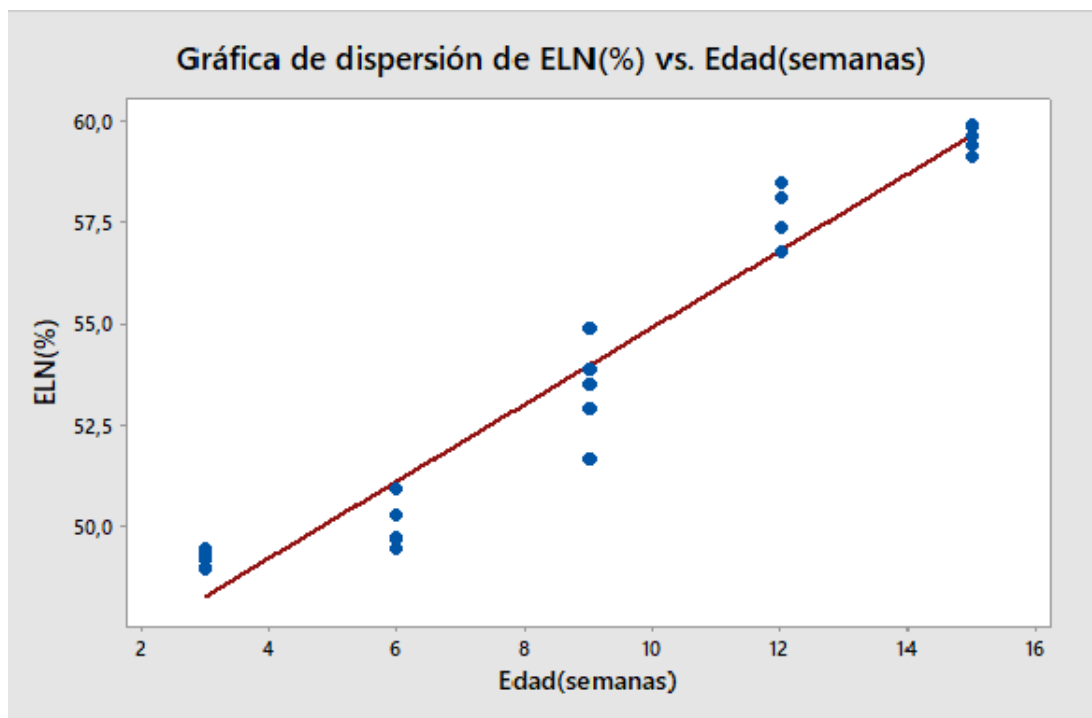
La gráfica FC (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

$FC (\%) = 11,82 + 0,08107 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 92,2\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 17

Figura 14. Relación extracto libre de nitrógeno (ELN) y las diferentes edades de corte.



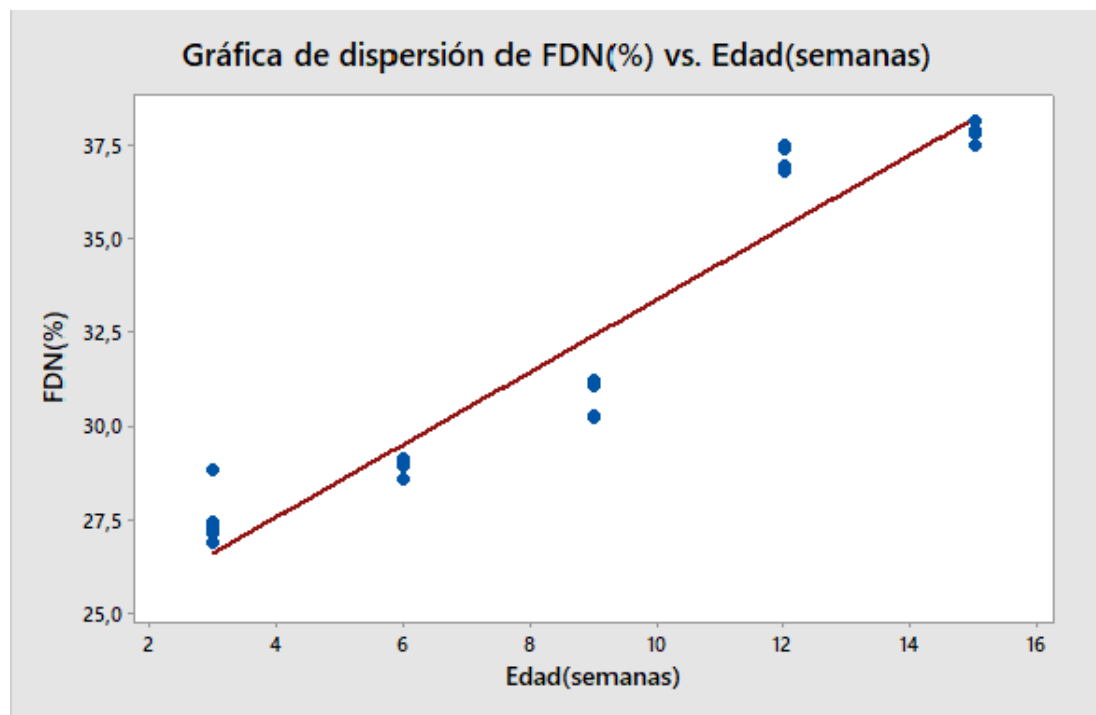
La gráfica ELN (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

$ELN (\%) = 45,38 + 0,9498 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 94,2\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 18

Figura 15. Relación fibra de detergente neutro (FDN) y las diferentes edades de corte.

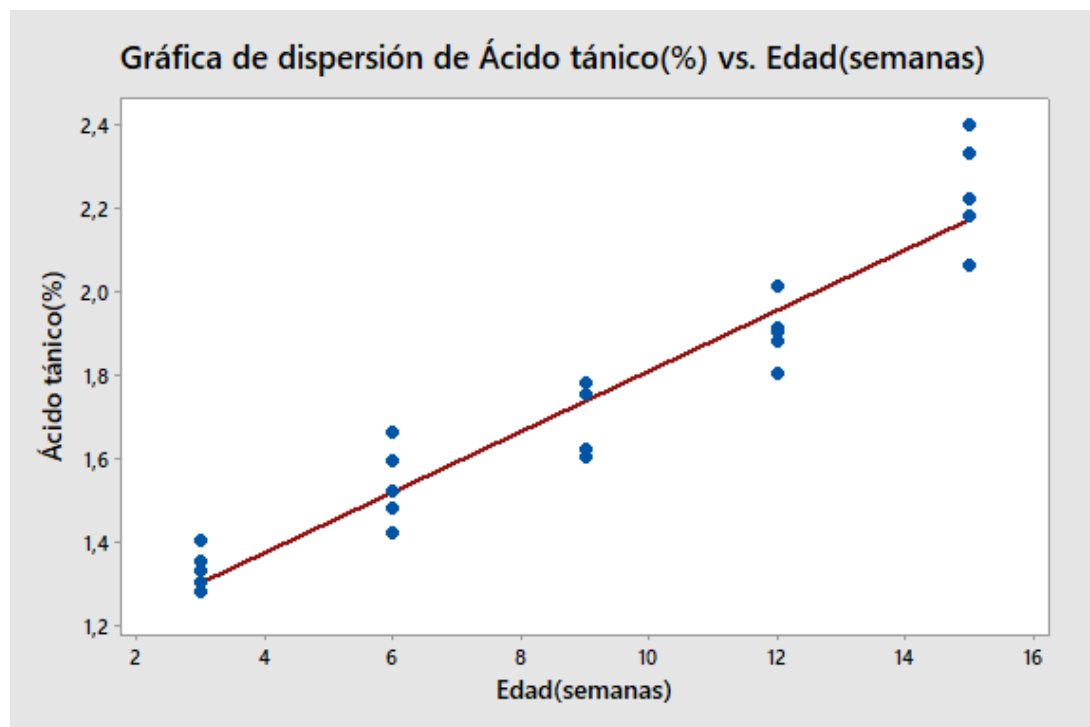


La gráfica FDN (%) vs. Edad (semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:  
 $FDN (\%) = 23,72 + 0,9627 \text{ Edad (semanas)}$ ; además el  $R^2 = 91,2\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 19

Figura 16. Relación ácido tánico las diferentes edades de corte.




La gráfica Ácido tánico (%) vs. Edad(semanas) muestra la recta de mejor ajuste en la cual podemos observar donde los datos tiendan a acercarse más; se observa un ajuste de regresión de:

Ácido tánico (%) =  $1,082 + 0,07260$  Edad (semanas); además el  $R^2 = 91,3\%$  lo que indica un buen ajuste.

Fuente: Minitab 18, 2018.

## Anexo 20

Figura 17. Certificado de Análisis de concentración de ácido tánico de muestra de trébol rojo variedad Quiñequeli.



MANAGEMENT OF QUALITY ASSURANCE  
AND SERVICES LABORATORIES S.A.C.

### INFORME DE ENSAYO

#### Nro. 14516/17

Análisis Solicitado por	: Carlos Estupiñan	Peso de muestra	: 64 grs.
Solicitud de Ensayo	: Carlos Estupiñan	Cantidad de muestras	: 1
Producto descrito como	: TREBOL	Fecha de Recepción	: 21/08/2017
Procedencia	: Lima	Fecha de Ensayo	: 21/08/2017
Observaciones Recepción	: Doble bolsa ziploc rotulada	Fecha de Emisión	: 11/09/2017
Identificación de la Muestra	: 01 TREBOL	Cod.FQ Interno muestra	: 24983

ENSAYO

DETERMINACIÓN DE TANINOS

METODO

(ISO 9648:1988 Sorghum- Determination of Tannin Content)

**RESULTADOS**


FQ LAB	CODIGO
24983	01 TREBOL

ANÁLISIS	RESULTADO
Tannins, as Tannic Acid (%)	1.33


**NOTAS:**

- \* Los resultados de este Informe son válidos sólo para la muestra analizada.
- \* Los resultados reportados en este informe de ensayo proceden de muestras porporcionadas por el Cliente. El laboratorio no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas.
- \* Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce.
- \* El tiempo de vigencia de este informe es de 45 días calendario, a partir de la fecha de emisión del informe de ensayo.

Atte.



**María Jaime Espinoza**  
Gerente de Calidad  
CIP 63137



---

Ca. Enrique Pallardelli 346 - Comas, Lima / Telf. (511) 637 6360 / 637 6361 / RPC: (511) 946 480 883 / 993 585 265  
laboratorio@mql.com.pe / www.mql.com.pe

## Anexo 21

Figura 18. Certificado de Análisis de concentración de ácido tánico de muestra de trébol rojo variedad Kendland.



**MQL**  
MANAGEMENT OF QUALITY ASSURANCE  
AND SERVICES LABORATORIES S.A.C.

### INFORME DE ENSAYO

#### Nro. 14517/17

Análisis Solicitado por	: Carlos Estupiñan	Peso de muestra	: 43 grs.
Solicitud de Ensayo	: Carlos Estupiñan	Cantidad de muestras	: 1
Producto descrito como	: TREBOL	Fecha de Recepción	: 21/08/2017
Procedencia	: Lima	Fecha de Ensayo	: 21/08/2017
Observaciones Recepción	: Doble bolsa ziploc rotulada	Fecha de Emisión	: 11/09/2017
Identificación de la Muestra	: 02 TREBOL	Cod.FQ Interno muestra	: 24984

ENSAYO	MÉTODO
DETERMINACIÓN DE TANINOS	(ISO 9648:1988 Sorghum- Determination of Tannin Content)

**RESULTADOS**

FQ LAB	CODIGO
24984	02 TREBOL

ANÁLISIS	RESULTADO
Tannins, as Tannic Acid (%)	2.33

**NOTAS:**

- \* Los resultados de este Informe son válidos sólo para la muestra analizada
- \* Los resultados reportados en este informe de ensayo proceden de muestras proporcionadas por el Cliente. El laboratorio no es responsable del origen o fuente de la cual las muestras han sido tomadas.
- \* Los resultados de los ensayos no deben ser utilizados como una certificación de conformidad con normas de producto o como certificado del sistema de calidad de la entidad que lo produce
- \* El tiempo de vigencia de este informe es de 45 días calendario, a partir de la fecha de emisión del informe de ensayo.

Atte.



**Maria Jaime Espinoza**  
Gerente de Calidad  
CIP 63137



---

Ca. Enrique Pallardelli 346 - Comas, Lima / Telf. (511) 637 6360 / 637 6361 / RPC: (511) 946 480 883 / 993 585 265  
laboratorio@mql.com.pe / www.mql.com.pe

