

**EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN DE POLI-FENOLES TOTALES Y  
TANINOS CONDENSADOS EN LAS HOJAS DE LA PLANTA *Mussaenda  
erythrophylla* PARA EL USO COMO ALTERNATIVA EN LA ALIMENTACIÓN  
BOVINA**

**SERGIO MAURICIO BERMUDEZ GUEVARA  
MARÍA CAMILA CALDERÓN JIMÉNEZ**

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES  
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL  
VILLAVICENCIO-META  
2021**

**EVALUACIÓN DE LA COMPOSICIÓN Y CONCENTRACIÓN DE POLI-  
FENOLES TOTALES Y  
TANINOS CONDENSADOS EN LAS HOJAS DE LA PLANTA *Mussaenda*  
*Erythrophylla* PARA EL USO COMO ALTERNATIVA EN LA ALIMENTACIÓN  
BOVINA**

Trabajo de grado para optar por el título de Ingeniero Agroindustrial.

**SERGIO MAURICIO BERMUDEZ GUEVARA  
MARÍA CAMILA CALDERÓN JIMÉNEZ**

Director:  
**LUIS GILBERTO LÓPEZ MUÑOZ**  
Ingeniero Agroindustrial  
Msc Estudios de desarrollo local.

**UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS  
FACULTAD DE CIENCIAS AGROPECUARIAS Y RECURSOS NATURALES  
PROGRAMA DE INGENIERIA AGROINDUSTRIAL  
VILLAVICENCIO-META  
2021**

## **AUTORIZACIÓN**

“Los autores autorizan a la universidad de los llanos la reproducción total o parcial de este documento, con la debida cita de reconocimiento de la autoría y cede a la misma universidad los derechos patrimoniales con fines de investigación, consagrados en el artículo 72 de la ley 23 de 1982 y las normas que lo instituyan o modifican”

---

SERGIO MAURICIO BERMUDEZ GUEVRA  
Código 117003505

---

MARIA CAMILA CALDERON JIMENEZ  
Codigo.117003508

Nota de aceptación Jurado 1

---

---

---

Nota de aceptación Jurado 2

---

---

---

---

Director Luis Gilberto López Muñoz  
Ingeniero Agroindustrial  
MsC. Estudios en Desarrollo Social

---

Jurado María Alejandra Cruz Domínguez  
Ingeniera Agroindustrial

---

Jurado Oscar Iván Vargas Pineda  
Ingeniero Agroindustrial

Villavicencio, \_\_\_\_\_ del año 2021.

## **DEDICATORIA**

### **A Dios.**

*Por haberme permitido llegar hasta este punto y haberme dado salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.*

### **A mis padres.**

*Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien, por los ejemplos de perseverancia y constancia que lo caracterizan y que me ha infundado siempre, por el valor mostrado para salir adelante y por su amor.*

### **A mi hermano.**

A mi hermano Manuel por ser el ejemplo de hermano mayor y del cual aprendí aciertos y de momentos difíciles, por siempre haber estado en este proceso junto a mí.

**María Camila Calderón Jiménez**

### **A Dios.**

*Por haberme brindado la salud, sabiduría, fortaleza y compañía necesaria para poder llevar a cabo todas estas actividades satisfactoriamente y no dejarme bajar los brazos o desfallecer en algún momento del proceso.*

### **A mi familia.**

*Quienes fueron mi fortaleza y compañía terrenal durante esta etapa, los cuales estuvieron dándome la mano cada vez que fue necesario, y dándome los ánimos que me incentivaban a seguir a delante.*

**Sergio Mauricio Bermúdez Guevara**

## **AGRADECIMIENTOS**

Gracias a la Universidad de los Llanos por la formación ética e integra que me han brindado, por los conocimientos que me han compartido durante todo este tiempo a través de sus licenciados y maestros que de alguna u otra manera han aportado algo muy importante en mi como persona.

A todos los funcionarios, administrativos y empleados de la universidad que directa o indirectamente facilitaron e hicieron más agradable mí estadía en el centro educativo.

A toda mi familia gracias por el apoyo brindado durante este proceso ya que sin la compañía de ellos todo esto no hubiese sido fácil lograrlo.

**Sergio Mauricio Bermúdez Guevara y María Camila Calderón Jiménez**

## TABLA DE CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	11
<b>ABSTRACT</b> .....	11
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	13
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	15
2.1 OBJETIVO GENERAL .....	15
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	15
<b>3. MARCO TEORICO</b> .....	16
3.1 PROPIEDADES DE CULTIVO PARA LA <i>MUSSAENDA ERYTHROPHYLLA</i> .....	17
Temperatura: .....	17
Luminosidad: .....	17
Suelo:.....	17
Riego: .....	17
3.2 NECESIDADES NUTRICIONALES PARA LA ALIMENTACIÓN BOVINA .....	19
3.2.1 Carbohidratos: .....	20
3.2.2 Proteínas:.....	20
3.2.3 Grasas: .....	21
3.2.4 Minerales: .....	21
3.2.4.1 Funciones generales de los minerales dentro del organismo:.....	21
3.2.5 Vitaminas: .....	22
3.2.6 Fibra:.....	22
3.3 METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS, PROTEÍNAS Y LÍPIDOS QUE INTERFIEREN EN LA ALIMENTACIÓN BOVINA.....	22
3.3.1 Metabolismo de los carbohidratos: .....	23
3.3.2 Metabolismo de las proteínas: .....	24
3.3.3 Metabolismo de los lípidos:.....	24
3.3.4 Metabolismo de las energías: .....	25
3.3.4.1 Energía bruta: .....	26
3.3.4.2 Energía digestible: .....	26
3.3.4.3 Energía metabolizable: .....	26
Energía neta: .....	26
3.4 ANALISIS DE DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS .....	27
3.4.1 Método Ácido Sulfúrico- Fenol.....	27

3.5	ANÁLISIS DE DETERMINACIÓN DE PROTEINAS .....	28
3.5.1	Método de Kjeldahl .....	28
3.6	ANALISIS DE DETERMINACIÓN DE LIPIDOS .....	29
3.6.1	Extracción de Soxhlet: .....	29
3.7	EVALUACIÓN DE LA HUMEDAD Y CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN MEDIANTE UN HORNO CONVENCIONAL .....	31
3.7.1	Horno Convencional: .....	31
3.7.2	Secado de las plantas:.....	32
3.7.3	Humedad .....	32
3.7.4	Cinética de deshidratación.....	33
3.8	ANALISIS DEL CONTENIDO DE CENIZAS MEDIANTE UNA MUFFLA. ....	34
3.8.1	Mufla .....	35
3.9	POLIFENOLES .....	36
3.9.1	Lixiviación .....	42
3.9.2	Etanol.....	42
3.9.3	Butanol:.....	44
<b>4.</b>	<b>METODOLOGIA.....</b>	<b>47</b>
4.1	LOCALIZACION.....	47
4.2	MATERIALES Y MÉTODOS.....	47
4.2.1	Materias primas .....	47
4.2.2	Equipos.....	47
4.2.3	Reactivos .....	47
4.3	TIPO DE INVESTIGACION .....	47
4.4	PROCEDIMIENTOS .....	48
4.4.1	Análisis proximal de la composición elemental de la hoja de <i>Mussaenda erythrophylla</i> . ....	48
4.4.1.1	Determinación de Carbohidratos .....	48
4.4.1.1.1	Preparación de la muestra .....	48
4.4.1.1.2	Preparación de la curva de calibración a partir de las soluciones de calibración de glucosa .....	48
4.4.1.1.3	Determinación de Carbohidratos totales en la muestra .....	49
4.4.1.2	Determinación de proteínas: .....	49
4.4.1.2.1	Preparación y digestión de la muestra .....	49
4.4.1.2.2	Preparación de la curva de calibración .....	49
4.4.1.2.3	Determinación de proteínas totales en la muestra .....	49
4.4.1.3	Determinación de humedad y cenizas .....	49
4.4.1.4	Extractos no nitrogenados (ENN): .....	50
4.4.1.5	Fibra cruda: .....	51
4.4.1.6	Nutrientes digeribles totales: .....	51

4.4.1.7	Energía bruta: .....	52
4.4.1.9	Energía metabolizable: .....	52
4.4.1.10	Análisis estadístico.....	53
4.4.2	Determinación de polifenoles totales y taninos condensados en un extracto de <i>Mussaenda erythrophylla</i> mediante soxhlet. ....	53
4.4.2.1	Extracción: .....	53
4.4.2.2	Determinación .....	53
4.4.2.3	Poli fenoles totales .....	53
4.4.2.3.1	Preparación de la muestra .....	53
4.4.2.3.2	Preparación de reactivos estándar: .....	54
4.4.2.3.3	Otros reactivos: .....	54
4.4.2.3.4	Preparación de las diluciones del estándar .....	54
4.4.2.3.5	Reacción colorimétrica: .....	55
4.4.2.3.6	Cálculos: .....	55
4.4.3	Valoración de que solvente reduce el contenido de poli fenoles totales y taninos condensados en la <i>Mussaenda Erythrophylla</i> a niveles óptimos para una alimentación bovina.55	
4.4.3.1	Taninos condensados .....	55
4.4.3.1.1	Reactivos .....	56
4.4.3.1.2	Procedimiento .....	56
4.5	DISEÑO EXPERIMENTAL .....	57
4.5.1.	Variables Independientes .....	57
4.6	ANALISIS ESTADISTICOS .....	57
4.6.1	Hipótesis de la investigación.....	58
4.6.1.1	Hipótesis nula.....	58
4.6.1.2	Hipótesis alternativa:.....	58
4.6.2	Variables de respuesta .....	58
4.6.2.1	Rendimiento en la reducción de poli fenoles .....	58
4.6.2.2	Rendimiento en la reducción de taninos .....	58
<b>5</b>	<b>RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b> .....	<b>59</b>
5.1	DETERMINACIÓN MEDIANTE UN ANÁLISIS PROXIMAL LA COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LA <i>Mussaenda Erythrophylla</i> .....	59
5.2	VALORACION DE LA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES Y TANINOS EN LA <i>Mussaenda erythrophylla</i> MEDIANTE EXTRACCIONES QUÍMICAS.....	62
5.2.1	Cinética de deshidratación.....	62
5.2.2	Extracción sólido-líquida .....	63
5.2.3	Determinación de Taninos (Etanol) .....	64
5.2.4	Determinación de Poli fenoles (Etanol).....	65
5.3	Valoración de que solvente reduce el contenido de poli fenoles totales y taninos condensados en la <i>Mussaenda Erythrophylla</i> a niveles óptimos para una alimentación bovina 66	

5.3.1	Determinación de poli fenoles y taninos en las muestras recolectadas a partir de la destilación con Metanol como solvente .....	66
5.3.1.1	Determinación de Taninos (Metanol) .....	66
5.3.1.2	Determinación de Poli fenoles (Metanol) .....	66
5.3.2	Determinación de polifenoles y taninos en las muestras recolectadas a partir de la destilación con Butanol como solvente .....	66
5.3.2.1	Determinación de Taninos (Butanol).....	66
5.3.2.2	Determinación de Poli fenoles (Butanol).....	67
5.4	ANÁLISIS ESTADÍSTICOS .....	68
<b>6</b>	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>70</b>
	<b>BIBLIOGRAFIA</b> .....	<b>71</b>
	<b>ANEXOS</b> .....	<b>75</b>

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Resultados De Ganancia De Peso Vivo En Diferentes Ensayos Realizados En La Universidad Autónoma De Sinaloa, Méjico Y La Universidad De California, Eeuu Y Publicados En Distintos Congresos De Am. Soc. Of Anim. Sci. (Asas).....	38
Tabla 2. Efectos De Los Poli Fenoles En La Dieta Sobre La Digestión De Rumiantes. ....	39
Tabla 3. Preparación De Las Diluciones Estándar. ....	54
Tabla 4. Resultados De Las Pruebas De Análisis Proximal. ....	59
Tabla 5. Datos Obtenidos De La Muestra En El Horno. ....	62
Tabla 6. Resultados De Absorbancia Determinación De Taninos.....	64
Tabla 7. Resultados De Absorbancia Determinación De Polifenoles. ....	65
Tabla 8. Resultados De Absorbancias De Determinación De Taninos. ....	66
Tabla 9. Resultados De Absorbancias De Determinación De Poli Fenoles. ....	66
Tabla 10. Resultados De Absorbancias De Determinación De Taninos. ....	66
Tabla 11. Resultados De Absorbancias De Determinación De Poli Fenoles .....	67
Tabla 14. Prueba Tukey De Los Diferentes Solventes En La Reducción De Concentraciones De Taninos Condensados.....	67
Tabla 15. Prueba Tukey De Los Diferentes Solventes En La Reducción De Concentraciones De Polifenoles Totales.....	68
Tabla 12. Anova De Los Datos Obtenidos En La Concentración De Polifenoles A Diferentes Solventes. ....	69
Tabla 13. Anova De Los Datos Obtenidos En La Concentración De Taninos A Diferentes Solventes. ....	69

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. <i>Mussaenda Erythrophylla</i> .....	16
Figura 2. Principales Nutrientes Para Una Buena Alimentación Bovina Y Sus Funciones.....	19
Figura 3. Metabolismos De Los Nutrientes Que Interfieren En La Alimentación Bovina. ....	25
Figura 4. Método Ácido Sulfúrico-Fenol. ....	28
Figura 5. Reacciones Dadas En El Método De Kjeldahl. ....	29
Figura 6. Método De Kjeldahl Análisis De Proteínas.....	29
Figura 7. Equipo Utilizado Para La Extracción De Soxhlet.....	30
Figura 8. Horno Convencional.....	31
Figura 9. <i>Mussaenda Erythrophylla</i> .....	33
Figura 10. Descripción De La Deshidratación Osmótica. ....	34
Figura 11. Determinación De Cenizas Mediante Una Mufla.....	34
Figura 12. Mufla. ....	36
Figura 13. Estructura Química De Los Polifenoles.....	36
Figura 14. Histograma Resultados De Ganancia De Peso Vivo En Diferentes Ensayos Realizados En La Universidad Autónoma De Sinaloa, Méjico Y La Universidad De California, Eeuu Y Publicados En Distintos Congresos De Am. Soc. Of Anim. Sci. (Asas).....	38
Figura 15. Mecanismo De Acción Del Reactivo De Folin-Ciocalteu. ....	40
Figura 16. Ácido Gálico. ....	41
Figura 17. Tarjeta De Emergencia Reactivo Folin-Ciocalteu.....	41
Figura 18. Propiedades Físicas Y Químicas Del Reactivo Folin-Ciocalteu. ....	41
Figura 19. Estructura Química Del Etanol. ....	43
Figura 20. Tarjeta De Emergencia Del Etanol. ....	43
Figura 21. Características Del Reactivo Butanol. ....	44
Figura 22. Estructura Química Del Butanol. ....	44
Figura 23. Tarjeta De Emergencia Del Reactivo Butanol. ....	46
Figura 24. Extracción Sólido-Líquida.....	64

## LISTA DE ECUACIONES

Ecuación 1. Determinación Del Contenido De Humedad.....	50
Ecuación 2. Análisis De Contenido De Cenizas.....	50
Ecuación 3. Determinación Porcentaje De Extractos No Nitrogenados (Enn). ....	51
Ecuación 4. Determinación Porcentaje De Fibra Cruda.....	51
Ecuación 5. Determinación De Nutrientes Digestibles Totales.....	51
Ecuación 6. Determinación De Energía Digestible.....	52
Ecuación 7. Determinación De Energía Metabolizable .....	52
Ecuación 8. Determinación De Porcentaje De Taninos.....	56

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Prueba De Shapiro Wilk De La Concentración De Polifenoles. ....	75
Anexo 2. Prueba De Shapiro Wilk De La Concentración De Taninos. ....	75
Anexo 3. Prueba De Igualdad De Varianzas: Concentración De Polifenoles Vs Solvente. ....	76
Anexo 4. Prueba De Igualdad De Varianzas: Concentración De Taninos Vs Solvente. ....	77

## RESUMEN

La alimentación bovina es uno de los aspectos fundamentales en el aporte de energía y nutrientes esenciales para el bienestar del animal, por ende, en Colombia a diario se plantean nuevas alternativas que ayuden a suplir esta demanda. Por esta razón esta investigación tuvo como objetivo evaluar la composición y concentración de polifenoles totales y taninos condensados en las hojas de la planta *Mussaenda Erythrophylla* para el uso de esta como suplemento en la dieta alimentaria de los bovinos, basados en un análisis proximal de la planta en el cual se evaluaron proteínas, lípidos, humedad, cenizas, fibra y carbohidratos. Para ello el análisis de proteínas se llevó a cabo mediante el método de kjeldahl arrojando valores de 10.03%, para el análisis de lípidos se realizó bajo la extracción soxhlet arrojando 3,046% de resultado final de extracto etéreo, en un horno convencional se evaluó la humedad de la planta el cual arrojó una HI (humedad inicial) de 63,1% pero después de realizar el secado se obtuvo una HF (humedad final) de 0.153%; mediante una mufla se analizó las cenizas de la *Mussaenda* con un valor del 8,1%. La fibra analizada fue el dato más relevante con valores de 15,1% en la muestra. Además de la concentración de poli-fenoles utilizando el reactivo Folin-Ciocalteu y modelamiento matemático se obtuvo concentraciones de hasta 195,5 µg AGE/mL y la extracción de taninos condensados basados en Terrill usando reactivos como vainillina, Butanol/HCL y Caquetina nos mostraron concentraciones de hasta 9,2% (0.0921) de contenido de taninos. Posteriormente, se realizó un análisis por medio de una lixiviación en donde se evaluó dos tipos de solventes el Metanol y el butanol para la reducción de poli fenoles y/o taninos en la hoja de *Mussaenda Erythrophylla* dando al butanol como el más efectivo para la reducción de estos metabolitos secundarios, llevándolos a niveles y concentraciones de 81,432 µg AGE/mL y 6% (0.0644) respectivamente, por ende basados en los resultados obtenidos la *Mussaenda Erythrophylla* debe ser tratada químicamente para el uso como suplemento en la dieta alimentaria de los bovinos, ya que esta sin un previo tratamiento no cumplirá los parámetros necesarios establecidos como lo son concentración de taninos por debajo del 7% y polifenoles por debajo de 100 µg AGE/mL para la utilización de esta.

Palabras Claves: *Mussaenda erythrophylla*, taninos, polifenoles, lixiviación, bovinos, metabolitos.

## ABSTRACT

Bovine feeding is one of the fundamental aspects in the contribution of energy and essential nutrients for the well-being of the animal, therefore, in Colombia new alternatives are proposed daily to help meet this demand. For this reason, this research aimed to evaluate the composition and concentration of total polyphenols and condensed tannins in the leaves of the *Mussaenda Erythrophylla* plant for its use as a supplement in the diet of bovines, based on a proximal analysis of the plant

in which proteins, lipids, moisture, ash, fiber and carbohydrates were evaluated. For this, the protein analysis was carried out by the kjeldahl method yielding values of 10.03%, for the lipid analysis it was carried out under the soxhlet extraction yielding 3.046% of the final result of ethereal extract, in a conventional oven the humidity was evaluated the plant where a HF (initial humidity) of 63.1% was obtained but after drying, a HF (final humidity) of 0.153% was obtained; By means of a muffle, the ashes of the *Mussaenda* were analyzed with a value of 8.1%. The fiber analyzed was the most relevant data with values of 15.1% in the sample. In addition to the concentration of polyphenols using the Folin-Ciocalteu reagent and mathematical modeling, there are concentrations of up to 195.5  $\mu\text{g AGE / mL}$  and the extraction of condensed tannins based on Terrill using reagents such as vanillin, Butanol / HCL and Caquetina, as the main concentrations, concentrations up to 9.2% (0.0921) of tannin content. In addition, an analysis was carried out by means of a leaching where two types of solvents were evaluated: Methanol and butanol for the reduction of polyphenols and / or tannins in the *Mussaenda Erythrophylla* leaf, giving butanol as the most effective for the reduction. of these secondary metabolites, bringing them to levels and concentrations of 81,432  $\mu\text{g AGE / mL}$  and 6% (0.0644) respectively, therefore based on the results obtained, *Mussaenda Erythrophylla* must be chemically treated for use as a supplement in the diet of cattle. , since this without a previous treatment will not fulfill the established parameters such as tannin concentration below 7% and polyphenols below 100  $\mu\text{g AGE / mL}$  for the use of this.

Key Words: *Mussaenda erythrophylla*, tannins, polyphenols, leaching, cattle, metabolites.

## 1. INTRODUCCIÓN

La realización de este trabajo socorre necesidades diarias de diferentes sectores, como lo son el sector ganadero y el agropecuario. Teniendo en cuenta que el campo de acción para trabajar y desarrollar estas problemáticas es directamente agroindustrial, se ve la necesidad de realizar un proyecto de investigación partiendo de la alimentación bovina como base fundamental, y de la cual se desprenden ciertos análisis y actividades que nos competen a nosotros como ingenieros agroindustriales.

MEDEROS<sup>1</sup> dice que “Las plantas del género *Mussaenda* se caracterizan por ser arbustivas, árboles pequeños o arbustos trepadores. Se distribuyen fundamentalmente en regiones (áreas tropicales) de Asia, África e islas del Océano Pacífico. La mayoría de las especies poseen una tasa de crecimiento elevada y gracias a esta propiedad, se han utilizado como plantas decorativas en diferentes regiones del mundo”.

La alimentación bovina a nivel de forrajes, es siempre estudiada minuciosamente ya que de allí se deriva la producción y salud de los bovinos, por eso los costos que se llevan a cabo en la alimentación básica de los animales son bastantes altos. Día a día se están buscando alternativas de nutrición que logren satisfacer las necesidades del bovino y que a su vez mejore la rentabilidad de los productores, es allí donde se toman especies como en este caso la *Mussaenda Erythrophylla* con costos de producción bajos.

Sudamérica por sus climas tropicales de igual manera hace que la producción de la planta sea abundante y se dé de manera muy sencilla según dice PUCCIO<sup>2</sup>, es decir con unos requerimientos muy mínimos para su florecimiento, pero la poca atención que se le da a la planta hace que no sea una región productora tenida en cuenta. La *Mussaenda Erythrophylla* corresponde a una de las especies comerciales de la *Mussaenda* como lo indica GIL<sup>3</sup>; es una especie profusamente difundida y apreciada en las regiones tropicales y subtropicales, requiere una exposición a pleno sol y una elevada humedad ambiental y del sustrato, que debe ser arenoso, rico en humus y drenante; necesita oportunas podas para mantener una forma compacta.

Fuera de las zonas de clima tropical y subtropical, se debe cultivar en invernadero cálido-húmedo según dice PUCCIO<sup>4</sup>. Por los requerimientos que esta tiene para su crecimiento cabe resaltar que es la especie de *Mussaenda* que mayoritariamente

---

<sup>1</sup> MEDREROS, Karel, plantas del genero *Mussaenda*, Naturaleza tropical, 2015, p 1.

<sup>2</sup> PUCCIO, Prieto, Requerimientos edafoclimáticos de especies de *Mussaenda*, 1970, p 16.

<sup>3</sup> GIL, María, Propagación de *Mussaenda erythrophylla*, universidad Arturo Prat, 2012, p 18.

<sup>4</sup> PUCCIO, Prieto, Requerimientos edafoclimáticos de especies de *Mussaenda*, 1970, p 16.

se produce en los llanos orientales, donde siguiendo con la cultura no se le da mayor interés a esta planta, no se trabaja en su producción y mucho menos se trabaja con la planta en procesos agroindustriales.

Como se sabe los productores ganaderos y agropecuarios siempre van en busca de los mejores productos para alimentación de sus animales; ya sean ensilajes, follajes y hasta suplementos, pero además de esto quieren demandar precios bajos para su adquisición, que en un país como Colombia es difícil de conseguir, ya que la mayoría de productos solicitados por el sector son importados de otros países. De esta manera y determinando la *Mussaenda Erythrophylla* óptima para el consumo animal reduciría significativamente los costos e impuestos e impulsaría a la región en la producción de alimentación bovina a partir de esta materia prima.

Los fenoles o poli fenoles son compuestos tóxicos presentes en algunas plantas. Dentro de este grupo, los taninos condensados son los más perjudiciales, desde el punto de vista nutricional, porque reducen el crecimiento y la digestibilidad de la proteína y los aminoácidos dentro del animal según dice el INSTITUTO NACIONAL TECNOLÓGICO<sup>5</sup>. Para la extracción de poli fenoles y taninos se llevan a cabo diferentes metodologías y procedimientos, por lo tanto, aunque uno pertenezca al otro actúan totalmente diferente. Por lo tanto, identificar una concentración óptima y aceptada de poli fenoles y taninos en la *Mussaenda Erythrophylla* para la alimentación de bovinos, aumentaría significativamente el aprovechamiento de este cultivo que se da muy fácilmente y a su vez estimularía más estudios y la transformación de este mismo cultivo de *Mussaenda Erythrophylla*.

---

<sup>5</sup> INSTITUTO NACIONAL TECNOLÓGICO, Manual de nutrición animal, 2016.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la composición de polifenoles totales y taninos condensados en las hojas de la planta *Mussaenda Erythrophylla* para el uso como alternativa en la alimentación bovina.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Determinar mediante un análisis proximal la composición elemental de la hoja de *Mussaenda erythrophylla*.
- Valorar la determinación de poli fenoles totales y taninos condensados en un extracto de *Mussaenda erythrophylla* mediante soxhlet.
- Establecer que solvente reduce el contenido de poli fenoles totales y taninos condensados en la *Mussaenda Erythrophylla* a niveles óptimos para una alimentación bovina.

### 3. MARCO TEORICO

“La *Mussaenda Erythrophylla* es un género que posee alrededor de 200 especies, caracterizada por ser arbustivas, árboles pequeños o arbustos trepadores. Se distribuyen fundamentalmente en regiones (áreas tropicales) de Asia, África e islas del Océano Pacífico”.<sup>6</sup>

“Estas especies poseen una tasa de crecimiento elevada que pueden alcanzar más de 10 metros de altura (en contenedores o macetas solo alcanzan unos 3 metros o menos) y se han podido registrar estos avistamientos en su hábitat natural”.<sup>7</sup>

Estas plantas poseen hojas perennes, anchas y tienen forma elipsoide (10-12 cm) que poseen un color verde brillante (ver figura 1), sus flores son muy pequeñas (algunas flores que hemos podido apreciar poseen colores intensos) además poseen 5 lóbulos que se extienden en su región más distal y se pueden encontrar de colores diversos (blancas, amarillas, naranjas, salmón, rojas y matices de colores combinados), estas se originan a partir del tallo formando racimos terminales. Lo más atrayente de estas plantas son los coloridos sépalos (no son brácteas) que acompañan las flores, se pueden encontrar sépalos de color blanco, crema, rosados, rojos y amarillos.<sup>8</sup>

**Figura 1.** *Mussaenda Erythrophylla*.



---

<sup>6</sup> FRANKE, Susana, *Mussaenda erythrophylla*, Revista Journalist-Scientific, 2007, p. 2.

<sup>7</sup> *Ibíd.* p. 2.

<sup>8</sup> *Ibíd.* p. 2.

**Fuente:** FRANKE, Susana, *Mussaenda erythrophylla*, Revista Journalist-Scientific, 2007.

### 3.1 PROPIEDADES DE CULTIVO PARA LA *MUSSAENDA ERYTHROPHYLLA*

Estas plantas crecen en áreas tropicales en las cuales se deben tener en cuenta propiedades como:

**Temperatura:** Para cultivar estos arbustos deben estar en ambientes cálidos (favorece el crecimiento) y muy ventilados, a temperaturas superiores a los 30°C, evitando temperaturas por debajo de los 15°C.

**Luminosidad:** Estas especies soportan el contacto directo con la luz solar, pero es necesario ubicarlas en lugares donde la luz solar llegue en un periodo pequeño del día (3-5 horas).

**Suelo:** Los suelos deben ser húmedos y bien drenados, con un pH aproximadamente neutro, enriqueciéndose cada 15-30 días con materia orgánica.

**Riego:** El riego de esta especie debe ser moderado-abundante en dependencia de la estación, en donde en verano se deberá aumentar el riego y disminuir en invierno (solo 2 veces a la semana preferiblemente).<sup>9</sup>

A través del tiempo las cadenas productivas ganaderas reorganizan y combina diferentes estrategias que les disminuya gastos, costos, impactos socio-ambientales en los diferentes terrenos por el uso de compuestos químicos que alteren las propiedades del suelo implementan como alternativa la utilización de estas plantas forrajeras para la alimentación bovina evaluando su composición que les aporte a la calidad de productividad y reproducción.

De acuerdo con un reciente estudio publicado en la revista 'Actas de la Academia Nacional de la Ciencia' ('Proceedings of the National Academy of Sciences', en inglés), de Estados Unidos, "los sistemas mixtos en los forrajes para los ganados son el futuro de esta actividad productiva, explicando que los productores bovinos del mundo podrían obtener resultados más rentables si en la dieta de sus

---

<sup>9</sup> ALMEIDA, Jacqueline, Propagación invitro de la Mussaenda, Revista Científica de América Latina, Caribe, España y Portugal, 2010, p. 38.

semovientes utilizaran hierbas y alimentos de mayor calidad, en lugar de los modelos clásicos basados únicamente en las pasturas”<sup>10</sup>.

Como dice la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), “la ganadería y sus efectos medioambientales, cobra importancia mayor al considerar la gran extensión de tierras dedicadas a esta actividad: alrededor del 27%<sup>1</sup> de la superficie total de tierras del planeta se dedica a pastizales. En el caso específico de Colombia este porcentaje es aún mayor: aproximadamente 35%”.<sup>11</sup>

El manejo que se dé a la ganadería, tendrá por lo tanto enormes consecuencias (positivas o negativas) sobre los recursos naturales y la problemática ambiental del planeta. El manejo ganadero tradicional en Colombia y en gran parte del planeta se ha basado únicamente en pasturas gramíneas, establecidas en muchos casos en terrenos anteriormente ocupados por selvas y bosques de diverso tipo. Puede afirmarse que en términos generales este modelo ganadero convencional con base únicamente en pastos ocasiona un proceso progresivo de degradación ambiental, que afecta la fertilidad de los suelos y otros recursos naturales como agua y biodiversidad.<sup>12</sup>

Tradicionalmente los sistemas de producción bovina en el trópico, se han basado en pastoreo de gramíneas en monocultivo, ya sea con pasturas nativas o pastos mejorados, los cuales se caracterizan por tener un alto contenido de fibra y bajo aporte de proteína, principalmente en trópico bajo. Este esquema de producción se consideró por décadas como la forma ideal de obtener buenos resultados de la pastura y por ende de los animales que hacían uso de ella. Con el paso del tiempo nuevas tecnologías con una visión futurista-conservacionista han ido tomando fuerza entre técnicos y productores. Entre estas nuevas tecnologías se han ido afianzando los sistemas silvopastoriles (SSP), que como se discute actualmente con apoyo de múltiples resultados positivos, es una alternativa que considera de una forma estrecha la interrelación suelo-planta-animal, reportándose resultados productivos y económicos atractivos, además de los múltiples efectos benéficos para el entorno, identificando una gran diversidad de especies con alto potencial forrajero en sistemas silvopastoriles, o como bancos de proteína en diferentes zonas y condiciones permitiendo concluir que el forraje de arbóreas y arbustivas presenta contenidos de materia seca y de proteína cruda mayores que los pastos.

---

<sup>10</sup> ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN 2010, p 8.

<sup>11</sup> CADAVID, Álvaro, Establecimiento de sistemas silvopastoriles, Federación Colombiana de Ganaderos FEDEGAN, 2013, p. 5-6.

<sup>12</sup>Ibid. p 5-6.

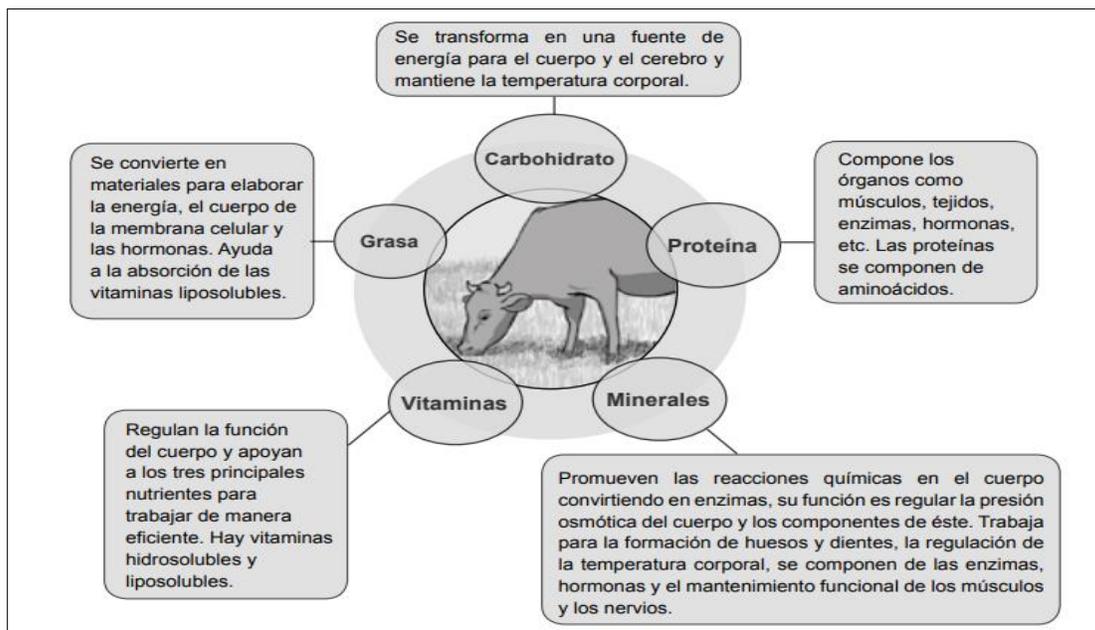
Sin embargo, el componente arbóreo y arbustivo, involucrado en estos sistemas, presenta amplios efectos en el marco nutricional de los bovinos, ya que en Colombia es el más propuesto y utilizado en la actividad alimenticia de los bovinos.

Sus efectos en el animal pueden ser variados, debido a la divergencia que se da en su composición, frente a las gramíneas. Esta diferencia se da, no solo a nivel de nutrientes primarios, sino también de metabolitos secundarios, también denominados FAN (factores anti nutricionales). Tradicionalmente, algunos metabolitos han sido considerados factores anti nutricionales, por sus efectos negativos sobre el proceso fermentativo a nivel ruminal o en general sobre el proceso digestivo en el tracto total. Pero los efectos dependen, en términos generales, del nivel de consumo. Considerando el espectro de las principales arbóreas y arbustivas tropicales (leguminosas y no leguminosas) con potencial en la alimentación de los bovinos, son diversos los metabolitos secundarios estudiados, taninos, saponinas, miosina, glucósidos cianogénicos, Fito estrógenos, entre otros.<sup>13</sup>

### 3.2 NECESIDADES NUTRICIONALES PARA LA ALIMENTACIÓN BOVINA

Los principales nutrientes que requieren los animales son elementos como proteínas, grasas, carbohidratos, vitaminas y minerales.

**Figura 2.** Principales nutrientes para una buena alimentación bovina y sus funciones.



<sup>13</sup> CARMONA, Juan Carlos, Efecto del uso de forraje de árboles y arbustos sobre la dinámica digestiva en bovinos, Revista Lasallista de Investigación, 2007, p 41.

**Fuente:** INSTITUTO NACIONAL TECNOLÓGICO, Manual de Nutrición, 2016.

### **3.2.1 Carbohidratos:**

“Los carbohidratos son sustancias importantes que se consumen como energía, se encuentran en los músculos en forma de glucógeno. Los carbohidratos en las plantas se presentan en forma de monosacáridos, disacáridos, almidones, celulosa y lignina. Las enzimas digestivas en los animales no pueden digerir la celulosa y la lignina, pero en el caso de los herbívoros, como las vacas y caballos; en el tracto digestivo los microorganismos funcionan para la descomposición y digestión de los alimentos”.<sup>14</sup>

Por lo tanto, los carbohidratos se clasifican en monosacáridos, disacáridos y polisacáridos. Un ejemplo de monosacárido es la glucosa, de disacárido la sacarosa, lactosa y de polisacáridos el almidón y el glucógeno.

Los carbohidratos estructurales de la planta son los mayores contribuyentes a los requerimientos de energía del rumiante en dietas bajo pastoreo. Como resultado hay un considerable interés en optimizar la tasa y la cantidad de digestión de la fibra por la microflora ruminal. La magnitud de estos procesos está mediatizada por la naturaleza de la pared celular vegetal, por las características de la población microbiana implicada en dichos procesos y por las condiciones del ambiente ruminal para favorecer o limitar estos procesos., los cuales se mejoran cuando las características nutricionales de la dieta son balanceadas en términos de nutrientes. Así, el incremento del aporte proteico en la dieta, ya sea de proteína degradable en rumen o sobre pasante, a través de forrajeras arbustivas y arbóreas, se considera una alternativa para mejorar los parámetros digestivos en dietas basadas en gramíneas tropicales.<sup>15</sup>

### **3.2.2 Proteínas:**

“La proteína es un compuesto que contiene nitrógeno, el principal componente del músculo y la sangre, son las sustancias más importantes para el organismo. La proteína de los alimentos se absorbe en forma de péptido amino y se re sintetiza a proteína en el cuerpo”.<sup>16</sup>

Los microorganismos de los animales rumiantes pueden utilizar nitrógeno no proteico (NPN) en el rumen sintetizándose una proteína bacteriana. Las

---

<sup>14</sup> UREÑA, Francisco, Digestión, absorción y metabolismo de los carbohidratos en mono gástricos y rumiantes, Archivos de Medicina Veterinaria, 2010, p.1.

<sup>15</sup> ROIGE, Bernardo, Efecto de algunos tóxicos de origen vegetal y fúngico en el rumen, Archivos de Medicina Veterinaria, 2007, p 6-10.

<sup>16</sup> INSTITUTO NACIONAL TECNOLÓGICO, Manual de nutrición animal, 2016, p 5.

proteínas se degradan en compuestos llamados aminoácidos, estos pueden ser sintetizados en el cuerpo, llamados aminoácidos esenciales y aminorificados no esenciales; en cambio los aminoácidos esenciales deben suministrarse a través de los alimentos. Existen alrededor de 10 tipos de aminoácidos esenciales los cuales son leucina, lisina, triptófano, valina, metionina, entre otras. El rumiante no necesita los aminoácidos esenciales porque los microorganismos del rumen producen la proteína bacteriana.<sup>17</sup>

### **3.2.3 Grasas:**

La grasa es una sustancia que se disuelve en un diluyente orgánico, pero es insoluble en agua, según el Instituto Nacional Tecnológico mediante una investigación es el nutriente que tiene 2.25 veces más energía que las proteínas y carbohidratos. Los excesos de carbohidratos se transforman en grasas. La energía no consumida en el cuerpo se almacena en forma de grasa visceral y subcutánea. La grasa juega un papel importante en la absorción de vitaminas solubles en grasa.<sup>18</sup>

### **3.2.4 Minerales:**

Los minerales son elementos excepto el nitrógeno, hidrógeno, oxígeno y carbono. En el cuerpo existen muchos minerales como Calcio (Ca) y Magnesio (Mg) que son los componentes principales en la formación de los huesos y dientes, así mismo el Potasio (K) y el Sodio (Na) participan en la regulación de la presión osmótica. Además, una porción mineral es un constituyente del cuerpo y también es responsable de la regulación del metabolismo y el mantenimiento funcional del mismo. En el cuerpo del animal se encuentra gran cantidad de minerales los cuales se agrupan en macro minerales (por que se requieren en mayor cantidad) y micro minerales o minerales traza, estos últimos los que son requeridos en menor cantidad por su efecto tóxico.<sup>19</sup>

#### **3.2.4.1 Funciones generales de los minerales dentro del organismo:**

- Conformación de la estructura ósea y dental (calcio, fósforo y magnesio).
- Equilibrio ácido-básico y regulación de la presión osmótica y consecuentemente, regulan el intercambio de agua y solutos dentro del cuerpo animal (Na, Cl y K).
- Sirven como constituyentes estructurales de tejidos blandos.
- Son esenciales para la transmisión de los impulsos nerviosos y para las contracciones musculares.

---

<sup>17</sup> Ibid. p. 5

<sup>18</sup> ORTEGA, Viviana. Carbohidratos y grasas, fuente de energía, El espectador, Bogotá, 2016. p 1.

<sup>19</sup> Ibid. p. 6

- Sistema enzimático y transporte de sustancias: sirven como constituyentes esenciales de muchas catálisis y como activadores enzimáticos (Zn, Cu, Fe y Se).<sup>20</sup>

### **3.2.5 Vitaminas:**

Según el Instituto Nacional tecnológico define las vitaminas como sustancias importantes que tienen participación en el metabolismo del organismo, “son un componente de coenzimas y enzimas que no pueden ser sintetizadas por el propio organismo, exceptuando las vitaminas del complejo B, que sí son sintetizadas por los microorganismos del rumen. Las vitaminas según su grado de solubilidad se clasifican en: vitaminas hidrosolubles (complejo B y vitamina C) y liposolubles (vitamina A, D, E, K) “.

“Las liposolubles tienen la particularidad de absorberse en conjunto con las grasas y las vitaminas hidrosolubles se disuelven en agua y suelen liberarse fácilmente con la orina, es por eso que siempre deben suministrarse”.<sup>21</sup>

### **3.2.6 Fibra:**

Es la parte no digerible de los alimentos que resiste la digestión y absorción en el intestino delgado y que experimenta una fermentación parcial o total en el intestino grueso. Está constituida por: celulosa, hemicelulosa y lignina. Desde el punto de vista nutricional y en sentido estricto, la fibra alimentaria no es un nutriente, ya que no participa directamente en procesos metabólicos básicos del organismo, además estimula la peristalsis intestinal. Según la composición se puede clasificar la fibra en: fibra verdadera, fibra dietética total y fibra bruta o cruda.<sup>22</sup>

## **3.3 METABOLISMO DE LOS CARBOHIDRATOS, PROTEÍNAS Y LÍPIDOS QUE INTERFIEREN EN LA ALIMENTACIÓN BOVINA.**

“La fuente de energía contenida en los componentes de alimentos para los animales son carbohidratos, proteínas y grasas. Estas sustancias se utilizan para el crecimiento y la producción pecuaria a través de complejos cambios químicos en el

---

<sup>20</sup> Ibíd. p 7.

<sup>21</sup> Ibíd. p. 5

<sup>22</sup> INSTITUTO NACIONAL TECNOLÓGICO, Manual de nutrición animal, 2016, p. 7.

cuerpo (ver figura 3). Esta serie de síntesis y reacciones químicas se llama metabolismo".<sup>23</sup>

Los protozoos, bacterias y hongos existentes en el rumen-retículo son los responsables de la digestión de la mayoría de los nutrientes, principalmente de los carbohidratos complejos de la pared celular de los vegetales. El tipo de dieta y el nivel energético y nitrogenado de la ración influyen en la concentración y composición de la fauna ruminal a través de la acción directa o indirecta sobre el pH y la tasa de pasaje del contenido ruminal.<sup>24</sup>

Además, estos microorganismos ruminales pueden metabolizar compuestos naturales tóxicos y transformarlos en sustancias inocuas que afecten el animal y puede causarle enfermedades.

De esta forma el rumen actúa como la primera barrera de defensa contra sustancias tóxicas. Por otra parte, los microorganismos ruminales pueden convertir sustancias inocuas en tóxicos perjudiciales para el organismo. Existen además sustancias que ejercen efectos tóxicos en la población microbiana ruminal, provocando efectos negativos sobre la capacidad funcional del rumen, son muchas las plantas que poseen metabolitos secundarios que tienen efectos bactericidas o bacteriostáticos, actuando como inhibidores de la digestión en rumiantes.<sup>25</sup>

### **3.3.1 Metabolismo de los carbohidratos:**

Los carbohidratos se descomponen por las enzimas digestivas como la amilasa y finalmente se convierten en monosacáridos como la glucosa, absorbiéndose de esta forma en el intestino delgado. La glucosa se utiliza para brindar energía a las células. El exceso de glucosa se almacena en el músculo y en el hígado en forma de glucógeno, o se almacena en las células de grasa de los órganos internos y la piel sintetizándose en triglicéridos.<sup>26</sup>

En los animales rumiantes la forma de sintetizar o degradar estos compuestos es por medio de microorganismos capaces de transformar carbohidratos en energía.

Los microorganismos en el rumen descomponen los carbohidratos para producir ácidos grasos inferiores, como ácido acético, ácido butírico y el ácido propiónico. El ácido graso inferior es absorbido por las vellosidades de la pared del rumen y se utiliza como fuente de energía para el ganado. En el ganado

---

<sup>23</sup> FRANZOLIN, Rodrigo, Evaluación de la población de protozoarios ciliados en el rumen, retículo y omaso y del tracto digestivo en bovinos alimentados en tres niveles de energía, Revista de la Facultad de Agronomía, 1998, p.58-63.

<sup>24</sup> Ibid. p. 59

<sup>25</sup> TAPIA, Martín, Efecto de algunos tóxicos de origen vegetal y fúngico en el rumen, Archivos de Medicina Veterinaria, 2000, p. 5-16.

<sup>26</sup> VAN SOEST, Pablo, Nutritional ecology of the ruminant, Cornell University Press, 2000, pg. 275.

vacuno, se dice que aproximadamente el 70% de la energía se obtiene de los ácidos grasos inferiores, por lo tanto, es importante establecer un ambiente activo de microorganismos del rumen para obtener una mejor capacidad del ganado.<sup>27</sup>

### **3.3.2 Metabolismo de las proteínas:**

En los animales mono gástricos la proteína bruta, por la acción de enzimas proteolíticas como pepsina o proteasa, se descompone en péptidos y aminoácidos de bajo peso molecular y se absorbe en el intestino delgado. Los aminoácidos absorbidos son transportados a los tejidos del cuerpo y las proteínas se sintetizan en las células de cada tejido, y estas proteínas constituyen músculos. Las proteínas sintetizadas se actualizan constantemente.<sup>28</sup>

“El exceso de aminoácidos y proteínas descompuestas se transforman en amoníaco, extracto libre de nitrógeno y ácido úrico sintetizado del amoníaco y este se excreta a través de la orina“<sup>29</sup>

Para el crecimiento de microorganismos en el rumen, se utiliza la proteína bruta como medio para que las bacterias sean capaces de realizar y transportar las proteínas necesarias para el ganado rumiante.

Las bacterias crecidas se transportan en el tracto gastrointestinal inferior junto con el alimento en movimiento peristáltico de los órganos digestivos, que se digieren y absorben por la acción de las enzimas digestivas del abomaso y demás órganos digestivos. Por lo tanto, para el ganado rumiante las bacterias son una fuente valiosa de proteínas, como la proteína microbiana. La proteína cruda que no ha sido utilizada por las bacterias en el rumen recibe la acción de las enzimas digestivas en el abomaso y siguientes órganos digestivos.<sup>30</sup>

### **3.3.3 Metabolismo de los lípidos:**

Según el Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria en los animales mono gástricos los lípidos se descomponen en ácidos grasos y glicerol por la lipasa secretada por la vesícula biliar y se absorben en el intestino delgado. Los ácidos grasos y glicerol absorbidos se sintetizan en triglicéridos en la pared del intestino delgado, se transportan por la sangre a las partes del cuerpo y se utiliza como energía. El exceso de triglicéridos se sintetiza en la grasa corporal. La energía de la

---

<sup>27</sup> Ibid. p 275.

<sup>28</sup> UREÑA, Francisco, Digestión, absorción y metabolismo de las materias nitrogenadas, Archivos de medicina Veterinaria y Zootecnia, 2010, p 1-10.

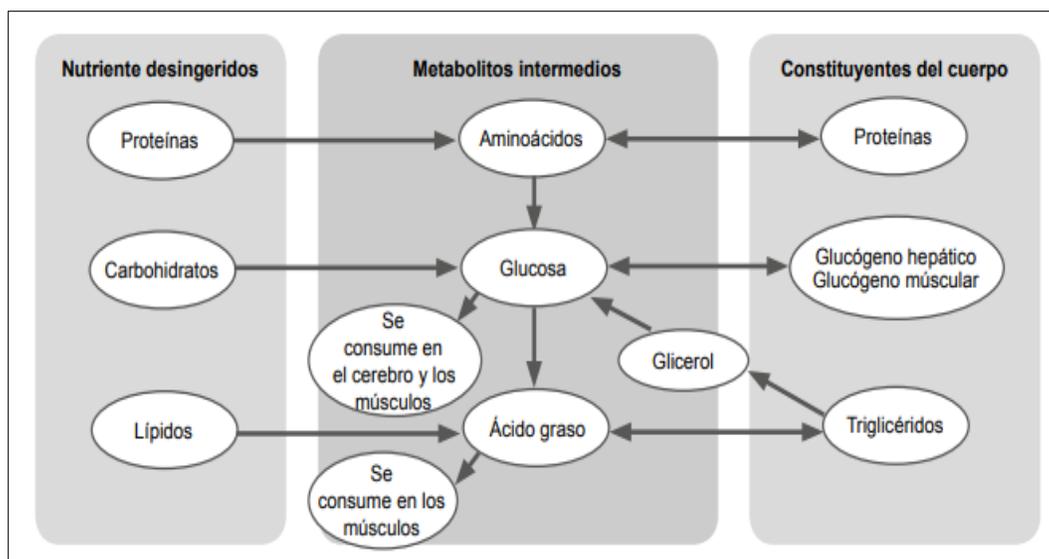
<sup>29</sup> Ibid. p 10.

<sup>30</sup> VAN SOEST, Pablo, Nutritional ecology of the ruminant, Cornell University Press, 2000, p. 275

grasa en comparación con otros nutrientes representa 2.25 veces de la cantidad de calor.

“En el caso de rumiantes, el metabolismo se lleva a cabo en un 90% en el rumen, produciendo ácidos grasos volátiles como acético, propiónico y butírico. El 10% restante se metaboliza en el intestino delgado por acción directa de la lipasa y bilis”.<sup>31</sup>

**Figura 3.** Metabolismos de los nutrientes que interfieren en la alimentación bovina.



**Fuente:** Manual de nutrición del Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria.

### 3.3.4 Metabolismo de las energías:

La energía encargada del movimiento del musculo es el ATP (Trifosfato de Adenosina) y es la encargada de crear la energía, la cual además de ser muy eficiente, después de crear la energía, se convierte en ADP (Difosfato de Adenosina) y produce agua. El ATP producido se utiliza para el crecimiento del ganado, la proliferación celular, la absorción y la concentración intracelular y la contracción muscular, pero la mayor parte de la energía se pierde como energía térmica. Una serie de procesos para consumir la energía por la producción del ATP convirtiendo nutrientes, se llama metabolismo energético.

<sup>32</sup>

<sup>31</sup> OSORIO, Henry, El metabolismo Lipídico Bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas, 2010, p. 57.

<sup>32</sup> Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria, Manual de Nutrición, pg.26, 2007.

Según el instituto nicaragüense de tecnología agropecuaria “la energía de alimentación que digiere y absorbe el ganado, produce diversas pérdidas antes de ser utilizada como fuente para el crecimiento y la producción de leche y carne; por lo tanto, la energía neta es menor que la energía ingerida”.<sup>33</sup>

El porcentaje del uso de la energía neta en comparación con la energía ingerida varía por la cantidad y el balance nutricional del consumo de alimento y también los cambios del ambiente de crianza del ganado.

**3.3.4.1 Energía bruta:** es la energía que se incluye en los alimentos digeridos.

**3.3.4.2 Energía digestible:** es la energía que el ganado puede digerir en los alimentos; y las porciones que no pueden ser digeridas, se excretan por medio de las heces.

**3.3.4.3 Energía metabolizable:** es aquella energía total contenida en los gases y la orina que se produce en su cuerpo dentro de la energía digestible.

**3.3.4.4 Energía neta:** es la energía metabolizable, se puede dividir en energía térmica generada en ese momento y la energía neta utilizada directamente al ganado. La energía neta se utiliza para la producción y el mantenimiento del cuerpo. Con el fin de calcular el alimento del ganado, son más utilizados los NDT (nutrientes digestibles totales), la energía digestible y la energía metabolizable de las cuales existe una amplia investigación.<sup>34</sup>

Se ha reportado que el valor nutritivo de los forrajes está determinado por su composición química. Pero el valor nutritivo 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 solo de la digestibilidad del forraje sino también del consumo voluntario. Este se ve influenciado por la palatabilidad, variación estacional y disponibilidad. Un aspecto que afecta consumo y digestibilidad de los componentes de los forrajes, y que es muy marcado en las especies leguminosas tropicales es la presencia de metabolitos secundarios.<sup>35</sup>

Aregheore, Padma y Samuthi “señalan que una gran cantidad de leguminosas arbóreas y arbustivas tropicales con potencial forrajero contienen factores anti nutricionales, tales como taninos, saponinas, fitatos, hemaglutininas, aminoácidos tóxicos (canavanina y mimosina), glucósidos cianogénicos,

---

<sup>33</sup> *Ibíd.* p 26.

<sup>34</sup> *Ibíd.* p 26.

<sup>35</sup> AREGHEORE, Emmanuel, Valor nutritivo y anti nutritivo de algunas leguminosas arbóreas utilizadas en la nutrición del ganado rumiante en los países insulares del Pacífico, *Journal of South Pacific Agriculture*, 2000, p. 44.

cumarina, flavonol, diversos tipos de fenoles e inhibidores de proteasas, entre otros".<sup>36</sup>

Aregheore indica que la presencia de algunos de estos factores puede alterar la utilización de los nutrientes, la conversión alimenticia y por ende la productividad de los animales, reportando cuatro grupos en los cuales se dividen los diferentes factores anti nutricionales:

- Factores que afectan la utilización de la proteína y deprimen la digestión (ej.: taninos, saponinas).
- Quelantes (oxalatos, fitatos, glucosinolatos,).
- Anti vitaminas (anti vitamina A, anti vitamina E, anti vitamina D, dicumarol)
- Otros tóxicos (aminoácidos tóxicos -mimosina, canavanina-, nitratos).<sup>37</sup>

### **3.4 ANALISIS DE DETERMINACION DE CARBOHIDRATOS**

#### **3.4.1 Método Ácido Sulfúrico- Fenol**

Este es el principal método utilizado para el análisis de Carbohidratos en la *Mussaenda Erytrophylla*.

Este método tiene como finalidad que los carbohidratos se logren destruir por calor y por adición de ácido, particularmente son sensibles a ácidos fuertes y altas temperaturas. Bajo estas condiciones una serie de reacciones complejas toman lugar empezando con una deshidratación simple, al continuar el calentamiento y la catálisis ácida se producen varios derivados del furano que condensan consigo mismos y con otros subproductos para producir compuestos oscuros o compuestos coloridos (anaranjados) producto de la condensación de compuestos fenólicos.<sup>38</sup>

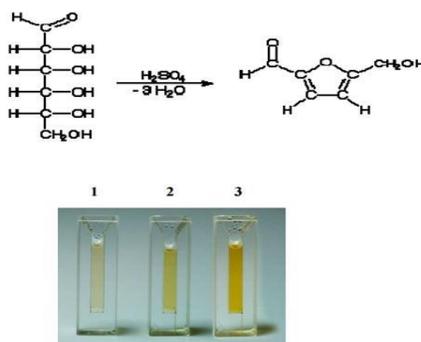
---

<sup>36</sup> Ibíd. p 44.

<sup>37</sup> Ibíd. p. 44.

<sup>38</sup> SOSA, Andrés, Métodos de determinación de Carbohidratos, Documentos Scribd, 2015, p 7.

**Figura 4.** Método Ácido sulfúrico-fenol.



**Fuente:** SOSA, Andrés, Métodos de determinación de Carbohidratos, Documentos Scribd, 2015, p 7

### 3.5 ANÁLISIS DE DETERMINACIÓN DE PROTEINAS

#### 3.5.1 Método de Kjeldahl

El método de Kjeldahl es utilizado para la determinación de la cantidad total de proteínas presentes en la *mussaenda erythrophylla*. Este método consiste en la oxidación de la muestra con ácido sulfúrico concentrado y caliente (digestión), convirtiendo el nitrógeno combinado en ion amonio.

El método de Kjeldahl consta de tres etapas: digestión de la muestra, destilación con arrastre de vapor del amoniaco producido y la valoración ácido base del amoniaco producido.

En la primera etapa, "el hidrógeno y el oxígeno proteico, son oxidados hasta dióxido de carbono y agua, en donde el nitrógeno es convertido en sulfato de amonio, por la acción de un agente oxidante en medio ácido y con la ayuda de un catalizador".<sup>39</sup>

En la etapa siguiente, "mediante la acción de una base fuerte, generalmente hidróxido de sodio al 40%, se libera el amoniaco de la sal de amonio. Cuando la valoración se va a efectuar por retroceso, el amoniaco liberado se arrastra con vapor y se recoge sobre un volumen exactamente medido de un ácido estándar. De tal manera que se forma borato de amonio, el cual se titula directamente".<sup>40</sup>

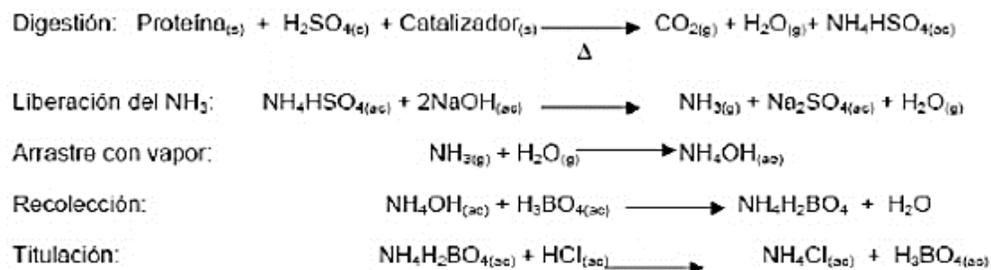
En la etapa final, se hace la valoración de acuerdo con el proceso empleado para la recolección. "Así el hidróxido de amonio, se recibe sobre un volumen exactamente medido de un ácido estándar. La titulación se hace con una base valorada y en

<sup>39</sup> GLEN, Augusto, Determinación de proteínas mediante el método de Kjeldahl, Documentos Scribd, 2011, p 1.

<sup>40</sup> Ibid. p 1.

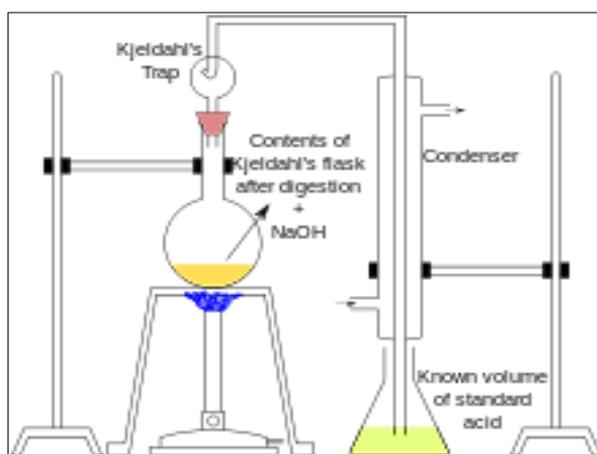
presencia de un indicador adecuado, de tal manera que se determine el ácido que no reaccionó con el hidróxido de amonio producido<sup>41</sup>.

**Figura 5.** Reacciones dadas en el método de Kjeldahl.



**Fuente:** GLEN, Augusto, Determinación de proteínas mediante el método de Kjeldahl, Documentos Scribd, 2011.

**Figura 6.** Método de Kjeldahl análisis de proteínas.



**Fuente:** GLEN, Augusto, Determinación de proteínas mediante el método de Kjeldahl, Documentos Scribd, 2011.

### 3.6 ANALISIS DE DETERMINACIÓN DE LIPIDOS

#### 3.6.1 Extracción de Soxhlet:

La extracción de soxhlet es la encargada del análisis de la cantidad de lípidos (grasa) presentes en la muestra.

<sup>41</sup> Ibíd. p 1.

En el método de Soxhlet, el componente de interés son las grasas, y su solubilidad es la propiedad en la que se basa. Sabemos que las grasas se disuelven en disolventes no polares, como el cloroformo, el hexano y el éter de petróleo. Cuando un alimento está en contacto con este tipo de disolventes, las grasas muestran tal afinidad que al disolverse se separan del resto de los componentes, a este principio se le conoce como extracción sólido-líquido. (Ver figura 7).

El método de Soxhlet se realiza en un equipo del mismo nombre para determinar la cantidad de grasa de los alimentos. "El proceso inicia a partir de una muestra previamente seca, para evitar que el agua se combine con el disolvente y altere la prueba. La cantidad de muestra necesaria se especifica en los métodos oficiales según el alimento de que se trate, ésta se coloca dentro de un cartucho en forma de dedal de celulosa, en el sifón. Lo que sucede en el equipo es que el disolvente contenido en el matraz alcanza su punto de ebullición por efecto de la fuente de calor, sube en forma de vapor por el cuello de éste, recorre el sifón y llega al refrigerante. En éste, se condensa y regresa al sifón en forma líquida".<sup>42</sup>

La condensación es gradual, podemos observarla en la formación de gotas que caen del refrigerante al sifón. Así, gota a gota, el disolvente se acumula justo donde está el cartucho de celulosa, éste es el momento en que entra en contacto con la muestra y aunque la separación de las grasas del alimento original no es visible a nuestros ojos, al empaparla, una parte de lípidos son disueltos en el disolvente y extraídos del alimento. El sifón acumula el disolvente con los lípidos extraídos hasta que alcanza el nivel suficiente para regresar al matraz.

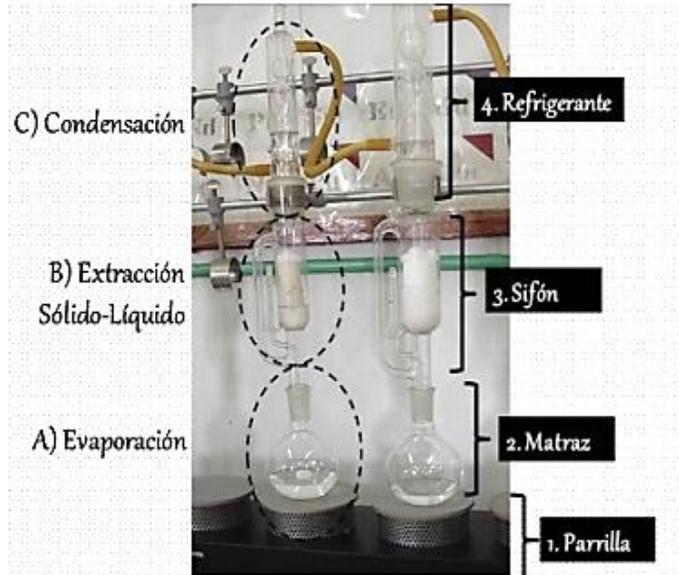
El disolvente se recircula por el equipo repetidamente, extrayendo en cada recorrido una fracción de lípidos.

Conforme se repite este ciclo, podemos ver que el disolvente cambia de color, lo que manifiesta la extracción de las grasas y de compuestos de color con solubilidad afín o liposoluble. Con la extracción completa, se realiza un último paso de evaporación, para eliminar por completo el disolvente del aceite.

**Figura 7.** Equipo utilizado para la extracción de Soxhlet.

---

<sup>42</sup> CONSEJO NACIONAL DE TECNOLOGIA, Extracción de Soxhlet, Revista saber más Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2009, p 1.



**Fuente:** CONSEJO NACIONAL DE TECNOLOGIA, Extracción de Soxhlet, Revista saber más Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2009.

### 3.7 EVALUACIÓN DE LA HUMEDAD Y CINÉTICA DE DESHIDRATACIÓN MEDIANTE UN HORNO CONVENCIONAL

#### 3.7.1 Horno Convencional:

Esta prueba de evaluación de humedad y cinética de deshidratación en la *Mussaenda Erythopylla* se realizará mediante un horno convencional. (Ver figura 8)

El horno “es un dispositivo que genera calor y que lo mantiene dentro de un compartimiento cerrado. Se utiliza tanto en la cocina para preparar, calentar o secar alimentos, como en la industria. La energía calorífica utilizada para alimentar un horno puede obtenerse directamente, por combustión (leña, gas u otro combustible), radiación (luz solar), o indirectamente, por medio de electricidad (horno eléctrico)”<sup>43</sup>.

**Figura 8.** Horno Convencional.

<sup>43</sup> LAJO, Rosina, *Léxico de arte*. Madrid: Akal. 2008 p. 103.



**Fuente:** LAJO, Rosina, Definición y Características del Horno Convencional, 2008, p 103.

### **3.7.2 Secado de las plantas:**

El secado de plantas es una práctica ancestral y ecológica, que permite prolongar la vida de una planta una vez recolectada, facilitándonos su acceso en cualquier momento del año. Además, las plantas cuando están vivas contienen unas moléculas llamadas “enzimas” que son ayudadas por el agua a conservar intactos los principios activos responsables de sus funciones medicinales y nutritivas. Al recolectarlas, el equilibrio enzimático se rompe, y algunos principios activos importantes pueden perderse. Es por este motivo que mientras más rápido se seque la planta, más principios activos conservará.<sup>44</sup>

Cuando están secas completamente tendremos plantas que conservaran su aroma original.

El secado de forrajes de alto contenido de proteína y alto valor energético como la morera tiene una importante repercusión técnica y económica para el productor.

### **3.7.3 Humedad**

Se define humedad a la “cantidad de agua, vapor de agua o cualquier otro líquido que está presente en la superficie o el interior de un cuerpo o en el aire”.<sup>45</sup>

---

<sup>44</sup> ANGELO, Georgina, Secar o deshidratar plantas, Botánica, Fitoterapia, 2016, p 1.

<sup>45</sup> RICO, Mateo, Definición de humedad, Ministerio de Medio Ambiente, 2007, p 1.

**Figura 9.** *Mussaenda Erytrophylla*.



**Fuente:** Braga, Cristina, Flores e Folhagens, 2012.

La humedad puede ser el factor ambiental más difícil de controlar, y cambian dependiendo la temperatura del aire entre otros factores.

Las plantas siempre están ajustando las aberturas de las estomas de las hojas según el DPV y la humedad del aire. Como mostramos anteriormente, la humedad alta es un problema, ya que el uso de agua de la planta es demasiado lento y compromete la calidad, incluso si las estomas están constantemente abiertas. Asimismo, si la humedad es muy baja y la transpiración posterior es demasiado alta, la planta cierra las aberturas de las estomas para minimizar la pérdida de agua y el marchitamiento. Desafortunadamente, esto también significa que la fotosíntesis es más lenta y, finalmente, también lo será el crecimiento de la planta.<sup>46</sup>

Al eliminar la humedad, se logran concentrados de alta calidad nutricional útiles en la elaboración de alimentos balanceados o en suplementos proteicos, los cuales probablemente presenten un menor costo económico que otras fuentes tradicionales de suplementación, lo cual implicaría un impacto directo en la sostenibilidad de los sistemas agrosilvopastoriles.

### **3.7.4 Cinética de deshidratación**

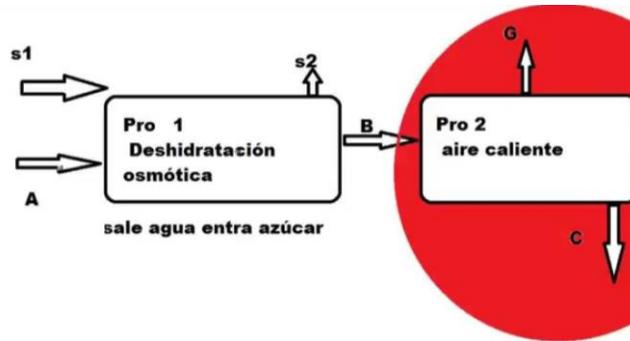
La deshidratación osmótica “es un proceso que prolonga el tiempo de vida útil de la planta, presentado una disminución considerable del contenido de agua el

---

<sup>46</sup> BC Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de B.C.) 1994, p 1.

cual es un factor crítico para el deterioro de reacciones bioquímicas.<sup>47</sup>(Ver figura 10)

**Figura 10.** Descripción de la deshidratación osmótica.



**Fuente:** ROMERO, Pedro, Proceso de deshidratación Osmótica, 2016.

La cinética de deshidratación se evalúa mediante diferentes tiempos, velocidad, temperatura entre otros parámetros relacionado al proceso de secado mediante el horno convencional.

### 3.8 ANALISIS DEL CONTENIDO DE CENIZAS MEDIANTE UNA MUFFLA.

La determinación de cenizas permite identificar rápidamente y de forma sencilla los materiales fisiológicos y no fisiológicos que contiene el vegetal.

**Figura 11.** Determinación de cenizas mediante una muflla.



**Fuente:** PEÑA, Milena, Determinación de cenizas mediante una muflla, Tecnología de Alimentos, 2011, p 1.

La determinación de las cenizas en una muflla ( ver figura 11), se realiza a temperaturas que oscilan entre 500 y 600 °C. El agua y sustancias volátiles son evaporadas, mientras que las sustancias orgánicas son incineradas en

<sup>47</sup> ROMERO, Pedro, Proceso de deshidratación osmótica en plantas, 2016, p 1.

presencia del oxígeno del aire para producir CO<sub>2</sub> y óxido de nitrógeno. La mayoría de los minerales son convertidos a óxidos, sulfato, fosfato, cloruro y silicato. Los elementos tales como: Fe, Se, Pb y As, pueden volatilizarse parcialmente con este procedimiento, es por ello que otros métodos se deben usar como paso preliminar para análisis elemental específico.<sup>48</sup>

Las ventajas de este método son:

- Es un método seguro y no requiere adición de reactivos y sustancias del blanco.
- Se requiere de una pequeña atención sólo para evitar la formación de llamas y ello se logra subiendo la temperatura lentamente hasta aproximadamente 200 °C. Después que se ha quemado la materia orgánica, se continúa subiendo la temperatura hasta aproximadamente 500 °C.
- Usualmente se pueden manipular varios crisoles a la vez y las cenizas resultantes se pueden utilizar para muchos análisis como: determinación, de elementos químicos, cenizas insolubles en ácido y solubles e insolubles en agua.<sup>49</sup>

Las desventajas de este método son:

- El largo tiempo que se requiere para la incineración (12-18 horas o toda la noche).
- La pérdida de elementos volátiles y las interacciones entre los componentes minerales y los crisoles. Entre los elementos que se pueden perder por volatilización tenemos: As, B, Cd, Cr, Fe, Pb, Hg, Ni, P, V, y Zn.<sup>50</sup>

### 3.8.1 Mufla

Una mufla “es una cámara cerrada construida con materiales refractarios. Se compone de una puerta por la que se accede al interior de la cámara de cocción, en la que existe un pequeño orificio de observación. En el techo del horno se ubica un agujero por donde salen los gases de la cámara. Las paredes del horno mufla están hechas de placas de materiales térmicos y aislantes”<sup>51</sup>(Ver figura 12).

Este horno es utilizado cuando se requiere alcanzar temperaturas mayores a 200 °C. Dentro del laboratorio un horno mufla se utiliza para calcinación de sustancias, secado de sustancias, fundición y procesos de control.

---

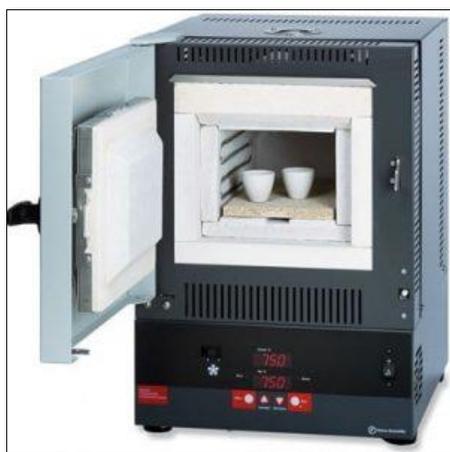
<sup>48</sup> PEÑA, Milena, Determinación de cenizas por medio de Calcinación, Food Technology, Tecnología de los Alimentos, 2011, p 1.

<sup>49</sup> Ibid. p 1.

<sup>50</sup> Ibid. p 1.

<sup>51</sup> GALLEGO, Orlando, Mufla, tplaboratorioquimico, 2008, p 1.

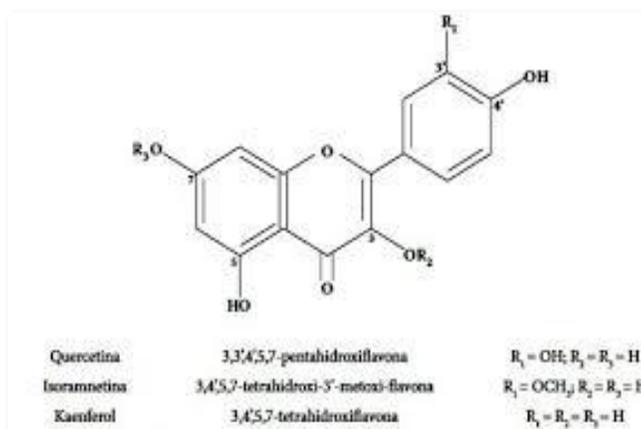
**Figura 12.** Mufla.



**Fuente:** GALLEGO, Orlando, Mufla, laboratorio químico, 2008, p 1.

### 3.9 POLIFENOLES

**Figura 13.** Estructura química de los polifenoles.



**Fuente:** MERCOLA, David, Polifenoles, Mercola "Tome el control de su salud", 2015, p 1.

Los polifenoles son fitoquímicos, es decir, compuestos que abundan en los vegetales naturales con propiedades antioxidantes.

La principal característica estructural de los poli fenoles (Ver figura 13) “es poseer uno o más grupos hidroxilo (-OH) unidos a uno o más anillos bencénicos”.<sup>52</sup> Aunque son primariamente conocidos por sus propiedades antioxidantes, “la mayor parte de los poli fenoles exhibe, además, otras actividades biológicas potencialmente beneficiosas para la salud”.<sup>53</sup>

En la dieta de los rumiantes se encuentran formando parte de distintos forrajes y concentrados, como henos de leguminosas, granos, ramoneo de hojas y frutos, etc.

Existen dos grupos principales de taninos: hidrolizables y condensados, los cuales pueden tener efectos tóxicos o anti nutricionales o benéficos en animales, dependiendo de su concentración en las plantas. Se ha reportado que cantidades moderadas de taninos condensados producen efectos benéficos sobre el metabolismo de las proteínas en rumiantes, porque reducen la degradación de la dieta proteínica en el rumen e incrementan la absorción de aminoácidos en el intestino delgado.<sup>54</sup>

En recientes evaluaciones (datos no publicados), “se observó la ventaja de la combinación o mezcla de extractos vegetales basados en poli fenoles de diferentes orígenes en la suplementación de animales para engorde”<sup>55</sup>. Dichas mezclas fueron luego evaluadas en ensayos bajo condiciones controladas.

En la tabla 1 se presenta un resumen de los resultados obtenidos de ganancia de peso en ensayos realizados en la Universidad de Sinaloa, Méjico y la Universidad de California, EEUU usando mezclas de extractos de taninos (condensados e hidrolizables). Los resultados se presentan por año de publicación, tipo de tratamiento, dosis, y finalmente respuesta expresada en ganancia de peso promedio del control (sin tanino) y los animales que recibieron distintos niveles de extractos de taninos. La última columna representa la respuesta expresada en porcentaje de incremento de los tratamientos respecto a los controles o testigos sin tratamientos.<sup>56</sup>

Las respuestas van desde un 3.6 hasta casi un 15% de incremento, la media o la mediana (dependiendo del tipo de distribución) estaría en un 8-10% de incremento en la ganancia de peso, con niveles de suplementación de extractos de taninos de alrededor de 30-40 g por animal día.

---

<sup>52</sup> MERCOLA, David, Polifenoles, Mercola “Tome el control de su salud”, 2015, p 1.

<sup>53</sup> Ibid. p 1.

<sup>54</sup> SUARES, Álvaro, El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes, Revista de Medicina Veterinaria Nro. 16, 2008, p 87.

<sup>55</sup> CASTILLO, Alejandro, Uso de Poli fenoles taninos en la nutrición de rumiantes, Universidad de California, 2013, p 1.

<sup>56</sup> Ibid. p 1.

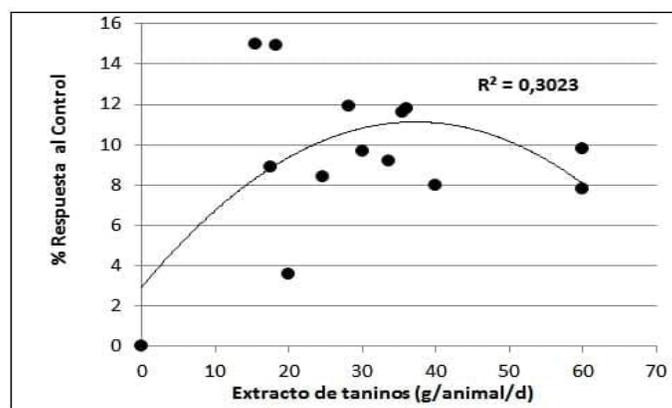
**Tabla 1.** Resultados de ganancia de peso vivo en diferentes ensayos realizados en la Universidad Autónoma de Sinaloa, Méjico y la Universidad de California, EEUU y publicados en distintos congresos de Am. Soc. of Anim. Sci. (ASAS)

Año	Tratamientos	Dosis g/animal/d	Animal No.	GPV (g/animal/d)		Efecto dif. % - P<
				Control	ByPro	
2010	ET <sup>1</sup> + urea x 84-d, toritos	18.22	60	1326	1523	14.9 .01
2011	ET x 226-d, toros	28.14	40	1365	1527	11.9 .04
2011	ET x 68 -100-d <sup>2</sup> , toros	30.00	60	1345	1476	9.7 .06
2012	ET x 56-d + sorgo alto tanino, toros	33.60	80	1972	2153	9.2 .05
2012	ET x 28-d parásitos, toritos	15.50	65	1191	1370	15.0 .07
2012	ET x 28-d urea sangre, toritos	36.00	30	1580	1767	11.8 .02
2013	ET x 84-d urea sangre, terneras	17.54	40	0.912	0.993	8.9 .01
2013	ET x 92-d + Cr orgánico <sup>3</sup> , toros	24.70	850	1359	1473	8.4 .02
2013	ET x 108-d + zilpaterol <sup>4</sup> , toros	35.50	80	1675	1870	11.6 .05
2013	ET x 84-d respuesta dosis <sup>5</sup> , novillos	20	96	1370	1420	3.6 .05
		40	96	1370	1480	8.0 .05
		60	96	1370	1500	9.5 .05
		60	96	1530	1650	7.8 .08
2013	TC, TH, ambos <sup>6</sup> x 84-d, novillos	60	96	1530	1650	7.8 .08

1. ET (extracto de taninos), mezcla de extractos vegetales basados en taninos de diferentes orígenes.  
 2. Promedio T2 y T3, 68 y 100 d respectivamente.  
 3. Cr orgánico no afecto la GPV, solo el efecto tanino fue significativo.  
 4. ET + zilpaterol mejoro la GPV  
 5. Efecto lineal significativo (novillos Holando)  
 6. TC: taninos condensados; TH: taninos hidrolizables, Control vs. ambos (TC y TH). (novillos Holando)

**Fuente:** CASTILLO, Alejandro, Uso de Polifenoles taninos en la nutrición de rumiantes, Universidad de California, 2013, p 1.

**Figura 14.** Histograma resultados de ganancia de peso vivo en diferentes ensayos realizados en la Universidad Autónoma de Sinaloa, Méjico y la Universidad de California, EEUU y publicados en distintos congresos de Am. Soc. of Anim. Sci. (ASAS).



**Fuente:** CASTILLO, Alejandro, Uso de poli fenoles taninos en la nutrición de rumiantes, Universidad de California, 2013, p 1.

En general, existen evidencias de que los poli fenoles mejoran la ganancia de peso, la producción de lana y la eficiencia reproductiva en ovinos alimentados con forrajes

de regiones templadas y reducen el impacto del parasitismo gastrointestinal. (Ver figura 14).

**Tabla 2.** Efectos de los poli fenoles en la dieta sobre la digestión de rumiantes.

<b>Efectos usuales de los TC</b>
Reducción de la digestión ruminal de las proteínas de las plantas
Reducción de la concentración del amonio ruminal
Reducción de la solubilidad de las proteínas
Incremento de la proporción de proteína de la planta que llega al intestino
Inhibición de algunas bacterias ruminales
Reducción de la digestibilidad del nitrógeno e incremento de la concentración del nitrógeno fecal
Reducción de la excreción del nitrógeno urinario
Reducción de la tasa de absorción de amino desde el intestino
Reducción de la MS de la dieta para ser digerida
Reducción de la proporción de pérdida de la energía de la dieta a metano
<b>Efectos ocasionales</b>
Alteran la selección de la dieta
Reducen la ingestión del consumo voluntario
Reducen la tasa de digestión
Incrementan el volumen del rumen
Reducen la tasa de producción y concentración de ácidos grasos volátiles
Ocasionalmente incrementan pero usualmente reducen la absorción de aminoácidos
Mejoran la tolerancia al parasitismo gastrointestinal
Reducen la carga parasitaria gastrointestinal
Reducen la adherencia de heces a la lana o fibra
Daños en el abomaso o intestino
<b>Consecuencias de la dieta con TC</b>
Mejoran o desmejoran el comportamiento animal
Depende del tipo y concentración de los taninos, así como de
Composición de la dieta
Requerimiento animal
Otros metabolitos secundarios

**Fuente:** Waghorn, G. Beneficial and detrimental effects of dietary condensed tannins for sustainable sheep and goat production-Progress and challenges. *Animal Feed Science and Technology*, 2007, p 97.

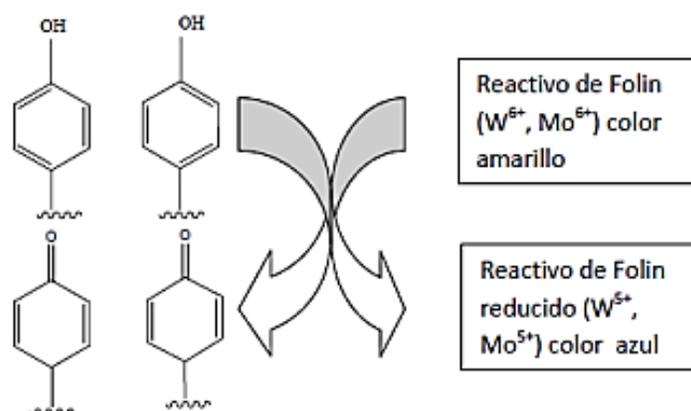
Esta función de los poli fenoles se da especialmente porque: precipita las proteínas de la ingesta, con lo cual se incrementa su paso al intestino delgado para ser absorbidas, protege la fracción 1 de la proteína (Rubisco); aumenta la absorción de los aminoácidos esenciales y disminuye la de los no esenciales; disminuye la digestibilidad del N de la dieta en porcentajes cercanos al 15%, debido a la menor concentración de amonio ruminal, como consecuencia de la menor degradación de las proteínas, e incremento de la absorción intestinal; reduce la fermentación de carbohidratos por la unión que

estable la porción de taninos libres con enzimas microbianas inactivas, disminuyendo, por lo tanto, la digestión de los carbohidratos.<sup>57</sup>

Esta prueba se realiza con un respectivo reactivo llamado Folin-Ciocalteu.

El ensayo Folin-Ciocalteu se utiliza como medida del contenido en compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul intenso, cuya intensidad es la que medimos para evaluar el contenido en polifenoles.<sup>58</sup>(Ver figura 15).

**Figura 15.** Mecanismo de acción del reactivo de Folin-Ciocalteu.



**Fuente:** MARTINEZ, Eva, Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, Universidad Pontificia de Valencia, 2008, p 5.

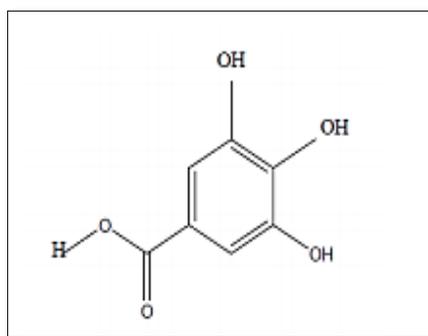
La oxidación de los poli fenoles presentes en la muestra, causa la aparición de una coloración azulada que presenta un máximo de absorción a 765 nm, y que se cuantifica por espectrofotometría en base a una recta patrón de ácido gálico.<sup>59</sup>

<sup>57</sup> Ibid. p 105.

<sup>58</sup> MARTINEZ, Eva, Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, Universidad Pontificia de Valencia, 2008, p 5.

<sup>59</sup> Ibid. p 5.

**Figura 16.** Ácido Gálico.



**Fuente:** MARTINEZ, Eva, Determinación de poli fenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, Universidad Pontifica de Valencia, 2008, p 5.

También se pueden producir variaciones en el modo de expresar los resultados, sin embargo, el patrón recomendado es el ácido gálico.

Este ensayo de análisis del poli fenoles totales, se utiliza con frecuencia en el estudio de las propiedades antioxidantes de alimentos vegetales, como zumos de fruta, al tratarse de un parámetro que generalmente, muestra una estrecha correlación con los diferentes métodos de medición de la actividad antioxidante.

**Figura 17.** Tarjeta de Emergencia Reactivo Folin-Ciocalteu.

Fecha de elaboración: 10/12/2014

TARJETA DE EMERGENCIA  
**Reactivo de Fenol de Folin-Ciocalteu**  
No. CAS: 10377-48-7 (Lithium sulphate 10 - 20 %)

**IDENTIFICACIÓN SGA**

**CLASIFICACIÓN NACIONES UNIDAS**

UN 3264

**DIAMANTE NFPA**

<b>INFLAMABILIDAD</b> 4 Extremadamente inflamable < 22,8°C 3 22,8 °C ≤ Inflamable < 37,8°C 2 37,8°C ≤ Combustible si se calienta < 93,4°C 1 Combustible si se calienta > 93,4°C 0 Material no combustible	0
<b>SALUD</b> 4 Fatal 3 Extremadamente riesgoso 2 Moderadamente riesgoso 1 Ligeramente riesgoso 0 Material normal	3
<b>INESTABILIDAD</b> 4 Puede detonar 3 Puede detonar ante golpe y/o calor 2 Cambio químico violento 1 Inestable si se calienta 0 Estable	0

**PARA EMERGENCIAS LLAMAR A:**  
**Tel. fijo extensión: \*123**  
**Celular: 3105763002**  
**CISPROQUIM Bogotá: 2886012**

**PELIGROS ESPECIALES**  
 Oxidante **OX**  
 Gas asfiantes Simple **AS**  
 Reactivo con el agua **W-**

**Fuente:** Universidad Pontifica Bolivariana de Bogotá, 2014 p1.

**Figura 18.** Propiedades físicas y químicas del reactivo Folin-Ciocalteu.

<b>SECCIÓN 9: Propiedades físicas y químicas</b>	
<b>9.1 Información sobre propiedades físicas y químicas básicas</b>	
a) Aspecto	Forma: líquido
b) Olor	acre
c) Umbral olfativo	sin datos disponibles
d) pH	< 0,5 a 20 °C
e) Punto de fusión/ punto de congelación	sin datos disponibles
f) Punto inicial de ebullición e intervalo de ebullición	sin datos disponibles
g) Punto de inflamación	sin datos disponibles
h) Tasa de evaporación	sin datos disponibles
i) Inflamabilidad (sólido, gas)	sin datos disponibles
j) Inflamabilidad superior/inferior o límites explosivos	sin datos disponibles
k) Presión de vapor	sin datos disponibles
l) Densidad de vapor	sin datos disponibles
m) Densidad relativa	1,240 g/cm <sup>3</sup> a 20 °C
n) Solubilidad en agua	soluble
o) Coeficiente de reparto n-octanol/agua	sin datos disponibles

**Fuente:** SIGMA-ALDRICH, Fichas de datos de seguridad, 2014, p 5.

### 3.9.1 Lixiviación

Además de las pruebas de extracción de poli fenoles, su alto contenido presente en la planta puede tener un efecto negativo a la hora de ser consumidos por los animales, al presentarse este caso en las pruebas obtenidas se dispondrá a realizarse una lixiviación para bajar el contenido de estos y pueda ser consumida sin ningún problema.

La lixiviación o extracción sólido-líquido, es un proceso por el cual se extrae uno o varios solutos de un sólido, mediante la utilización de un disolvente líquido. Ambas fases entran en contacto íntimo y el soluto o los solutos pueden difundirse desde el sólido a la fase líquida, lo que produce una separación de los componentes originales del sólido.<sup>60</sup>

### 3.9.2 Etanol

Uno de los reactivos utilizados durante la lixiviación es el “el alcohol etílico también conocido como etanol, alcohol vínico y alcohol de melazas, es un líquido incoloro y volátil de olor agradable”<sup>61</sup>

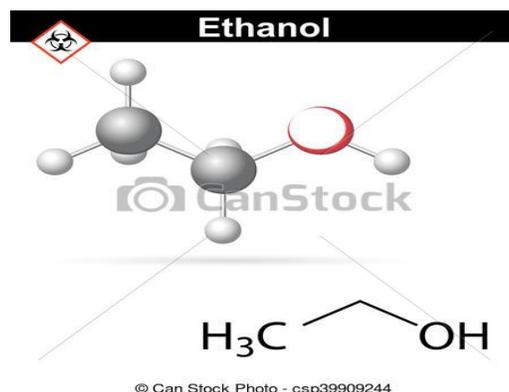
El etanol puede ser obtenido por dos métodos principales: la fermentación de las azúcares y un método sintético a partir del etileno. La fermentación de las

<sup>60</sup> JIMENEZ, Mario. Lixiviación, Boletín agrario de Chile, 2009, p1.

<sup>61</sup> MOSQUERA, Jairo, Alcohol etílico, Universidad Nacional de Colombia, 2012, p33.

azúcares, es el proceso más común para su obtención a partir de macerados de granos, jugos de frutas, miel, leche, papas o melazas, utilizando levaduras que contienen enzimas catalizadoras que transforman los azúcares complejos a sencillos y a continuación en alcohol y dióxido de carbono.<sup>62</sup>(ver figura 19)

Figura 19. Estructura química del Etanol.



Fuente: MOSQUERA, Jairo, Alcohol etílico, Universidad Nacional de Colombia, 2012, p33.

Figura 20. Tarjeta de emergencia del Etanol.

Fecha de elaboración: 17/11/2015

Pontificia Universidad  
**JAVERIANA**  
Bogotá

TARJETA DE EMERGENCIA  
**ETANOL**  
No. CAS: 67-17-5

**IDENTIFICACIÓN SGA**

**CLASIFICACIÓN NACIONES UNIDAS**

UN: 1170

**DIAMANTE NFPA**

INFLAMABILIDAD			
4	Extremadamente inflamable < 22,8°C	3	22,8 <= Inflamable < 37,8°C
2	37,8°C < Combustible si se calienta < 93,4°C	1	Combustible si se calienta > 93,4°C
0	Material no combustible		

SALUD			
4	Fatal	3	Extremadamente riesgoso
2	Moderadamente riesgoso	1	Ligeramente riesgoso
0	Material normal		

**PARA EMERGENCIAS LLAMAR A:**

Tel. fijo extensión: \*123  
Celular: 3105763002  
CISPROQUIM Bogotá: 2886012

INESTABILIDAD	
4	Puede detonar
3	Puede detonar ante golpe y/o calor
2	Cambio químico violento
1	Inestable si se calienta
0	Estable

PELIGROS ESPECIALES	
Oxidante	OX
Gases no inflamables	Simple AS
Reactivo con el agua	WF

**IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS / EFECTOS EN LA SALUD:** Líquido y vapores muy inflamables.

**MEDIDAS DE PRIMEROS AUXILIOS:**

**Inhalación:** Aire fresco.

**Ingestión:** Hacer beber agua inmediatamente (máximo 2 vasos). Consultar con el médico en caso de malestar.

**Piel:** Aclarar con abundante agua. Eliminar ropa contaminada.

**Ojos:** Aclarar con abundante agua, manteniendo abiertos los párpados. En caso necesario, llamar al oftalmólogo.

**MEDIDAS PARA EXTINCIÓN DE INCENDIOS:** Medios de extinción: Dióxido de carbono, espuma, polvo seco. **Sustancias extintoras inapropiadas por razones de seguridad:** Información no disponible. **Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla:** Material combustible. Los vapores son más pesados que el aire y pueden expandirse a lo largo del suelo. En caso de incendio posible formación de gases de combustión o vapores peligrosos. Son posibles mezclas explosivas con el aire a temperaturas normales. Prestar atención al retorno de la llama.

**MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL:** Evitar el contacto con la sustancia. No respire los vapores, aerosoles. Proceder a ventilación en lugares cerrados. No tirar los residuos por el desagüe. Propiedades explosivas. Recoger con materiales absorbentes. Proceder a la eliminación de los residuos. Aclarar.

**CONTROLES DE EXPOSICIÓN Y PROTECCIÓN PERSONAL:** **Protección respiratoria:** Tipo de filtro recomendado: Filtro A. Necesaria en presencia de vapores/aerosoles. **Protección manos:** Guantes de goma butílica, caucho nitrilo. **Protección ocular:** Gafas de seguridad. **Protección del Cuerpo:** Ropa ignífuga o resistente al fuego. Vestimenta protectora anti estática retardante de la flama.

**ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD:** **Estabilidad química:** Información no disponible. **Materiales incompatibles:** Metales alcalinos, metales alcalino térreos, óxidos alcalinos, agentes oxidantes fuertes, halógenos de halógeno, cromilo cloruro, óxido de etileno, flúor, percloratos, permanganato de potasio, ácido sulfúrico, ácido perclórico, ácido permangánico, óxidos de fósforo, ácido nítrico, dióxido de nitrógeno, hexafluoruro de uranio, peróxido de hidrógeno/agua oxigenada. **Condiciones a evitar:** Calentamiento. Debe considerarse crítico un intervalo a partir de aproximadamente 15 kelvín por debajo del punto de inflamación.

Fuente: Universidad Pontificia Javeriana, 2008, p1.

<sup>62</sup> Ibíd.

### 3.9.3 Butanol:

El n-butanol (nB) es un líquido incoloro e inflamable con un olor rancio y dulce, desagradable a alta concentración (ver figura 21). Forma un azeótropo con el agua (42,4% de agua) con un punto de ebullición de 92,6oC a presión atmosférica. Es miscible con la mayoría de los disolventes orgánicos usuales, como alcoholes, cetonas, ésteres, etc. En condiciones normales de utilización es un producto estable. Con oxidantes fuertes, como sulfúrico, nítrico o peróxido de hidrógeno, la reacción puede ser peligrosa. La mayoría de los metales son insensibles a la acción del n-butanol, pero en determinadas condiciones puede reaccionar con aluminio produciendo hidrógeno.<sup>63</sup>

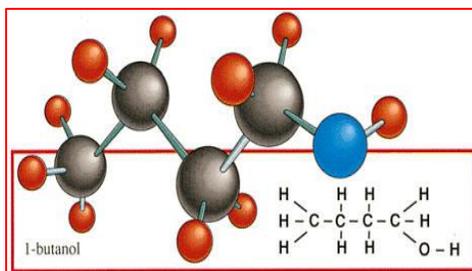
**Figura 21.** Características del reactivo Butanol.

Peso molecular :	74,12
Fórmula molecular :	C <sub>4</sub> H <sub>10</sub> O
Fórmula estructural :	CH <sub>3</sub> – CH <sub>2</sub> – CH <sub>2</sub> – CH <sub>2</sub> – OH
Solubilidad en agua :	soluble en agua, 90 g/l a 20°C
Punto de fusión :	-89,5°C
Punto de ebullición :	118°C
Presión de vapor :	0,6 kPa a 20°C
Peso específico :	0,810 a 20°C
Densidad relativa :	2,55 veces la del aire
Límite de explosividad :	en el rango 1,4%–11,3% (concentración en aire)
Umbral de olor :	0,17 ppm (0,51 mg/m <sup>3</sup> )
Factor de conversión :	3,08 mg/m <sup>3</sup> = 1 ppm (a 20°C y 1013 mbar)

**Fuente:** Instituto Nacional De Seguridad E Higiene En El Trabajo, Documentación Toxicológica Para El Establecimiento Del Límite De Exposición Profesional De N-Butanol, 2013, p1.

**Figura 22.** Estructura química del Butanol.

<sup>63</sup> Instituto Nacional De Seguridad E Higiene En El Trabajo, Documentación Toxicológica Para El Establecimiento Del Límite De Exposición Profesional De N-Butanol, 2013, p1.



**Fuente:** Asociación Española para la Cultura, el Arte y la Educación (ASOCAE), 2009, p1.

Figura 23. Tarjeta de emergencia del reactivo Butanol.

Fecha de elaboración: 07/04/2015



Pontificia Universidad  
**JAVERIANA**  
Bogotá

TARJETA DE EMERGENCIA

## TERT-BUTANOL

No. CAS: 75-65-0

**IDENTIFICACIÓN SGA**



**CLASIFICACIÓN NACIONES UNIDAS**



UN: 1120

**DIAMANTE NFPA**

**INFLAMABILIDAD**

4 Extremadamente inflamable < 22,8°C

3 22,8 °C ≤ Inflamable < 37,8°C

2 37,8°C ≤ Combustible si se calienta < 93,4°C

1 Combustible si se calienta > 93,4°C

0 Material no combustible

**SALUD**

4 Fatal

3 Extremadamente riesgoso

2 Moderadamente riesgoso

1 Ligeramente riesgoso

0 Material normal

**3**

**1**

**0**

**INESTABILIDAD**

4 Puede detonar

3 Puede detonar ante golpe y/o calor

2 Cambio químico violento

1 Inestable si se calienta

0 Estable

**PELIGROS ESPECIALES**

Oxidante **OX**

Gas asfixiantes Simple **AS**

Reactivo con el agua **W**

**PARA EMERGENCIAS LLAMAR A:**

**Tel. fijo extensión: \*123**

**Celular: 3105763002**

**CISPROQUIM Bogotá: 2886012**

**IDENTIFICACIÓN DE PELIGROS / EFECTOS EN LA SALUD:** Muy inflamable. Al contacto con los ojos provoca irritación ocular grave. En caso de inhalación es nocivo y puede irritar las vías respiratorias. Toxicidad específica en órganos diana (nervios, corazón, sangre, ojos) tras exposición única.

**MEDIDAS DE PRIMEROS AUXILIOS:**

**Inhalación:** Suministrar aire fresco. Si ha dejado de respirar, hacer respiración artificial. Consultar a un médico.

**Ingestión:** No provocar el vómito. Nunca debe administrarse nada por la boca a una persona inconsciente. Enjuague la boca con agua. Consulte al médico.

**Piel:** Eliminar lavando con abundante agua y jabón. Consultar a un médico.

**Ojos:** Lavar con abundante agua durante por lo menos 15 minutos. Consultar al médico.

**MEDIDAS PARA EXTINCIÓN DE INCENDIOS:** **Medios de extinción:** Agua pulverizada, espuma resistente al alcohol, polvo seco o dióxido de carbono. **Sustancias extintoras inapropiadas por razones de seguridad:** No hay información disponible. **Peligros específicos derivados de la sustancia o la mezcla:** Óxidos de carbono. **Otros datos:** Luchar contra el incendio a distancia dado el riesgo de explosión. El agua pulverizada puede ser utilizada para enfriar los contenedores cerrados.

**MEDIDAS EN CASO DE VERTIDO ACCIDENTAL:** Utilizar el equipo de protección individual. Evitar la inhalación de vapores, neblina o gas. Asegurar una ventilación apropiada. Retirar todas las fuentes de ignición. Evacuar el personal a zonas seguras. Tener cuidado con los vapores que se acumulan formando así concentraciones explosivas. Los vapores pueden acumularse en zonas inferiores. Impedir nuevos escapes o derrames si puede hacerse sin riesgos. No dejar que el producto entre en el sistema de alcantarillado. Contener y recoger el derrame con un aspirador aislado de la electricidad o cepillándolo, y meterlo en un envase para su eliminación de acuerdo con las reglamentaciones locales.

**CONTROLES DE EXPOSICIÓN Y PROTECCIÓN PERSONAL** **Protección respiratoria:** Usar un respirador que cubra toda la cara con combinación multipropósito o tipo ABEK y cartuchos de repuesto para controles de ingeniería. **Protección manos:** Guantes de caucho nitrilo 0.4mm de espesor y >480 min de tiempo de perforación inmersión. Guantes de caucho nitrilo 0.2mm de espesor y >30 min de tiempo de perforación salpicaduras. **Protección ocular:** Gafas de seguridad resistentes a productos químicos con protección lateral. **Protección del Cuerpo:** Indumentaria impermeable.

**ESTABILIDAD Y REACTIVIDAD:** **Estabilidad química:** No hay información disponible. **Materiales incompatibles:** Agentes oxidantes fuertes, cobre, metales alcalinos, aluminio. **Posibilidad de reacciones peligrosas:** No hay información disponible. **Condiciones a evitar:** Calor, llamas, chispas, temperaturas extremas y luz directa del sol.

Fuente: Universidad Pontificia Javeriana, 2008, p1.

## **4. METODOLOGIA**

### **4.1 LOCALIZACION**

El trabajo de investigación se desarrolló en los laboratorios de análisis fisicoquímicos perteneciente al programa de Ingeniería Agroindustrial, que están ubicados en la Universidad de los Llanos sede Barcelona en Villavicencio Meta (Km 12 Vía Puerto López). El análisis proximal se realizó en el laboratorio de Análisis de Nutrición Animal a cargo la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Recursos Naturales. El análisis de determinación de polifenoles totales y taninos condensados se realizó en el laboratorio de Análisis Fisicoquímicos del programa de Ingeniería Agroindustrial.

### **4.2 MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **4.2.1 Materias primas**

Para el análisis de la planta *Mussaenda erythrophylla* se recolectó la materia prima en la Universidad de los Llanos y se secó en el laboratorio de Nutrición Animal ya que se trabajó con la materia prima en base seca.

#### **4.2.2 Equipos**

Los equipos que se utilizaron para el secado fueron, un horno convencional, el contenido de cenizas mediante una mufla, el equipo de soxhlet para la determinación de grasas, la obtención del extracto de la planta y un espectrofotómetro para la determinación de polifenoles totales y taninos condensados.

#### **4.2.3 Reactivos**

Los reactivos que se utilizaron para la determinación de proteínas fue el reactivo de Biuret, los carbohidratos mediante reactivo ácido sulfúrico-fenol, para la determinación de poli fenoles fue el reactivo de folis-ciocalteu, para taninos el ácido clorhídrico, butanol y caquetina teniendo como base ácido gálico, en el proceso de reducción de los polifenoles totales y taninos condensados, los reactivos utilizados fueron etanol y butanol.

### **4.3 TIPO DE INVESTIGACION**

El tipo de investigación que se usó en este proyecto fue la investigación aplicada puesto que trata de responder a preguntas o problemas determinados con el

objetivo de encontrar respuestas o soluciones que puedan aplicarse de forma inminente en contextos o situaciones precisas.

#### **4.4 PROCEDIMIENTOS**

Para el análisis de la materia prima se realizó pruebas tales como carbohidratos (método ácido sulfúrico-fenol), proteínas (método de Kjeldahl), lípidos (extracción de soxhlet), humedad (horno convencional), cenizas (mediante una mufla), poli fenoles totales (método de Folin-ciocalteu), y taninos condensados (método con ácido clorhídrico, butanol, y caquetina como base en ácido gálico), reducción de polifenoles totales y taninos condensados (método con etanol y butanol).

##### **4.4.1 Análisis proximal de la composición elemental de la hoja de *Mussaenda erythrophylla*.**

###### **4.4.1.1 Determinación de Carbohidratos:**

Los materiales utilizados fueron: Espectrofotómetro, balanza analítica, pipetas graduadas de 1.0 mL, matraz de 1000 mL y los reactivos Fenol y ácido sulfúrico concentrado.

###### **4.4.1.1.1 Preparación de la muestra**

Se pesó el contenido total de la muestra, se secó a una temperatura de 40°C durante 4 horas, y finalmente se macero para reducir su tamaño. Se pesó de 2 a 5 g de muestra y se llevó a un balón volumétrico de 250 mL, se añadió agua destilada hasta la marca de calibración (solución diluida 1). Se tomó una alícuota de 10 mL de la muestra anterior y se transfirió a un matraz volumétrico de 100 mL, añadiendo agua destilada hasta la marca de calibración (solución diluida 2).

###### **4.4.1.1.2 Preparación de la curva de calibración a partir de las soluciones de calibración de glucosa**

En 10 tubos de ensayos se añadió de 0 a 2.0 mL de solución patrón de glucosa (100 µg/mL) respectivamente y la cantidad de agua necesaria para completar un volumen total de 2.0 mL. Añadiendo 1.0 mL de fenol 5 % a cada tubo desde una bureta, la cual se encuentra en la cabina de extracción. Utilizando una bureta se añadió rápidamente 5.0 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo. Tomando el tubo por la parte superior (no tocar el lado ni el fondo ya que está caliente). Agitando el tubo de ensayo mientras se añade el ácido, con ayuda de un agitador vortex se agito cada tubo durante 30 segundos. La gradilla con los tubos de ensayo se colocó en baño de agua fría y se dejó reposar durante 15 minutos. Posterior se

leyó la absorbancia a 490 nm por triplicado.

#### **4.4.1.1.3 Determinación de Carbohidratos totales en la muestra**

Se midió 0.2, 0.4 y 0.6 mL de la solución diluida 2 llevándola a tubos de ensayo. Esta se llevó volumen a 2 ml con agua destilada en cada tubo, en donde se añadió 1 mL de fenol al 5% (se mezcló). Utilizando una bureta se añadió 5 mL de ácido sulfúrico concentrado a cada tubo. Se tomó el tubo por la parte superior, no tocando los lados ni el fondo ya que están calientes. Y se agito el tubo mientras se añadió el ácido. Introduciendo los tubos en un baño de agua fría los cuales se dejaron reposar durante 15 min, leyendo la absorbancia a 490 nm por triplicado.

#### **4.4.1.2 Determinación de proteínas:**

Los materiales utilizados fueron: Balanza analítica, equipo de Kjeldahl.

##### **4.4.1.2.1 Preparación y digestión de la muestra**

Se pesó de 0.9000 – 1.2000 gramos de muestra de molida o macerada, y posteriormente fue transferido a un Erlenmeyer de 50 mL. Añadiendo 20 mL de NaOH 0.5 N y calentando durante 10 minutos en un baño maría hirviendo, este se dejó enfriar y fue filtrado al vacío. Se midió el líquido filtrado en una probeta añadiendo igual cantidad de éter de petróleo. Se Centrifugó a 4000 rpm y el extracto clarificado (capa acuosa) fue colectado para el análisis de proteína, se midió el volumen total colectado.

##### **4.4.1.2.2 Preparación de la curva de calibración**

En 6 tubos de ensayos se colocaron desde 0 a 1.0 mL de solución de albúmina sérica (10 mg/mL) respectivamente, llevando a un volumen de 1.0 mL cada tubo con agua destilada, y se añadió 4 mL de reactivo de Biuret en cada tubo y se mezcló. Dejando reposar por 30 minutos y posteriormente se leyó la absorbancia a 550 nm.

##### **4.4.1.2.3 Determinación de proteínas totales en la muestra**

Se colocó 0.2, 0.4 y 0.6 mL de la solución anterior en tubos de ensayo. Llevando el volumen a 1.0 mL con agua destilada, y se añadió 4.0 mL de reactivo de Biuret para luego mezclar. Este se dejó reposar por 30 minutos, leyendo la absorbancia a 550 nm, por triplicado.

#### **4.4.1.3 Determinación de humedad y cenizas:**

La prueba para la determinación de humedad y cenizas consiste en secar la muestra mediante un horno convencional.

La determinación del contenido de humedad, se realizará siguiendo la metodología de la norma ASTM D 4442-16<sup>64</sup>, la prueba se realizará por 6 repeticiones y su valor será calculado según la ecuación 1.

**Ecuación 1.** Determinación del contenido de humedad.

$$\text{C. H. (\%)} = \frac{A - B}{B} * 100 \quad [1]$$

Significado:

A: Masa original.

B: Masa seca del horno.

**Fuente:** American Society Of Testing Materials. Astm D4442-16. 2016.

El análisis de contenido de cenizas se realizó de acuerdo al método establecido en la norma ASTM E 1755-1<sup>65</sup>. Este análisis se realizó por seis repeticiones y los datos se calcularon con la ecuación 2.

**Ecuación 2.** Análisis de contenido de cenizas.

$$\text{Cenizas (\%)} = \left[ \frac{(m_{\text{cen+cris}} - m_{\text{cris}})}{(m_{\text{i+cris}} - m_{\text{cris}})} \right] * 100 \quad [2]$$

Significado:

$M_{\text{cen+cris}}$ : Masa de ceniza + crisol.

$M_{\text{cris}}$ : Masa del crisol.

$M_{\text{i+crisol}}$ : Masa inicial + crisol

**Fuente:** American Society Of Testing Materials. Astm E 1755-1. 2007.

#### 4.4.1.4 Extractos no nitrogenados (ENN):

---

<sup>64</sup> AMERICAN SOCIETY OF TESTING MATERIALS. ASTM D4442-16. 2016. Métodos de prueba estándar para la medición de contenido de humedad directa de la madera y materiales de madera. Estados Unidos.

<sup>65</sup> AMERICAN SOCIETY OF TESTING MATERIALS. ASTM E 1755-1. 2007. Métodos de prueba estándar para ceniza de la biomasa. Estados Unidos.

“Son sustancias que producen calor y energía de movimiento. Lo componen los azúcares y en particular la glucosa, el almidón o fécula”<sup>66</sup>, y se obtiene cuantitativamente mediante la siguiente fórmula:

**Ecuación 3.** Determinación porcentaje de Extractos no nitrogenados (ENN).

$$\% \text{ ENN: } 100\% - (\% \text{ humedad} + \% \text{ proteína} + \% \text{ extracto etéreo} + \% \text{ fibra} + \% \text{ ceniza}) \quad [3]$$

**Fuente:** Venda Lilia, Nutrición General, 2010

#### 4.4.1.5 Fibra cruda:

Se entiende por “fibra cruda a todas aquellas sustancias orgánicas no nitrogenadas, que no se disuelven tras hidrólisis sucesivas; una en medio ácido y otra en medio alcalino. El principal componente de la FC es la celulosa (90%), hemicelulosas y lignina. Estos componentes, conforman en su mayoría la fracción insoluble de la fibra”<sup>67</sup>.

**Ecuación 4.** Determinación porcentaje de Fibra Cruda.

$$\%FC: \frac{FC \text{ (gr)}}{\text{Peso muestra (gr)} \times 100} \quad [4]$$

**Fuente:** García Ochoa Eduardo, Hacia una definición de fibra alimentaria, 2008.

#### 4.4.1.6 Nutrientes digestibles totales:

Es “un método matemático para el cálculo aproximado de la energía liberada por un ingrediente dado. Este método además de valorar energéticamente a un alimento partiendo de ensayos de digestibilidad, puede valorar la energía existente en % o en Kg”.<sup>68</sup>

**Ecuación 5.** Determinación de Nutrientes digestibles totales.

---

<sup>66</sup> VENDA LILIA, Nutrición General, 2010, Obtenido de: <https://es.slideshare.net/liliavenda/nutricion-general>

<sup>67</sup> GARCIA OCHOA EDUARDO, Hacia una definición de fibra alimentaria, 2008, Obtenido de: [http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S079807522008000100005#:~:text=El%20t%C3%A9rmino%20fibra%20cruda%20\(FC,y%20otra%20en%20medio%20alcalino.](http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S079807522008000100005#:~:text=El%20t%C3%A9rmino%20fibra%20cruda%20(FC,y%20otra%20en%20medio%20alcalino.)

<sup>68</sup> APONTE POLO NICOLAS, Nutrientes Digestibles Totales (TDN), Ing. Agroindustrial de la Universidad Popular del Cesar, 2010, Obtenido de: [http://tirsomestre.blogspot.com/2010/05/nutrientes-digestibles-totales-tdn\\_17.html](http://tirsomestre.blogspot.com/2010/05/nutrientes-digestibles-totales-tdn_17.html).

$$\text{NDT} = \text{Proteína cruda digestible} + \text{Extracto libre de nitrógeno digestible} + \text{Fibra cruda digestible} + (\text{Grasa cruda digestible} * 2.25) \quad [5]$$

**Fuente:** Aponte Polo Nicolas, Nutrientes Digestibles Totales (TDN), Ing. Agroindustrial de la Universidad Popular del Cesar, 2010.

#### 4.4.1.7 Energía bruta:

Energía que contienen los componentes orgánicos del alimento y que se libera a través de su oxidación (combustión). En general, se estima, que en promedio las proteínas y carbohidratos, y los lípidos liberan 5.8, 4.2 y 9.5 Kcal/g, respectivamente.<sup>69</sup>

#### 4.4.1.8 Energía digestible: “Energía contenida en los compuestos orgánicos digeridos por el animal”.<sup>70</sup>

**Ecuación 6.** Determinación de Energía digestible.

ED: Energía bruta del alimento – Energía bruta de las heces expulsadas por el animal. [6]

**Fuente:** Ministerio De Agricultura, Pesca Y Alimentación España.

#### 4.4.1.9 Energía metabolizable:

Es una parte de la energía digerida y absorbida en el tubo gastrointestinal, no es aprovechada y se elimina por la orina en forma de compuestos nitrogenados<sup>71</sup>.

**Ecuación 7.** Determinación de Energía Metabolizable

$$\text{EM} = \text{ED} - \text{energía urinaria} \quad [7]$$

**Fuente:** Ministerio De Agricultura, Pesca Y Alimentación España.

---

<sup>69</sup> MINISTERIO DE AGRICULTURA, PESCA Y ALIMENTACION ESPAÑA, Obtenido de: [https://www.mapa.gob.es/app/nutricionanimal/glosarioNutricionAnimal.aspx?lng=es#:~:text=Energ%C3%ADa%20bruta%20\(EB\),1%20calor%C3%ADa%20%3D%204%2C185%20julios\).](https://www.mapa.gob.es/app/nutricionanimal/glosarioNutricionAnimal.aspx?lng=es#:~:text=Energ%C3%ADa%20bruta%20(EB),1%20calor%C3%ADa%20%3D%204%2C185%20julios).)

<sup>70</sup> Ibid.

<sup>71</sup> Ibid.

#### **4.4.1.10 Análisis estadístico**

Para la primera etapa, los datos obtenidos de la determinación de cada una de las pruebas de análisis proximal de las muestras de las hojas de *Mussaenda erythrophylla*, se analizaron mediante las medidas de dispersión central como la varianza, coeficiente de variación con respecto a la media de cada muestra. Todo esto con el fin de analizar la variación homogénea o heterogénea que tiene cada población de datos, así se observó la confianza que tienen estas metodologías a la hora de ser replicadas.

#### **4.4.2 Determinación de polifenoles totales y taninos condensados en un extracto de *Mussaenda erythrophylla* mediante soxhlet.**

##### **4.4.2.1 Extracción:**

Para determinar los polifenoles y taninos iniciales presentes en la planta de *Mussaenda*, primero se sometió ésta a una extracción del líquido concentrado por el método soxhlet donde el solvente usado fue el HCl 96% y butanol. Se dejó que el procedimiento del sifón sucediera 3 veces antes de retirar las muestras con el objetivo de que se tuviera una mayor concentración de la planta en las muestras recogidas.

##### **4.4.2.2 Determinación**

Las muestras fueron recogidas en unos recipientes y fueron llevadas al laboratorio donde fueron analizadas en un espectrofotómetro, el cual nos arrojó los datos necesarios para que ayudados con una fórmula matemática lográramos determinar el contenido de los compuestos químicos inicialmente mencionados.

##### **4.4.2.3 Poli fenoles totales**

###### **4.4.2.3.1 Preparación de la muestra**

La muestra puede ser cualquier alimento natural o preparado que se crea que contiene sustancias fenólicas, de acuerdo al tipo de muestra y a la revisión de la literatura se procede a la preparación de la muestra para el análisis. En el caso de muestras líquidas se puede utilizar una alícuota, concentrarla o diluirla, en el caso de muestras sólidas se preparan extractos que posteriormente serán analizados. Algunas muestras se liofilizan o se secan por diversos métodos para posteriormente hacer extractos con disolventes polares como metanol o etanol.

#### 4.4.2.3.2 Preparación de reactivos estándar:

Se preparó una solución estándar de ácido gálico con una concentración de 400 ppm, se utilizó como disolvente agua y metanol 1:1 (4 mg en 10 mL), se protegió de la iluminación y se preparó inmediatamente antes de ser utilizado.

#### 4.4.2.3.3 Otros reactivos:

Solución de carbonato de sodio al 10% en agua destilada.

Solución de reactivo de Folin Ciocalteu, se hizo una dilución 1:9 con agua destilada.

#### 4.4.2.3.4 Preparación de las diluciones del estándar

Se prepararon las diluciones de acuerdo a la tabla siguiente:

**Tabla 3.** Preparación de las diluciones estándar.

Identificación de la dilución del estándar y de la muestra	Volumen de la solución estándar (µL)	Volumen de agua destilada (µL)	Volumen del extracto de la muestra o dilución de la muestra (µL)
1	30	2970	3000
2	60	2940	3000
3	150	2850	3000
4	300	2700	3000
5	600	2400	3000
6	900	2100	3000
7	1200	1800	3000
8	1500	1500	3000
9	1800	1200	3000
10	2400	600	3000
11	3000	0	3000
Blanco	0	3000	3000
(muestra) a evaluar	0	0	3000

**Fuente:** Los autores.

#### 4.4.2.3.5 Reacción colorimétrica:

Se marcaron los tubos de ensaye, se hicieron 3 repeticiones por cada dilución del estándar y del problema.

- ✓ Se depositó en cada tubo 750  $\mu$ L de la dilución de la solución estándar, problema o del blanco.
- ✓ Se agregó 1500  $\mu$ L de reactivo de folin recién preparado, se mezcló y se dejó reposar durante 5 minutos.
- ✓ Se agregó 1500  $\mu$ L de solución de carbonato de sodio
- ✓ Se mezcló y se dejó reposar 90 minutos a 23°C en oscuridad.
- ✓ Posteriormente se leyó la absorbancia a 750 nm.

#### 4.4.2.3.6 Cálculos:

Se utilizó un programa Excel para graficar los resultados de absorbancia (eje Y) contra concentración de ácido gálico (eje X), se ajustó por mínimos cuadrados obteniendo la ecuación de la línea recta y el índice de correlación, con los datos obtenidos se pudo calcular la cantidad de fenoles en la muestra, reportándose en las unidades correspondientes, por ejemplo, mg GAE/ 100 g de peso fresco, mg GAE/g de peso seco, mg GAE /100 mL.

En un tubo de ensayo se mezcló 750  $\mu$ l de cada una de las diluciones del estándar y 1500  $\mu$ l de solución de Folin Ciocalteu, se dejó reposar 5 minutos. Posteriormente se agregó 1500  $\mu$ l de solución de carbonato de sodio, y se mezcló dejando reposar durante 90 minutos a 23°C en oscuridad. Se midió la absorbancia a 750 nm, los resultados se graficaron, utilizando mínimos cuadrados obteniendo la ecuación de la línea recta.

#### 4.4.3 Valoración de que solvente reduce el contenido de poli fenoles totales y taninos condensados en la *Mussaenda Erythrophylla* a niveles óptimos para una alimentación bovina.

Se tomo 1.0 Kg de muestra de hojas secas de *Mussaenda Erythrophy*, y se realizó el mismo procedimiento que se describe en la sección 4.4.2.1 (extracción), donde se volvió a realizar las monturas, y se realizó la extracción, pero cambiando los solventes (etanol y butanol), además se realizó la determinación del contenido de polifenoles totales y taninos condensados como se describe en la sección 4.4.2.2 (determinación).

##### 4.4.3.1 Taninos condensados

#### 4.4.3.1.1 Reactivos

- Solventes: Metanol grado reactivo (Merck), ácido clorhídrico concentrado comercial (Merck)
- Estándar primario al 98% de Hidrato de Catequina grado vainillina (Sigma Chemical).
- Solución de vainillina al 1% p/v.- Se pesa 1,0 gramos de vainillina y se llevan a 100 mL con metanol. Se guarda la solución en un recipiente oscuro a 0oC
- Solución de ácido clorhídrico al 8% v/v.- Se toman 8 mL de ácido clorhídrico concentrado y se completa con metanol hasta 100 mL.
- Solución de ácido clorhídrico al 4% v/v.- Se toman 4 mL de ácido clorhídrico concentrado y se completa con metanol hasta 100 mL.
- Solución patrón de catequina, se prepara una solución cuya concentración sea de 3 mg/ mL de catequina en metanol.
- Reactivo de vainillina. Debe prepararse el mismo día del análisis mezclando partes iguales de la solución de vainillina y HCl al 8%.

#### 4.4.3.1.2 Procedimiento

Se tomó una alícuota de 1 mL de extracto en tubos de ensayo y se colocó en un baño de agua a 30° C. Después de que las muestras se atemperaron se agregó 5 mL de reactivo de vainillina a uno de los tubos y 5 mL de HCl 4% a otro tubo (blanco) en intervalos de 1 minuto entre una muestra y la siguiente. Las muestras con sus respectivos blancos se dejaron en un baño de agua a 30°C por espacio de 20 minutos exactos. La absorbancia del blanco correspondió a la absorbancia de la muestra que contiene la vainillina. La diferencia en absorbancia se comparó con la obtenida en la curva patrón, en la cual se halló el equivalente en catequina. Si la absorbancia de la muestra no cae dentro del intervalo de absorbancia de la curva, se diluyó la muestra de tal forma que su nuevo valor de absorbancia se pudo interpretar en la curva de la calibración. Para la cuantificación se interpretó la absorbancia de la muestra en la curva patrón y se obtuvieron los mg de catequina equivalente y los mililitros de extracto. Ecuación (8).

**Ecuación 8.** Determinación de Porcentaje de Taninos

$$\% \text{ Taninos} = (\text{mgCatequina} \times 10\text{mL} \times 100) / (1\text{mL} \times \text{PM} (\text{mg}))$$

## 4.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para el diseño experimental se analizaron las siguientes variables:

### 4.5.1. Variables Independientes

Para la segunda etapa, las variables Independientes que se analizaron en esta investigación son la combinación 1:1 de los solventes utilizados (HCL y Butanol) frente a cada uno de los sifones realizados ( $M_1$ ,  $M_2$  y  $M_3$ ), para determinar la concentración de polifenoles totales y taninos condensados en una muestra de *Mussaenda erythrophylla*. En la tercera parte, las variables Independientes son los solventes utilizados (etanol y butanol) para la reducción de concentraciones de polifenoles totales y taninos condensados.

### 4.5.1 Variables dependientes

Las variables dependientes analizadas en esta investigación son las concentraciones de poli fenoles totales y taninos condensados en cada una de las etapas realizadas.

Para los datos recolectados se sometieron a un análisis de normalidad, prueba de igualdad de varianza, prueba de ANOVA y prueba de comparación de medias TUKEY. Para los análisis se utilizó el software estadístico Minitab versión 16.1.0

## 4.6 ANALISIS ESTADISTICOS

Para determinar si los datos obtenidos procedían de una población con distribución normal se llevó a cabo un análisis de contraste de normalidad con la prueba de Ryan Joiner o Shapiro-Wilks, ya que como lo indica CARMONA ARCE<sup>72</sup> que esta prueba evalúa la normalidad calculando la correlación entre los datos y las puntuaciones normales de los datos. Posteriormente, se calculó el estadístico de contraste con un nivel de significancia del 95%. De igual manera se realizó un análisis de igualdad de varianzas para comprobar la igualdad de las varianzas entre poblaciones o niveles de factores. Después se realizó un análisis de varianza de un solo factor (ANOVA) para comparar si los valores obtenidos en cada uno de los extractos utilizados son significativamente distintos entre ellos. Así, el análisis de varianza se utilizó para asociar una probabilidad (p) a la conclusión de que la media de un grupo de valores es distinta de la media de otro grupo de valores con un nivel

---

<sup>72</sup> Ibíd. Pág. 2

de significancia del 95%. Para la realización de dicha prueba se plantearon las siguientes hipótesis:

Las hipótesis a evaluar en la esta parte de la investigación son:

#### **4.6.1 Hipótesis de la investigación**

**4.6.1.1 Hipótesis nula:** la concentración de poli fenoles totales y taninos condensados determinados de una muestra de hojas de *Mussaenda Erythrophylla*, no influye en su uso como alternativa en la alimentación bovina.

**4.6.1.2 Hipótesis alternativa:** la concentración de poli fenoles totales y taninos condensados determinados de una muestra de hojas de *Mussaenda Erythrophylla*, si influye en su uso como alternativa en la alimentación bovina.

Por último, se realizará una prueba Tukey ya que es el test exacto utilizado cuando se quiere estudiar si existe asociación entre dos variables cuantitativas, es decir, si las proporciones de una variable son diferentes dependiendo del valor que adquiera la otra variable, ya que se irán a determinar las proporciones o porcentajes de polifones totales y taninos condensados en una muestra de hojas de *Mussaenda erythrophylla* y su determinación en la reducción de cada una de ellas.

#### **4.6.2 Variables de respuesta**

##### **4.6.2.1 Rendimiento en la reducción de poli fenoles**

Se evaluó el comportamiento de cada uno de los solventes (etanol y butanol), reduciendo el contenido de los poli fenoles dados en los datos obtenidos del objetivo número 2 evaluando la eficiencia.

##### **4.6.2.2 Rendimiento en la reducción de taninos**

Se evaluó el comportamiento de cada uno de los solventes (etanol y butanol), reduciendo el contenido de los taninos dados en los datos obtenidos del objetivo número 2 evaluando la eficiencia.

## 5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En esta sección se presentan todos los resultados de los procedimientos ya antes planteados para la realización de la investigación.

### 5.1 DETERMINACIÓN MEDIANTE UN ANÁLISIS PROXIMAL LA COMPOSICIÓN ELEMENTAL DE LA *Mussaenda Erythrophylla*

Luego de realizado el análisis proximal de la composición por triplicado a la muestra de *Mussaenda* en el laboratorio de Nutrición Animal ubicado en la Universidad de los Llanos sede Barcelona se obtuvo los siguientes datos, como se puede observar en la tabla 4.

**Tabla 4.** Resultados de las pruebas de Análisis Proximal.

ANALISIS PROXIMAL	PRUEBA 1	PRUEBA 2	PRUEBA 3	$\bar{X}$	S <sup>2</sup>	S	C.V.
Peso muestra (g)	1.882	1.882	1.882	1.882	0,00	0,00	0,00
Humedad Inicial (%)	64,65	61,31	63,41	63,12	1,69	2,85	0,03
Humedad Final (%)	16	15	15	0,15	0,01	0,00	0,04
Cenizas (%)	8,08	8,10	8,13	8,10	0,03	0,00	0,00
Extracto Etéreo (Grasa) (%)	3,08	3,05	3,01	3,05	0,04	0,00	0,01
Fibra Cruda (%)	15,20	14,98	15,08	15,09	0,11	0,01	0,01
Proteína (%)	10,03	10,03	10,03	10,03	0,00	0,00	0,00
A partir de la proteína se calcula:							
Extracto no Nitrogenado (%)	58,32	58,32	58,32	58,32	0,00	0,00	0,00
Energía Bruta (%)	2,43	2,43	2,43	2,43	0,00	0,00	0,00
Energía Digestible(%)	2,55	2,55	2,55	2,55	0,00	0,00	0,00
Energía Metabolizable (%)	1,87	1,87	1,87	1,87	0,00	0,00	0,00
Nutrientes Digestibles totales (%)	67,65	67,65	67,65	67,65	0,00	0,00	0,00

Donde  $\bar{X}$  es promedio,  $S^2$  varianza,  $S$  desviación estándar y C.V. Coeficiente de Variación.

**Fuente:** Laboratorio de nutrición animal Universidad de los Llanos. -. Bermúdez Sergio, Calderón Camila, 2021.

En los resultados obtenidos en el análisis proximal (tabla 4), se pudo observar mediante el análisis de las medidas de dispersión (media, desviación estándar, varianza muestral y coeficiente de variación) que todos (3) los análisis realizados a la muestra de *Mussaenda Erythrophylla*, tuvieron un comportamiento homogéneo, indicando la exactitud con la que se realizaron los análisis proximales. La humedad inicial fue de 63,123% y la humedad final de 15,3%, lo que significa que se realizó el secado completo de la hoja y a su vez los análisis posteriores se realizaron en base seca y bajo estas ecuaciones y fundamentos se determinaron los demás datos recolectados. El análisis se llevó a cabo en base seca tal como lo argumenta la postura de Heguy J.<sup>73</sup>, autor que señala, que toda investigación alimenticia en forrajes de bovino, debe ser sobre la muestra en base seca o también llamada materia seca (MS), ya que se debe eliminar el exceso de agua, debido a que no es relevante para el análisis, esta no contiene, ni produce energía en el rumiante.

Basados en la tabla 4 se determina a partir del porcentaje de cenizas una media de 8,103%, indicativo de que el material biológico que se trabajó tenía un contenido significativo de material no volátil como lo pueden ser algunas fibras y algunos minerales que se presentan en la hoja de *Mussaenda Erythrophylla* el cual según lo establecido está dentro del contenido óptimo, ya que como lo expresa Martínez A. y Delgado B<sup>74</sup>. en su artículo, donde resalta la importancia del contenido de estos minerales dentro de un alimento bovino y dieta en general, sugiere dentro de los parámetros no exceder el 10% en el contenido de ceniza ya que disminuirá el rendimiento energético del alimento, debido a que el mayor aprovechamiento del forraje se da sobre el material volátil.

El contenido de extracto etéreo (EE), también conocido como las grasas presentes en la planta, arrojaron un valor promedio (3,046%) que se evidencia bajo si es comparado con forrajes similares como los de *Gliricidia sepium* o *Pizamo* que arrojan valores de EE por encima del 5%. Tal como se revisó previamente en la literatura, se confirma que la planta de *Mussaenda Erythrophylla* no es de tipo oleaginosa, por lo tanto, el valor obtenido de 3,046% aunque es bajo, es aceptable dentro de forrajes y alimentos destinados para la producción bovina teniendo en cuenta los parámetros definidos por el agrónomo Anrique R.<sup>75</sup>, donde explica que los niveles de grasa en la alimentación bovina representan hasta un 50% de su

---

<sup>73</sup> HEGUY Jennifer, "Importancia de la materia seca y como medirla", Universidad de California-Cooperative extensión, 2018.

<sup>74</sup> MARTINEZ Adela, DELGADO Begoña, "parámetros de calidad y normas de recogidas de muestras en alimentos bovinos", P2, España.

<sup>75</sup> ANRIQUE Rene G., "Composición de alimentos para ganado bovino (4ta edición)", Universidad Austral de Chile, Chile, 2014.

fuentes de energía y por ende el contenido etéreo debe estar por encima del 3% para ser un alimento o suplemento aceptable para ser incluido dentro de una dieta bovina.

Con enfoque total y directo hacia la alimentación bovina, la fibra era un componente fundamental y de mayor interés, ya que este es la principal responsable de la buena digestión de los alimentos de estos animales y determina en gran parte qué tan viable y efectivo es la implementación de la planta de *Mussaenda Erythrophylla* como suplemento dietario para estos bovinos, el valor significativo que se esperaba se obtuvo y fue de un 15,086% por encima de los datos teóricos de plantas similares indicados por Aragón G; tales como Matarratón (*Gliricidia sepium*) (14,77%), Nacedero (*Trichanthera gigantea*) (15,00%), e inmediatamente da indicios de que en cuanto a contenido de fibra bruta, la *Mussaenda Erythrophylla* está por encima de sus similares que han sido usados como forrajes en suplementos dietarios y por lo tanto si podría ser sometida a análisis, estudios posteriores tales como “digestibilidad in vitro de forrajes” para determinar el comportamiento de esta en el rumen para su utilización en la alimentación bovina.<sup>76</sup>

Esta cantidad de fibra (15,086%), comparada frente a otros estudios y parámetros como los realizados por Garza J.<sup>77</sup> donde indica valores mínimos aceptables para la alimentación bovina es de un 8%, ya que se considera un nivel adecuado para mantener el pH ruminal por encima de 5.7; valores inferiores a este pH, reducen drásticamente la ingesta de materia seca en el ganado. Además, valores superiores incrementarían el porcentaje de grasa presente en la leche producida por el bovino.<sup>78</sup>

Al igual que la fibra nombrada anteriormente, un objetivo de mayor interés era la determinación del contenido de proteína presente en la planta de *Mussaenda Erythrophylla*, ya que como explica Ureña F; los alimentos bovinos deben ser altamente fortalecidos con proteína, ya que este metabolito es determinante en el crecimiento y peso de los bovinos, de los cuales se espera que tomen peso y crecimiento en el menor tiempo posible. Al igual que la fibra, el valor de proteína encontrado dio cabida a determinar el uso *Mussaenda Erythrophylla* como complemento o suplemento dietario dentro de la alimentación bovina.<sup>79</sup>

El valor promedio obtenido de proteína como se puede evidenciar en la tabla 4 fue de 10,03%, que al ser confrontado con datos de algunas plantas similares o de su

---

<sup>76</sup> ARANGO Gonzalo, “El Matarratón”, Corpoica, Colombia.

<sup>77</sup> Garza F. Juan de Dios “Importancia de la fibra en la salud rumiar del ganado productor de carne” México, 2017.

<sup>78</sup> Ovi España, España, ovino, 5 de mayo del 2016, vol 1. Consultado: 18 de marzo de 2021, Disponible: <https://www.oviespana.com/Articulos/298104-Importancia-de-la-fibra-en-la-formulacion-de-la-alimentacion-para-rumiantes>.

<sup>79</sup> UREÑA, Francisco, Digestión, absorción y metabolismo de las materias nitrogenadas, Archivos de medicina Veterinaria y Zootecnia, 2010, p 1-10.

especie como lo son el Matarratón (*Gliricidia sepium*) (14,10% proteína) o Pizamo (19,8% proteína), no es bastante alto para ser usado como alimentación directa en la dieta bovina donde exigen contenidos de proteína por encima del 15%, si aceptable para ser suministrado como complemento o suplemento dietario donde se aceptan por encima del 10% en el contenido de proteína.<sup>80</sup> tal como lo detalla Anrique R; en su artículo donde describe que el contenido de proteína degradable y no degradable efectiva de alimentos para rumiantes (%) correspondientes para forrajes verdes tipo hojas y tallos, debe oscilar entre los 10-23%, para considerarse óptimo.<sup>81</sup>

Se determinaron los nutrientes digestibles totales de la planta de *Mussaenda erythrophylla* para lograr analizar y determinar cuál iba a ser el aprovechamiento total del animal, es decir la valoración energética, el valor arrojado de este análisis fue de 67,65% que al igual que la proteína y la fibra se mantiene por encima de la media de los datos revisados en la literatura que señalan que los nutrientes digestibles totales están entre un rango del 40-50% dependiendo de la madurez y estado del cultivo, lo que refleja el gran potencial que posee la planta que se encuentra en la Región de la Orinoquia o en los Llanos orientales Colombianos y del buen aprovechamiento que se le puede dar a esta.<sup>82</sup>

## 5.2 VALORACION DE LA DETERMINACIÓN DE POLIFENOLES Y TANINOS EN LA *Mussaenda erythrophylla* MEDIANTE EXTRACCIONES QUÍMICAS.

### 5.2.1 Cinética de deshidratación

La cinética de deshidratación fue determinada durante un lapso de tiempo de 6 horas con intervalos de 1 hora, de las cuales se recolectaron los siguientes valores que se pueden evidenciar en la tabla 5, para de esta manera ser representados en una gráfica para ver de mejor manera como es el comportamiento de la curva.

Las variables de tiempo y peso fueron determinadas en minutos (min) y gramos (gr) respectivamente.

**Tabla 5.** Datos obtenidos de la muestra en el horno.

TIEMPO (min)	PESO (gr)
60	0,232
120	0,209

<sup>80</sup> ARANGO Gonzalo, "El Matarratón", Corpoica, Colombia.

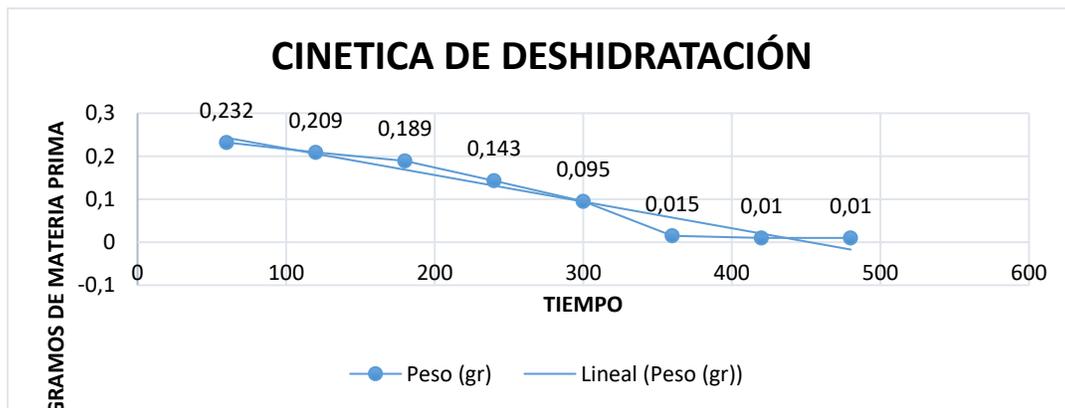
<sup>81</sup> ANRIQUE Rene G., "Composición de alimentos para ganado bovino (4ta edición)", Universidad Austral de Chile, Chile, 2014.

<sup>82</sup> MOYA Alexis, "Nutrición animal" Venezuela, 2016.

180	0,189
240	0,143
300	0,095
360	0,015
420	0,015
480	0,015

Fuente: Los autores.

**Gráfico 1.** Cinética de deshidratación.



Fuente: Los autores.

Tal como se puede evidenciar en el gráfico 1, solo se estabiliza la muestra y deja de perder peso hasta después de transcurridas las 6 horas, ya que los pesos tomados en los intervalos de tiempo siguientes, se mantiene en los 0,0015 g. Se puede de igual manera analizar que en el momento de estabilización de la curva, la muestra ha perdido cerca del 64,6% de su peso inicial. Apoyados en Villaseñor P. que determina que se ha llegado a una deshidratación cuando la pérdida de masa con respecto al valor inicial oscila entre un 60-65%.<sup>83</sup>

## 5.2.2 Extracción sólido-líquida

Por medio de destilación por Soxhlet (ver figura 24), a partir de una muestra de 7.0 g cada una utilizando como solvente etanol al 96% se realizó por triplicado. En la extracción a partir de cada sífon (3 en total) fue extraída un extracto de aproximadamente de 5.0 mL para de este modo evaluar concentraciones asumiendo cada sífon, como una etapa del proceso de extracción.

<sup>83</sup> VILLASEÑOR, P. C.: Análisis físico y mecánico de frutos de melón, Colegio de Posgraduados, Texcoco, México, 2005.

**Figura 24.** Extracción sólido-líquida.



**Fuente:** Los autores.

### 5.2.3 Determinación de Taninos (Etanol)

**Tabla 6.** Resultados de absorbancia determinación de taninos.

	Absorbancia (500nm)	Absorbancia (500nm)	Absorbancia (500nm)	Concentración Taninos
M1	0,2649	0,2769	0,2759	0,0943 (x100%)
M2	0,2725	0,2695	0,2735	0,0933 (x100%)
M3	0,2799	0,2789	0,2709	0,0921(x100%)

**Fuente:** Los autores.

En la prueba de taninos se realizaron lecturas de absorbancia en espectrofotómetro UV/VIS ultra 3660 Rigol a las muestras líquidas del extracto de *Mussaenda Erythrophylla* en diferentes concentraciones de la misma, en todas las muestras se encontraron valores de taninos por encima de 0.09%, los cuales no son óptimos para la digestibilidad de los bovinos. Tal como lo expresan los productores de taninos la concentración por encima del 7% (0,07) podrían producir un reacción astringente y daño en la flora intestinal bacteriana del animal, desencadenando una digestión incompleta de los alimento y absorción mínima de proteínas y demás nutrimentos. Aunque aún no hay normas técnicas de concentraciones óptimas, si se tiene conocimiento de lo nocivo que pueden llegar a ser en el rumen en estas cantidades elevadas de taninos.<sup>84</sup>

<sup>84</sup> OMPT, “Los taninos en la alimentación animal”, P1, 2018.

#### 5.2.4 Determinación de Poli fenoles (Etanol)

**Tabla 7.** Resultados de absorbancia determinación de Polifenoles.

	Absorbancia (480 nm)	Absorbancia (480 nm)	Absorbancia (480 nm)	Concentración µg AGE/ml extracto
M1	0,3647	0,3651	0,3597	101,589
M2	0,5603	0,5634	0,5665	165,815
M3	0,6335	0,6338	0,6340	198,851

**Fuente:** Los autores.

En la prueba de polifenoles se realizaron lecturas de absorbancia en espectrofotómetro UV/VIS ultra 3660 Rigol a las muestras líquidas del extracto de *Mussaenda Erythrophylla*, en concentraciones ascendentes. En todas las muestras se encontraron valores de polifenoles totales por encima de 101.00 hasta casi 200.00 en relación a µg AGE/ml extracto (ver tabla 7), determinando que no es óptimo para la digestibilidad de los bovinos. Tal como se encuentra definido los polifenoles en concentraciones bajas tienen buena respuesta contra bacterias como salmonellas, E. Coli, *Pasteurela multocida*, *Staphylococcus aureus*, y en concentraciones altas por encima de 100.00 µg AGE/mL pueden afectar directamente la salud del animal.<sup>85</sup>

Teniendo en cuenta que no se establecen a la fecha rango de concentraciones específicas en una norma técnica en referencia a los polifenoles y taninos en la alimentación bovina, si se sabe que su cantidad es directamente proporcional una de la otra. Por ende, se espera que las cantidades de Taninos y Poli fenoles sean proporcionales.<sup>86</sup> Al obtener resultados tanto de poli fenoles totales como de taninos en niveles altos, se determinó que era una planta que por su alto contenido de estos metabolitos nombrados anteriormente no iba a ser debidamente digerida por los animales, por ende, se planteó una disminución de estos compuestos, para lograr una optimización de la materia prima para ser utilizada para la alimentación de bovinos.

<sup>85</sup> Revista EL MERCURIO, Chile, Vol 1, Consultado:18 de marzo de 2021. Disponible: <https://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Noticias/2013/04/12/Por-que-administrar-polifenoles-en-la-dieta-de-los-rumiantes>

<sup>86</sup> OMPT, "Los taninos en la alimentación animal", P1, 2018.

### 5.3 Valoración de que solvente reduce el contenido de poli fenoles totales y taninos condensados en la *Mussaenda Erythrophylla* a niveles óptimos para una alimentación bovina

#### 5.3.1 Determinación de poli fenoles y taninos en las muestras recolectadas a partir de la destilación con Metanol como solvente

##### 5.3.1.1 Determinación de Taninos (Metanol)

**Tabla 8.** Resultados de absorbancias de determinación de taninos.

	Absorbancia (500nm)	Absorbancia (500nm)	Absorbancia (500nm)	Concentración Taninos
M1	0,2437	0,2673	0,2657	0,0936 (X100%)
M2	0,2555	0,2584	0,2632	0,0935 (X100%)
M3	0,2698	0,2666	0,2539	0,0937 (X100%)

**Fuente:** Los autores.

##### 5.3.1.2 Determinación de Poli fenoles (Metanol)

**Tabla 9.** Resultados de absorbancias de determinación de poli fenoles.

	Absorbancia (480 nm)	Absorbancia (480 nm)	Absorbancia (480 nm)	Concentración $\mu\text{g AGE/mL}$ extracto
M1	0,3332	0,3324	0,3386	99,576
M2	0,5603	0,5634	0,5665	145,235
M3	0,6335	0,6338	0,6340	173,623

**Fuente:** Los autores.

#### 5.3.2 Determinación de polifenoles y taninos en las muestras recolectadas a partir de la destilación con Butanol como solvente

##### 5.3.2.1 Determinación de Taninos (Butanol)

**Tabla 10.** Resultados de absorbancias de determinación de taninos.

	Absorbancia (500nm)	Absorbancia (500nm)	Absorbancia (500nm)	Concentración µg AGE/mL extracto
M1	0,2039	0,2014	0,2039	0,0612 (X100%)
M2	0,2153	0,2144	0,2042	0,0644 (X100%)
M3	0,2133	0,2159	0,2117	0,0621 (X100%)

**Fuente:** Los autores.

### 5.3.2.2 Determinación de Poli fenoles (Butanol)

**Tabla 11.** Resultados de absorbancias de determinación de poli fenoles

	Absorbancia (480 nm)	Absorbancia (480 nm)	Absorbancia (480 nm)	Concentración µg AGE/ml extracto
M1	0,2926	0,2914	0,2917	81,432
M2	0,4953	0,4936	0,4935	132,233
M3	0,5822	0,5832	0,5840	159,412

**Fuente:** Los autores.

Se tomaron como reactivos de referencia el butanol y el metanol para realizar la lixiviación, analizando los extractos que tanto habían disminuido estos compuestos y cual tenía mayor y mejor rendimiento frente a lo que se esperaba. En base a la investigación realizada por Céspedes A. (2013) donde señala la utilización de solventes tales como alcoholes, en la extracción y reducción de taninos por medio del procedimiento denominado lixiviación.<sup>87</sup>

Luego de determinar taninos y poli fenoles con cada uno de los solventes usados se logró determinar que comparando los valores finales el solvente de butanol fue quien redujo en mayor cantidad los poli fenoles totales y los taninos, ya que los valores promedio obtenidos en las concentraciones se encuentran dentro de lo aceptable que recomienda y sugieren para la alimentación bovina.<sup>88</sup>

**Tabla 12.** Prueba Tukey de los diferentes solventes en la reducción de concentraciones de taninos condensados.

<sup>87</sup> CESPEDES A., MUÑOZ G, "INFLUENCIA DE LA TEMPERATURA, SOLVENTE Y TIPO DE VAINA EN LA EXTRACCION DE TANINOS DE *Caesalpinia spinosa* (Tara) POR PERCOLACION Y RELACION CON SU ACTIVIDAD ANTIOXIDANTE" P 39, Peru, 2013.

<sup>88</sup> Revista EL MERCURIO, Chile, Vol 1, Consultado:18 de marzo de 2021. Disponible: <https://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Noticias/2013/04/12/Por-que-administrar-polifenoles-en-la-dieta-de-los-rumiantes>.

SOLVENTE	N	MEDIA	AGRUPACIÓN	
METANOL	3	0,094	A	
ETANOL	3	0,093	A	
BUTANOL	3	0,063		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**Fuente:** Los autores.

**Tabla 13.** Prueba Tukey de los diferentes solventes en la reducción de concentraciones de polifenoles totales.

SOLVENTE	N	MEDIA	AGRUPACIÓN	
ETANOL	3	155,418	A	
METANOL	3	139,478	A	B
BUTANOL	3	124,359		B

Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.

**Fuente:** Los autores.

Que el butanol haya reducido los niveles de taninos y poli fenoles en la planta, hace que la utilización de las hojas de la planta para alimentación bovina en el uso de suplemento dietario sea posible, ya que no va sufrir problemas digestivos o en el rumen a causa de elevados niveles de estos metabolitos.

#### 5.4 Análisis estadísticos

Se busca hacer un análisis estadístico apoyado en graficas con el fin de normalizar datos y comprender el comportamiento de los polifenoles y taninos frente a los diferentes solventes usados (etanol, metanol, butanol).

Se representa gráficamente el comportamiento de los datos obtenidos de las diferentes concentraciones halladas para cada solvente (etanol, metanol, butanol) tanto polifenoles como taninos en las muestras de *Mussaenda Erythrophylla* ver Anexo 1.

Por medio de la prueba realizada de Shapiro Wilk donde se midió la simetría de los datos mediante esta prueba de normalidad (ANEXO 1 y 2) donde se puede observar que la población de datos de cada nivel de factor analizado tuvo un comportamiento simétrico o normal, donde el valor p de cada una de las pruebas de normalidad fueron superior a 0,05, el error estadístico, aceptando la hipótesis nula que dice que toda la población de datos es normal. Seguidamente se le realizó una prueba de igualdad de varianzas (Prueba de Bartlett) arrojando un valor de p del 0.05

aceptando la hipótesis nula de todas las varianzas de la población es igual (ver ANEXO 3 y 4).

Como se puede observar en la tabla 12 el valor p fue inferior a 0.05 indicando que al menos uno de los solventes utilizados para la determinación de la concentración de polifenoles es diferente, rechazando la hipótesis nula de la investigación.

**Tabla 14.** ANOVA de los datos obtenidos en la concentración de polifenoles a diferentes solventes.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
SOLVENTE	2	1447,4	723,68	16,97	0,011
MUESTRA	2	10646,2	5323,08	124,84	0,000
Error	4	170,6	42,64		
Total	8	12264,1			

Fuente: Los autores.

De igual manera como se puede observar en la tabla 13, el valor p fue inferior a 0.05, indicando que al menos uno de los solventes utilizados para la determinación de la concentración de taninos condensados es diferente, rechazando la hipótesis nula de la investigación.

**Tabla 15.** ANOVA de los datos obtenidos en la concentración de taninos a diferentes solventes.

<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
SOLVENTE	2	0,001904	0,000952	631,04	0,000
MUESTRA	2	0,000002	0,000001	0,62	0,584
Error	4	0,000006	0,000002		
Total	8	0,001912			

Fuente: Los autores.

## 6 CONCLUSIONES

- ✓ Se logró determinar mediante un análisis proximal la composición elemental de la *Mussaenda Erythrophylla* y se establecieron como los datos más relevantes sobre la investigación el contenido de proteína por encima del 10% y el contenido de fibra por encima del 15%, debido a que son los principales componentes que se tienen en cuenta dentro de la dieta del bovino por su participación directa en crecimiento y producción (cárnica o láctea) del animal y por ende sustentan el posible uso de este forraje dentro de su alimentación.
- ✓ Se usó el método de Folin-Ciocalteu y el reactivo de vainillina para determinar la concentración de poli fenoles totales y taninos en la *Mussaenda Erythrophylla* en muestras determinadas mediante extracciones químicas, y se logra determinar que la planta posee gran contenido de ambos metabolitos, lo que la hace imposible usar para alimentación bovina sin un previo tratamiento químico que reduzca estos niveles.
- ✓ Se determinó que el Butanol logro disminuir los niveles tanto de taninos como de poli fenoles totales en la muestra de *Mussaenda Erythrophylla* a cifras por debajo de 7% (0,07) en el caso de los taninos y 100.00 µg AGE/mL en pilifenoles totales; frente a la evaluación de los otros dos solventes (Etanol y Metanol) que arrojaron valores promedios por encima de los datos anteriormente mencionados y que ´por ende iban a inhibir la digestibilidad y la captación de los nutrientes por parte del animal.

## BIBLIOGRAFIA

ALMEIDA, Jacqueline, Propagación invitro de la Mussaenda, Revista Científica de América Latina, Caribe, España y Portugal, 2010, p. 38.

ANGELO, Georgina, Secar o deshidratar plantas, Botánica, Fitoterapia, 2016, p 1.

ANRIQUE Rene G., "Composición de alimentos para ganado bovino (4ta edición)", Universidad Austral de Chile, Chile, 2014.

AREGHEORE, Emmanuel, Valor nutritivo y anti nutritivo de algunas leguminosas arbóreas utilizadas en la nutrición del ganado rumiante en los países insulares del Pacífico, Journal of South Pacific Agriculture, 2000, p. 44.

BC Ministry of Agriculture, Fisheries and Food (Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación de B.C.) 1994, p 1.

CADAVID, Álvaro, Establecimiento de sistemas silvopastoriles, Federación Colombiana de Ganaderos FEDEGAN, 2013, p. 5-6.

CARMONA, Juan Carlos, Efecto del uso de forraje de árboles y arbustos sobre la dinámica digestiva en bovinos, Revista Lasallista de Investigación, 2007, p 41.

CASTILLO, Alejandro, Uso de Poli-fenoles taninos en la nutrición de rumiantes, Universidad de California, 2013, p 1.

CONSEJO NACIONAL DE TECNOLOGIA, Extracción de Soxhlet, Revista saber más Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, 2009, p 1.

FRANKE, Susana, Mussaenda erythrophylla, Revista Journalist-Scientific, 2007, p. 2.

FRANZOLIN, Rodrigo, Evaluación de la población de protozoarios ciliados en el rumen, retículo y omaso y del tracto digestivo en bovinos alimentados en tres niveles de energía, Revista de la Facultad de Agronomía, 1998, p.58-63.

GALLEGO, Orlando, Mufla, tplaboratorioquimico, 2008, p 1.

GARZA F. Juan de Dios "Importancia de la fibra en la salud rumiar del ganado productor de carne" México, 2017.

GIL, Maria, Propagacion de Mussaenda erythrophylla, universidad Arturo Prat, 2012, p 18.

GLEN, Augusto, Determinación de proteínas mediante el método de kjendahl, Documentos Scribd, 2011, p 1.

GUERRA, Pamela. Síntesis de Vitaminas en el Rumen {en línea}. 2010.

INSTITUTO NACIONAL TECNOLÓGICO, Manual de nutrición animal, 2016, p. 7.

Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria, Manual de Nutrición, pg.26, 2007.

LAJO, Rosina, Léxico de arte. Madrid: Akal. 2008 p. 103.

LASA, Jon, Servicio de rumiantes de nuevas tecnologías de gestión alimentaria, european prrs research award, 2012, p 1.

MARTINEZ Adela, DELGADO Begoña, "parámetros de calidad y normas de recogidas de muestras en alimentos bovinos", P2, España.

MARTINEZ, Eva, Determinación de polifenoles totales por el método de Folin-Ciocalteu, Universidad Pontifica de Valencia, 2008, p 5.

MEDREROS, Karel, plantas del genero mussaenda, Naturaleza tropical, 2015, p 1.

MERCOLA, David, Polifenoles, Mercola "Tome el control de su salud", 2015, p 1.

OMPT, "Los taninos en la alimentación animal", P1, 2018.

ORGANIZACIÓN DE LAS NACIONES UNIDAS PARA LA AGRICULTURA Y LA ALIMENTACIÓN 2010, p 8.

ORTEGA, Viviana. Carbohidratos y grasas, fuente de energía, El espectador, Bogotá, 2016. p 1.

OSORIO, Henry, El metabolismo Lipídico Bovino y su relación con la dieta, condición corporal, estado productivo y patologías asociadas, 2010, p. 57.

Ovi España, España, ovino, 5 de mayo del 2016, vol 1. Consultado:18 de marzo de 2021, Disponible: <https://www.oviespana.com/Articulos/298104-Importancia-de-la-fibra-en-la-formulacion-de-la-alimentacion-para-rumiantes>.

PEÑA, Milena, Determinación de cenizas por medio de Calcinación, Food Technology, Tecnología de los Alimentos, 2011, p 1.

PUCCIO, Prieto, Requerimientos edafoclimáticos de especies de Mussaenda, 1970, p 16.

Revista EL MERCURIO, Chile, Vol 1, Consultado:18 de marzo de 2021. Disponible: <https://www.elmercurio.com/Campo/Noticias/Noticias/2013/04/12/Por-que-administrar-polifenoles-en-la-dieta-de-los-rumiantes>

RICO, Mateo, Definición de humedad, Ministerio de Medio Ambiente, 2007, p 1.

ROIGE, Bernardo, Efecto de algunos tóxicos de origen vegetal y fúngico en el rumen, Archivos de Medicina Veterinaria, 2007, p 6-10.

ROMERO, Pedro, Proceso de deshidratación osmótica en plantas, 2016, p 1.

SOSA, Andrés, Métodos de determinación de Carbohidratos, Documentos Scribd, 2015, p 7.

SUARES, Álvaro, El uso de taninos condensados como alternativa nutricional y sanitaria en rumiantes, Revista de Medicina Veterinaria Nro. 16, 2008, p 87.

TAPIA, Martín, Efecto de algunos tóxicos de origen vegetal y fúngico en el rumen, Archivos de Medicina Veterinaria, 2000, p. 5-16.

UREÑA, Francisco, Digestión, absorción y metabolismo de los carbohidratos en mono gástricos y rumiantes, Archivos de Medicina Veterinaria, 2010, p.1.

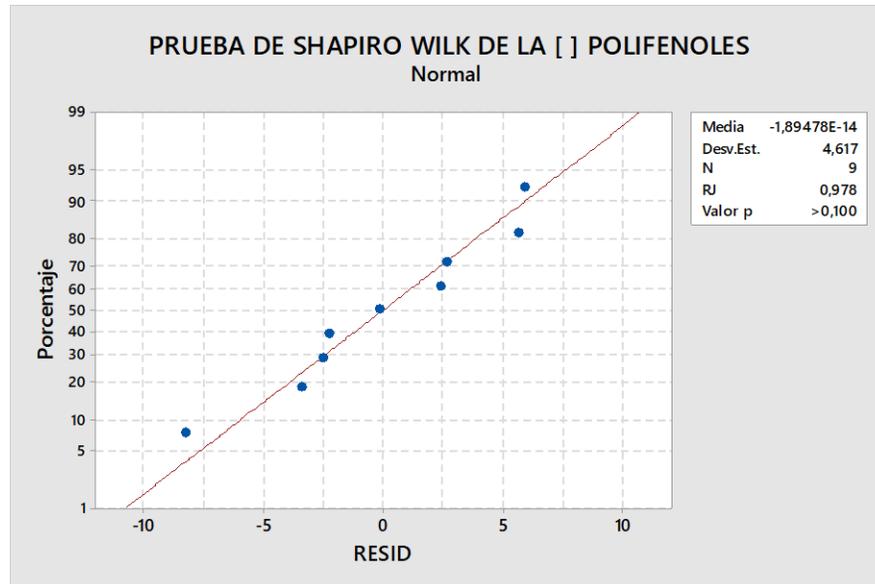
VAN SOEST, Pablo, Nutritional ecology of the ruminant, Cornell University Press, 2000, p. 275.

ZABALETA, Hunter, efectos de ácido naftalen acético y ácido giberélico en el enraizamiento de microestacas de morinda citrifolia L. "noni" a partir de plántulas

establecidas in vitro. iquitos-perú, Universidad nacional de la amazonia peruana, 2012, p 4.

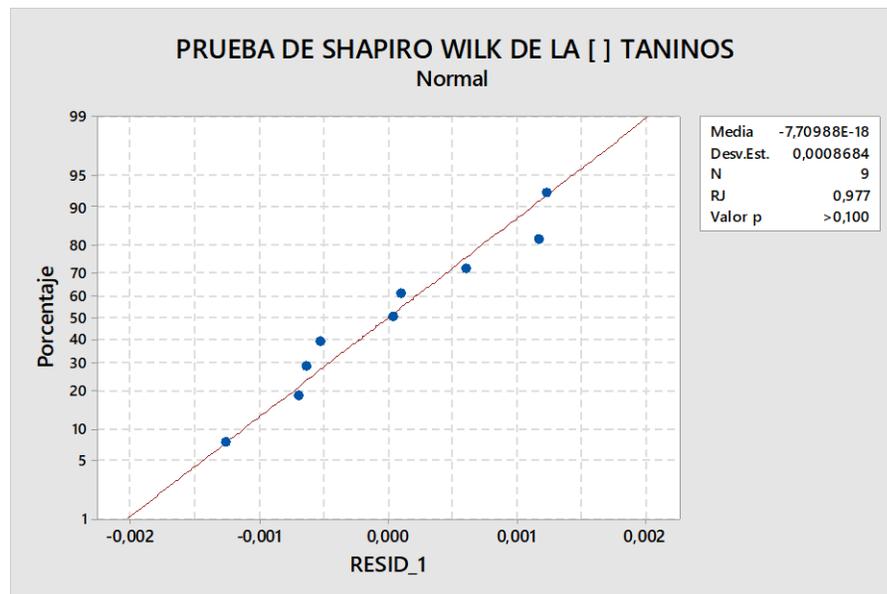
## ANEXOS

### ANEXO 1. Prueba de Shapiro Wilk de la Concentración de Polifenoles.



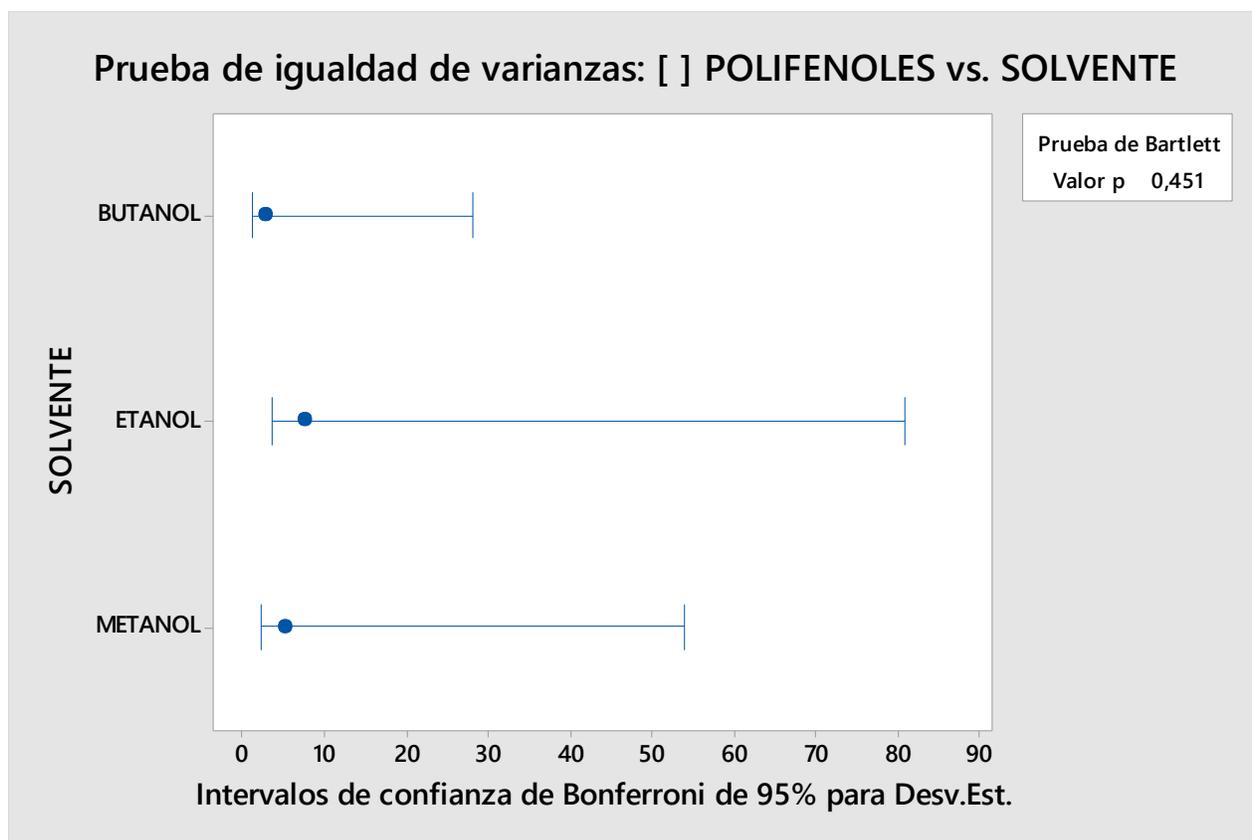
Fuente: Los autores.

### ANEXO 2. Prueba de Shapiro Wilk de la concentración de Taninos.



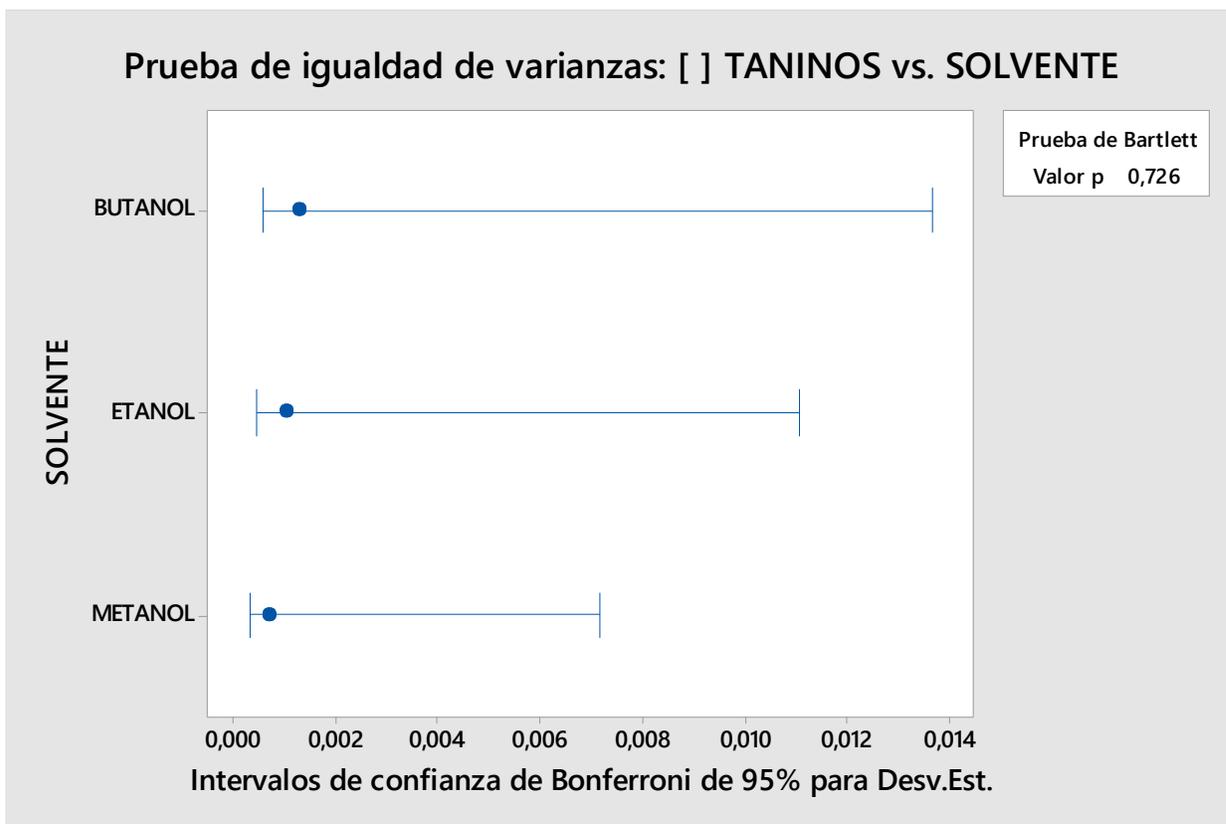
Fuente: Los autores.

**ANEXO 3.** Prueba de igualdad de varianzas: Concentración de Polifenoles Vs Solvente.



Fuente: Los autores.

**ANEXO 4.** Prueba de igualdad de varianzas: Concentración de Taninos Vs Solvente.



**Fuente:** Los autores.