

**UNIVERSIDAD NACIONAL**  
**“SANTIAGO ANTUNEZ DE MAYOLO”**

**FACULTADES DE CIENCIAS Y CIENCIAS AGRARIAS**



**TÍTULO**

**Caracterización química y toxicológica del *Astrágalus*  
*garbancillo Cav.* - Garbancillo**

**Chemical and toxicological characterization of *Astragalus*  
*garbancillo Cav.*- Garbancillo.**

**AUTORES:**

**Juan Moises Roque González.<sup>1</sup>**

**Edson Gilmar Yupanqui Torres.<sup>2</sup>**

**Edell Doriza Aliaga Zegarra.<sup>3</sup>**

**Jenny Luz Álvarez Bautista.<sup>4</sup>**

**Olivio Nino Castro Mandujano.<sup>5</sup>**

**<sup>1</sup>Departamento de Agronomía, FCA-UNASAM.**

**<sup>2y3</sup>Departamento de Ciencias. FC-UNASAM**

**<sup>4</sup>Departamento de Enfermería -UAL**

**<sup>5</sup> Sección Química - PUCP.**

**Huaraz – Ancash – Perú**

**2015**

## RESUMEN

El *Astrágalus garbancillo* Cav., o simplemente “garbancillo” es una leguminosa silvestre que crece en las praderas nativas de la zona alto andina del Perú entre los 2700 a 4500 msnm, cuando la pradera esta sobre pastoreada, se comporta como una planta invasora e incrementa su población en desmedro de las especies apetecibles para el ganado, cuando llega el periodo de estiaje el ganado lo consume, generándole con el tiempo un proceso de intoxicación, volviéndolos adictos en un principio y la muerte en las fases avanzadas y su carne no es apta para el consumo, todo este proceso dura aproximadamente dos meses.

Las plantas tóxicas como el garbancillo es una de las causas principales de pérdidas económicas en la industria ganadera, ya que, provocan la morbilidad y mortalidad en el ganado, siendo los equinos, ovinos y vacunos las especies más susceptibles a esta intoxicación.

La presente investigación contribuye al mejor conocimiento del garbancillo para adoptar las medidas preventivas a la intoxicación del ganado evitando las pérdidas económicas que afectan a los ganaderos alto andinos, por tanto, es una investigación exploratoria y analítica.

El objetivo de la investigación es conocer los componentes químicos y la toxicidad del “garbancillo”, para esto se plantearon los siguientes análisis: análisis fitoquímico (método de la Dra. Olga Lock), determinación de ácidos grasos y esteroides (Cromatografía de gases), determinación de metales (método de ICP), determinación de selenio (absorción atómica con generación de hidruros), y la toxicidad como DL<sub>50</sub> (OECD Guideline 401 for testing of chemicals. Acute oral toxicity).

Los resultados de ácidos grasos mayoritarios fueron: esteárico (10,6%), cis-oleico (6,7%), linoleico (5,8%) y palmítico (13,2%). Esteroides mayoritarios: brassicasterol (44,03%), β-sitosterol (22,3%); estigmasterol (13,1%). Metales mayoritarios: K (15 g/Kg), Ca (9,65 g/Kg), Mg (2,07 g/Kg), Fe( 0,37 g/Kg), Al (0,25 g/Kg). En cuanto a Se (2,2 mg/Kg). Fitoquímico: alcaloides (+++), taninos y fenoles (+++), esteroides (+++), triterpenos (+++) y la toxicidad como DL<sub>50</sub> mayor a 5,0 g de producto/Kg de pc.

En conclusión, la adicción del ganado al consumo del garbancillo se debe a los alcaloides y la morbi-mortalidad se debe a la intoxicación, toda vez, que el garbancillo es un acumulador de selenio.

**PALABRA CLAVE:** Astrágalus garbancillo Cav., toxicidad garbancillo, caracterización química garbancillo. Garbancillo: esteroides, ácidos grasos, metales.

## ABSTRACT

*Astragalus garbancillo* CAV., or simply "garbancillo" is a wild legume that grows in the native area Prairies high Andes of Peru among the 2700 to 4500 meters above sea level, when this Prairie over grazed, it behaves like an invasive plant and increase its population at the expense of appealing for livestock species, when it comes the period of low water the cattle consume generating a process of poisoning over time, making them addicts in initially and death in advanced stages and their meat is not suitable for consumption, this process lasts approximately two months.

Toxic plants as the garbancillo is one of the main causes of economic losses in the livestock industry, since they cause morbidity and mortality in the cattle, being horses, sheep and cattle more susceptible species to this poisoning.

This research contributes to a better understanding of the garbancillo to take preventive measures to the poisoning of livestock by avoiding economic losses that affect livestock Andean high, therefore, is an exploratory and analytical research.

The objective of the research is to know the chemical components and the toxicity of the "garbancillo", this raised the following analysis: analysis phytochemical (Dr. Olga Lock method), determination of fatty acids and sterols (gas chromatography), determination of metals (ICP method), determination of selenium (atomic absorption with hydride generation), and toxicity as DL<sub>50</sub> (OECD Guideline 401 for testing of chemicals.) Acute oral toxicity).

The results of the major fatty acids were: stearic (10.6%), cis-oleic (6.7%), linoleic (5.8%) and Palmitic acid (13.2%). Major sterols: brassicasterol (44,03%),  $\beta$ -sitosterol (22.3%); stigmasterol (13.1%). Major metals: K (15 g/Kg), Ca (9,65 g/Kg), Mg (2.07 g/Kg), faith (0.37 g/Kg), (0.25 g/kg). With regard to it (2.2 mg/Kg). Phytochemical: (++++) alkaloids, tannins and phenols (+++), steroids (+++), triterpenes (+++) and toxicity as DL<sub>50</sub> greater than 5.0 g of product/Kg of pc.

In conclusion, the garbancillo consumption addiction of livestock is due to the alkaloids and morbi-mortality is due to intoxication with Se, since, the garbancillo is an accumulator of selenium.

**KEY WORDS:** *Astragalus garbancillo* Cav., toxicity garbancillo, chemical characterization garbancillo. Garbancillo: sterols, acids, metals.

## ÍNDICE GENERAL

	<b>Página</b>
<b>RESUMEN</b>	<b>2</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>4</b>
1. INTRODUCCIÓN	6
1.1. Problema	7
1.2. Objetivos	7
1.3. Justificación	8
2. HIPÓTESIS	9
3. BASES TEÓRICAS	10
3.1. Definición de términos	13
4. MATERIALES Y MÉTODOS	15
4.1. Equipos	15
4.2. Materiales	15
4.3. Métodos	16
5. RESULTADOS	21
5.1. Identificación taxonómica y descripción del garbancillo	21
5.2. Análisis fitoquímico	22
5.3. Análisis de metales (Se)	23
5.4. Análisis de ácidos grasos	24
5.5. Análisis de esteroides	24
5.6. Análisis toxicológico como DL50	25
6. DISCUSIÓN	26
7. CONCLUSIONES	28
8. RECOMENDACIONES	29
9. REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA	30
<b>ANEXOS</b>	<b>32</b>

## 1. INTRODUCCIÓN

El *Astrágalus garbancillo* Cav., o simplemente “garbancillo” es una leguminosa silvestre que crece en las praderas nativas de la zona alto andina del Perú entre los 2700 a 4500 msnm, normalmente cuando la pradera se encuentra en buenas condiciones, la presencia de garbancillo pasa desapercibida e igualmente el ganado lo ignora. Pero, cuando la pradera esta sobre pastoreada, se comporta como una planta invasora e incrementa su población en desmedro de las especies más apetecibles para el ganado; entonces, cuando llega la época de estiaje el ganado lo consume, generándole con el tiempo un proceso de intoxicación por los componentes químicos contenidos en la planta, que termina con una afección clara al sistema nervioso en las primeras etapas y la muerte en las fases avanzadas, haciendo inviable el consumo de la carne del animal muerto por intoxicación con garbancillo.

Las plantas tóxicas representan una de las causas principales de pérdidas económicas en la industria ganadera. Las pérdidas pueden ser de tipo directo, las cuales incluyen: muerte y/o pérdida de peso en los animales envenenados, abortos, incremento en el intervalo entre partos, defectos congénitos, fotosensibilización, debilidad, etc. Además, representan pérdidas indirectas asociadas a los esfuerzos encaminados a controlar o minimizar el envenenamiento de los animales, como puede ser: la construcción de cercos adicionales, alimentación suplementaria, arreos extraordinarios, medicamentos, así como, pérdidas de forraje debidas a la perturbación en los programas de pastoreo.

El consumo de garbancillo por el ganado provoca morbilidad y mortalidad, siendo los equinos, ovinos y vacunos las especies más susceptibles. Los animales que los consumen se vuelven adictos y cuando lo hacen por mucho tiempo mueren. Los animales intoxicados presentan pelo anormalmente largo, depresión, los nervios ópticos son afectados, pérdida del control muscular, temblores en los miembros anteriores, conforme la intoxicación avanza el animal enflaquece y deja de comer, sobreviene una parálisis total y muere. Este proceso dura aproximadamente dos meses. En los primeros cinco días de consumo, el animal se puede recuperar con un tratamiento adecuado o con el retiro total del garbancillo de su dieta.

El garbancillo también es utilizado por la población andina como medicina natural contra la urticaria, cefalalgia, para la caspa, en etnoveterinaria para el control de acariosis, como insecticida, también como jabón y leña.

El presente trabajo se orienta al conocimiento de los compuestos químicos presentes en esta planta, mediante un análisis fitoquímico, en términos de: taninos, quinonas, flavonoides, alcaloides, esteroides, triterpenos, catequinas; también el contenido de metales, especialmente el selenio, toda vez que su presencia puede ser beneficiosa o tóxica, dependiendo de la cantidad; asimismo, la determinación de ácidos grasos y esteroides, y finalmente, evaluar el grado de toxicidad de esta planta con la determinación de la dosis letal media (DL<sub>50</sub>). El conocimiento de los análisis permite caracterizar al garbancillo, lo cual lleva a un conocimiento mejor de la planta y cuidado a tener en cuenta en la alimentación de los animales.

La presente investigación contribuirá al mejor conocimiento de esta planta, para adoptar medidas preventivas a la intoxicación del ganado, evitando así las pérdidas económicas que afectan a los ganaderos por la morbi-mortalidad de sus animales.

## **1.1.PROBLEMA**

El consumo de garbancillo por el ganado en el periodo de estiaje produce una intoxicación en el animal, volviéndolo adicto en un principio y posteriormente su muerte y su carne no es apta para el consumo, por tanto, las plantas tóxicas como el garbancillo es una de las causas principales de las pérdidas económicas en la industria ganadera, siendo los equinos, ovinos y vacunos las especies más susceptibles.

## **1.2. OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Conocer los componentes químicos más importantes y la toxicidad oral aguda del *Astragalus garbancillo Cav.*- Garbancillo, para evitar que el ganado muera al consumir esta planta.

## **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Realizar un análisis fitoquímico del *Astragalus garbancillo Cav.* Garbancillo.
- Determinar el contenido de metales en el *Astragalus garbancillo Cav.* Garbancillo.
- Determinar la presencia del selenio en el *Astragalus garbancillo Cav.* Garbancillo.
- Determinar los ácidos grasos y esteroides del *Astragalus garbancillo Cav.* Garbancillo.
- Determinar la toxicidad oral aguda (DL<sub>50</sub>) del *Astragalus garbancillo Cav.* Garbancillo.

### **1.3. JUSTIFICACIÓN**

Beneficio económico para los ganaderos al identificar, cualificar y cuantificar los componentes químicos y el grado de toxicidad de la planta, para tomar medidas que eviten la morbilidad y mortalidad de su ganado.



## 2. HIPÓTESIS

El conocimiento de los compuestos químicos y la toxicidad oral aguda del *Astragalus garbancillo Cav.*- garbancillo, permitirá controlar el envenenamiento en los animales que consumen esta planta, minimizando y evitando sus efectos nocivos en la salud del ganado, de esta manera evitar pérdidas económicas en los ganaderos.

## 3. BASES TEÓRICAS

Según los estudios de Antonio Brack (1999), el *Astragalus garbancillo Cav.* Garbancillo contiene selenio, este elemento se usa con diversos fines inclusive en el tratamiento de pacientes con SIDA. El selenio es un micronutriente para todas las formas de vida conocidas, que se encuentra en el pan, los cereales, el pescado, las carnes, las lentejas, la cáscara de las patatas y los huevos.

Kimura et al., (2002) reportaron que las vacas con retención de membranas fetales (RMF) presentan un inadecuado funcionamiento de los neutrófilos desde las dos semanas antes del parto. Así mismo, Hogan et al., (1990), han demostrado que los neutrófilos de vacas deficientes en selenio son menos funcionales que en vacas con adecuado status de selenio. Este efecto podría explicarse porque la suplementación de selenio reduce la RMF. Está presente en el aminoácido selenocisteína y también se puede encontrar como selenometionina, reemplazando al azufre de la cisteína y la metionina respectivamente. Forma parte de las enzimas glutatión peroxidasa y tiorredoxina reductasa. Es antioxidante, ayuda a neutralizar los radicales libres, induce la apoptosis, estimula el sistema inmunológico e interviene en el funcionamiento de la glándula tiroides. Las investigaciones realizadas sugieren la existencia de una correlación entre el consumo de suplementos de selenio y la prevención del cáncer en humanos. Aún es tema de investigación, pero se sabe que la forma química en la que se encuentra el selenio (selenito, selenato o selenoaminoácidos) afecta a su absorción y a su posible toxicidad. Los datos actuales apuntan a que la forma orgánica (formando

parte de proteínas como selenoaminoácidos) es la más beneficiosa para los animales. Además potencia el buen humor.

Según, Krasteva, I., Nikolov, S., (2008), del *Astragalus corniculatus*, se ha obtenido flavonoides como la vitexin, orientin y el eriodictiol-7-O-glicosido y el isorhamnetina-3-O-glicosido.

El-Hawiet, A.M. et al., (2010), investigaron al *Astragalus annularis*, de la cual aislaron 8 compuestos (isorhamnetin-3-O-glucosido, isorhamnetin-3-O.rutinosido, sorbifolin. Del *Astragalus trimestris* se aisló: soyasaponina, apigenina-7-O- B-D-glucopiranososa (1-3) B-D-glucopiranosido, sorbifolin, 8-metoxivestiol y stigmasterol.

Para el *Astragalus garbancillo* hay dos subespecies, según los estudios taxonómicos de Edith Gómez-Sosa (Botánica Argentina), la característica general es: hierbas erectas, tallos de 0,70 m altura; legumbre suavemente incurva, base truncada, subbilocular por sutura dorsal invaginada seguida por un falso semitabique membranoso que divide el lóculo en forma parcial. Quilla obtusa para *A. garbancillo var. garbancillo* y Quilla apiculada para el *A. garbancillo var. mandoni* .

La distribución del garbancillo en la sierra está entre 2000 y 4500 msnm. Sus usos son:

- En medicina contra la urticaria, cefalalgia, para el control de la caspa.
- En etnoveterinaria para control de acariosis.
- Como jabón para lavar la ropa.
- Como insecticida.
- Como leña.

También tiene las siguientes propiedades:

Propiedades hepatoprotectoras, anti-inflamatorias, antioxidantes, inmunoestimulantes, antivirales, antibacterianas y actividad antineoplásica.

La distribución de esta planta en el Perú es: **Amazonas** ( Prov. Chachapoyas, Atuén - Chuquibamba); **Ancash**, (Catac -Laguna Querococha, Prov. Bolognesi, Racrachacra (Caserío de Aquia), Pampa de Lampas, Chiquian, Prov. Carhuáz, Parque Nac. Huascarán, Cord. Blanca, Prov. Corongo, Ocshamarca, Prov. Huaylas, cerro Cunka y Auquispuquio; **Ayacucho**, Prov. Lucanas, a lo largo de Puquio a Lucanas; **Cajamarca**, (Bambamarca, Chumbivilcas, Tuntuma, Colquemarca); **Cusco**, (Huayocari, Yanacocha, Urubamba, Machupichu, Camino del Inca, Sacsacancha); **Huancavelica**, (Prov. Huancavelica, Caullapa, Conaica); **Junin**, (Prov. Pasco, Oroya, Tarma); **La Libertad**, (Prov. Bolívar, Colpacucho); **Lima**, (Río Blanco) y en **Puno**, (Prov. Huancané, Moho).

Según Aguadé y Chávez (INIFAP), Los alcaloides se encuentran en diversidad de plantas tóxicas, entre las que figuran principalmente: la cicuta venenosa (*Conium* spp.); cebadilla (*Zigademus* spp.); tabaco o tabaquillo (*Nicotiana* spp.); espuela de caballero (*Delphinium* spp.); trompillo o hierba mora (*Solanum* spp.), presentándose un alcaloide (la locaina) como uno de los compuestos tóxicos en la hierba loca o garbancillo (*Astragalus* spp.). Asimismo, se distribuyen por toda la planta, por lo que cualquier parte de esta puede causar el envenenamiento. Aunque los síntomas variarán de acuerdo a la planta tóxica ingerida, por lo general los animales intoxicados por estos compuestos muestran un aumento en la salivación, vómitos, dilatación de las pupilas, diarrea seguida de constipación, timpanismo, incoordinación, debilidad, convulsiones y coma.

Según Aguadé y Chávez (INIFAP), el consumo de plantas que contengan niveles tóxicos de selenio puede producir envenenamientos agudos o crónicos. Los primeros son poco frecuentes, caracterizándose por: falta de apetito, dificultad respiratoria, sed intensa, depresión y colapso en 24 a 72 horas., la muerte se produce por falla respiratoria y/o cardiaca. A la necropsia, se observan: inflamación severa en intestinos, congestión y/o hemorragias en pulmones y órganos abdominales, así como degeneración en hígado y riñones, La intoxicación crónica puede presentar (dependiendo del, grado de envenenamiento), dos signos característicos: 1.- ceguera - incoordinación, 2.- “enfermedad alcalina”. Los primeros signos, se caracterizan por

animales que presentan ceguera, chocando con objetos y que muchas veces se encuentran empujando postes o puertas de forma incoordinada. La muerte puede presentarse después de una debilidad progresiva debido a una falla respiratoria. La “enfermedad alcalina”, se caracteriza por animales tristes, que pierden peso en forma progresiva y que además presentan cojeras, debido a lesiones en las Plantas Tóxicas en el ganado 11 pezuñas (laminitis), que pueden ir desde surcos y deformaciones en las pezuñas, hasta separación y pérdida del casco.

### 3.1. DEFINICIÓN DE TÉRMINOS

**Flavonoides:** (del latín *flavus*, "amarillo") es el término genérico con que se identifica a una serie de metabolitos secundarios de las plantas. Los flavonoides han adquirido notoriedad pública a raíz de su actividad biológica en el hombre, que los consume con los vegetales. Los flavonoides poseen propiedades muy apreciadas en medicina, como antimicrobianos, anticancerígenos, disminución del riesgo de enfermedades cardíacas, entre otros efectos.

**Alcaloides:** Se llaman **alcaloides** (de *álcali*, carbonatos de alcalinos, y *-oide*, parecido a, en forma de) a aquellos metabolitos secundarios de las plantas sintetizados, generalmente, a partir de aminoácidos. La actividad biológica de los alcaloides es muy diversa, la más estudiada es la acción euforizante que presentan algunos de ellos y los efectos depresores del sistema nervioso central de otros.

**Extracto:** Porción de muestra seca vegetal que se macera en un solvente por un determinado tiempo para posteriormente recuperar el solvente y obtener los componentes solubles.

**Toxicidad:** Es la capacidad de una sustancia de causar efectos adversos sobre la salud, usada para medir el grado tóxico o venenoso de algunos elementos.

**Esteroles:** Los esteroles son una amplia familia de sustancias con funciones bioquímicas y hormonales variadas. Su estructura se compone de 4 núcleos unidos,

de una cadena lateral ramificada de diversas metilaciones y un hidroxilo en el carbono 3.

**Ácidos Grasos:** Los ácidos grasos son cadenas hidrocarbonadas con un grupo metilo en un extremo  $\text{CH}_3$ - y en el otro extremo un grupo carboxilo  $-\text{COOH}$  que es el que le confiere su propiedad de ácido (ácidos carboxílicos) y número par de átomos de carbono. Son compuestos muy insolubles en agua y ricos en energía metabólica.

**Dosis Letal 50:** Dosis individuales de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población animal debido a la exposición a la sustancia por cualquier vía distinta a la inhalación. Normalmente expresada como miligramos o gramos de material por kilogramo de peso del animal.

**Marcha Fitoquímica:** Método Fitoquímico mediante el cual se separa e identifican los metabolitos químicos en una planta.

**ICP:** Técnica Instrumental mediante el cual se cuantifica los elementos químicos.

**Cromatografía de Gases** es una técnica cromatográfica en la que la muestra se volatiliza y se inyecta en la cabeza de una columna cromatográfica. La elución se produce por el flujo de una fase móvil de gas inerte.

## 4. MATERIALES Y METODOS

### 4.1.EQUIPOS

- Estufa de marca Memmert.
- Balanza analítica de marca Ohaus.
- Extractor soxhlet de 250 ml de capacidad
- Cromatógrafo de gases, Hewlett Packard, 5890 serie II. Condiciones cromatográficas: Equipo autosystem PE, columna capilar DB-225(30m x 0,32mm x 0,25µm), programación de temperatura de la columna 1'/70°/10°/min/180°/3°/min/220°/5', temperatura de inyección y detección 250°, detector FID, gas de arrastre Helio, flujo 1 mL/min., volumen inyectado 1 µL, Split 1:100.
- Equipo de espectroscopia de emisión por plasma inductivamente acoplado, ICP/PRE-130
- Equipo de espectroscopía de absorción atómica por generación de hidruros, Perkin-Elmer 3110.
- Bioterio con jaulas, balanza analítica y otros

### 4.2. MATERIALES

- Plantas de *Astragalus garbancillo*, recolectadas de Huacacorrall, distrito de Chiquián, provincia de Bolognesi, Kallan punta, distrito de Independencia, provincia de Huaraz, Conococha, distrito de Pampas Chico, provincia de Recuay, distrito de San Marcos, provincia de Huari, todos estos lugares pertenecientes al departamento de Ancash.
- Ratas de laboratorio: 20 ratas albinas machos y 5 ratas control del mismo sexo de la cepa Holtzman.
- Reactivos químicos.

## 4.2.METODOS

### 4.3.1 Ubicación de puntos de muestreo

Mediante visitas de campo (recorrido) realizadas a zonas de posible existencia de ejemplares de Garbancillo, se ha podido localizar puntos de muestreo, tales como: inmediaciones de Kallanpunta (distrito y provincia de Huaraz), inmediaciones del Cerro Huancapetí (entre las provincias de Aija y Recuay), Pachacoto (distrito de Catac, provincia de Recuay), Conococha y Huacacorral (distrito de Chiquián, provincia de Bolognesi). Esta actividad fue realizada en el mes de octubre. Dado que las plantas de Garbancillo tienen una conducta estacional, no se pudo recolectar ejemplares, pues las plantas estaban un poco secas, con escasa cantidad de hojas, sin flores y un pobre desarrollo. Probablemente se encontraban en dormancia.

Finalmente, las muestras que se han utilizado para los análisis se han recolectado de: Huacacorral, distrito de Chiquián, provincia de Bolognesi, 3750 msnm de altitud; Kallan punta, distrito y provincia de Huaraz, 4050 msnm de altitud; Conococha, distrito de Pampas Chico, provincia de Recuay, 4030 msnm de altitud y de Ayash, distrito de San Marcos, provincia de Huari, 3980 msnm, todos estos lugares pertenecientes al departamento de Ancash.



Figura 1: Plantas en época de estiaje



Figura 2: Plantas en época lluviosa

### **4.3.2 Identificación taxonómica**

Fue realizada en el Herbario San Marcos del Museo de Historia Natural de la UNMSM, por la Dra. Haydee Montoya T., según el sistema de clasificación de Cronquist (1988).

### **4.3.3 Preparación de muestras**

La totalidad de las muestras recolectadas fueron limpiadas de restos de tierra, pajas y otros materiales contaminantes, para luego ser sometidas al secado a la sombra, por espacio de 5 días, logrando una humedad aproximada de 25 %.

Las muestras secas fueron embaladas para su envío a Lima, para que los investigadores corresponsables de la PUCP lo procesen adecuadamente antes de su ingreso al Laboratorio.

La muestra en Lima, se procedió a secar en estufa a 45°C, este proceso se realizó en 3 días para cada porción de muestra colocada en la estufa, terminándose todas las submuestras en un total de 3 semanas.

Se determinó la humedad de la muestra y tenía 15,5%. La estufa empleada es de la marca Memmert, la balanza analítica de la marca Ohaus.

La muestra se procedió a seleccionar de tal modo que quede como el animal lo consume; es decir, las ramitas pequeñas y todas las hojas, dejando a un lado las ramas gruesas. Esta muestra seleccionada se procedió a moler con un molino de casa, hasta obtener la muestra molida de malla 20.



**Gráfico 1. Flujo de evaluaciones del *Astragalus garbancillo***



#### **4.3.4 Lugares de trabajo**

La determinación de humedad, cenizas y grasa, se realizó en el laboratorio de investigación química de la Universidad Nacional Santiago Antúnez de Mayolo (UNASAM), los análisis fitoquímicos en el laboratorio de la Universidad Arzobispo Loayza UAL), los análisis de ácidos grasos y esteroides en el laboratorio de la Sección Química de la Pontificia Universidad Católica del Perú (PUCP), el análisis de metales y selenio en el laboratorio del Instituto de Corrosión de la PUCP y la determinación del grado de toxicidad (DL<sub>50</sub>) en el Bioterio del Centro Toxicológico S.A.C. (CETOX).

#### **4.3.5 Técnicas de análisis**

La determinación de los parámetros considerados en el presente estudio, fueron realizadas siguiendo los métodos y/o técnicas detalladas en el cuadro 1.

- El análisis fitoquímico se basó en la metodología propuesta por la Dra. Lock de Ugaz O. (1994), basada en reacciones específicas para los compuestos químicos.
- Los metales se analizaron por espectroscopia de emisión por plasma inductivamente acoplado. Método basado en EPA-200.7-rev. 4.4-1994
- El selenio se analizó por el método de espectroscopia de absorción atómica por generación de hidruros. Método basado SM (Standard Methods for Examination of Water&Wastewater-2005) M 3114 B y C.

- Para la determinación de ácidos grasos y esteroides se utilizó la cromatografía de gases. Método de la AOAC. 1990.
- Determinación de la toxicidad oral aguda, DL<sub>50</sub>. OECD Guideline 401 for testing of chemicals. Acute oral toxicity, recomendado por la Comunidad Andina.

Para la determinación de metales y selenio, la muestra fue preparada basada en el método de EPA 200.7-rev. 4.4-1994, para ello se usó 267 gramos de planta seca y molida (humedad 11,5%).

**Cuadro 1. Métodos de determinación de parámetros químicos y toxicológicos**

Parámetro	Métodos/Técnicas	Unidades
<b>1. Análisis fitoquímico:</b>		
Taninos y fenoles	FeCl <sub>3</sub>	+/-
Alcaloides	Dragendorff	+/-
Esteroides	Lieberman	+/-
Triterpenos	Bouchard	+/-
Flavonoides	Shinoda	+/-
Quinonas	Bomtrager	+/-
Catequinas	Rosenheim	+/-
<b>2. Análisis de metales</b>		
K, Ca, Mg, Fe, Al, Mn, Sr, Na, B, Zn, Cu, Ba, Be, Cd, Co, Cr, Sn, Mo, Ni, Ag, Pb, Tl, Ti y V	ICP/PRE-130	mg/Kg
<b>3. Análisis de Selenio</b>	AA por generación de hidruros	mg/Kg
<b>4. Análisis de ácidos grasos</b>		
Acido esteárico(18:0)	Cromatografía gaseosa	(%)
Acido cis-oleico(18:1)	Cromatografía gaseosa	(%)
Acido linoleico(18:2)	Cromatografía gaseosa	(%)
Acido palmítico(16:0)	Cromatografía gaseosa	(%)
<b>5. Análisis de esteroides</b>		
Brassicasterol	Cromatografía gaseosa	(%)
β-sitosterol	Cromatografía gaseosa	(%)
Stigmasterol	Cromatografía gaseosa	(%)
<b>6. Análisis toxicológico</b>		
DL <sub>50</sub>	OECD Guideline for Testing of Chemicals. Test N° 401: “Acute Oral Toxicity”	Animal muerto

#### 4.3.6 Procedimiento experimental

Con 130 gramos muestra seca (humedad = 13,5%) y molida, se maceró con metanol 500 mL, por 3 días, esto se repite dos veces más. La solución alcohólica (volumen total de 1200mL) se concentró a 80 mL; se separó 20 mL y se lleva a sequedad con un rotavapor, obteniéndose un residuo de 520 mg; este sólido se usó en el análisis de ácidos grasos y esteroides. El resto del extracto alcohólico se usó para realizar la marcha fitoquímica, según Olga Lock (1994), empleando reacciones de precipitación y coloración para reconocer los diversos grupos funcionales.

1. Para analizar los ácidos grasos y esteroides, se procedió de la siguiente manera:
  - a. Para el análisis de ácidos grasos se pesó 120 mg del extracto, se saponificó con KOH 0,5N, en baño de agua a 55 °C por 30 minutos. La saponificación liberó los ácidos grasos que se neutralizaron con 5 mL de HCl diluido (1:1), los ácidos se extrajeron con 10 mL de hexano, lavándose con 10 mL de agua. El extracto hexánico se secó con sulfato de sodio anhidro y se concentró a sequedad. El residuo se disolvió con 10 mL de hexano, se tomó una alícuota de 1 mL la que se evaporó a sequedad, se le agregó 10 mL de HClO<sub>4</sub> al 5% en metanol calentándose a 55°C por 5 minutos, los ésteres se extrajeron con hexano lavándolos y secándolos posteriormente. Se tomó 1 µL y se inyectó en el cromatógrafo de gases; en paralelo se inyectaron los estándares.
  - b. En el caso de los esteroides se pesó 130 mg del extracto seco, se saponificó con 2mL de KOH 50% y 8 mL de etanol al 95%, agitándose por 10 minutos a temperatura ambiente, se llevó a baño maría a 90°C por 1 hora, se agregó 5 mL de agua destilada transfiriéndose la mezcla a una pera de decantación. Los esteroides se extrajeron con 5 mL de hexano por 4 veces, los extractos se concentraron agregándoles después hexano has un volumen de 1000 µL tomándose alícuotas para el análisis GC.
2. Los análisis de metales se realizó por ICP y la determinación de selenio por absorción atómica con generación de hidruros, para ambas metodologías la muestra fue preparada con el método basado en EPA 200.7-Rev. 4.4 – 1994, para ello se usó 267 gramos de planta seca y molida.

## 5. RESULTADOS

### 5.1. Identificación taxonómica y descripción del garbancillo.

Realizada en el Museo de Historia Natural de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos, por la Dra. Haydee Montoya T., según el sistema de clasificación de Cronquist (1988), se clasifica la muestra como:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnolopsida

Sub clase: Rosidae

Orden: Rosales

Familia: Fabaceae

Género: *Astragalus*

Especie: *Astragalus garbancillo* Cav. (Cavanilles).

Nombre vulgar: Garbancillo, garbanzo, hierba loca, tembladera, husqá, joska, sogonche, mío, astrágalo, etc.



Figura 3: *Astragalus garbancillo* Cav.

#### Descripción:

- Hierba perenne erecta, fruticosa, villosa-pubescente a glabrescente. Hojas imparipinadas, de 8 cm de largo cortamente pecioladas, con 9-16 pares de folíolos ovado-oblongos
- Altura de planta (vigor), en parte alta 30 cm, en parte baja 70 cm.
- Tallos; en una misma planta se encuentra tallos nuevos o brotes del año y antiguos (leñosos).
- Flores blancas, con una tonalidad ligera de color azul lila en la parte basal de los pétalos. Son hermafroditas y son polinizadas por abejas, lepidópteros o mariposas.
- El rebrote ocurre usando las reservas de carbohidratos almacenados en la corona de las raíces. Pero algunos tallos brotan de los tallos maduros antiguos.
- Tiene raíz pivotante. Las plantas viejas tienen sus raíces ramificadas.
- Puede fijar el nitrógeno atmosférico y prefiere plena luz y suelos arenosos o margosos medios, bien drenados. El pH es indiferente: alcalinos, ácidos, neutros y básicos. Se desarrollan mejor en suelos movidos, bordes de carreteras.
- En algunas zonas, las plantas tienen nódulos de ryzobium abundantes, en otras hay ausencia. Se supone que depende de la disponibilidad de la bacteria en suelo.
- Es melífera, pues se observa presencia abundante de abejas domésticas, abejorros y otros moscones, succionando el néctar de las flores.
- Susceptible al Oidium, con mayor incidencia en las zonas bajas. Afecta el envés de las hojas. Aparentemente la planta lo soporta, notándose que no le causa la muerte. No se observa otras plagas.

#### **5.2. Análisis fitoquímico**

La marcha fitoquímica (aplicando la metodología de la Dra. Olga Lock) se realizó con dos repeticiones, para confirmar los compuestos.

Los compuestos que se encuentran en mayor cantidad (+++) en el *Astragalus garbancillo* son los taninos y fenoles, alcaloides, esteroides y triterpenos; en cantidad media (++) los flavonoides y en menor cuantía (+) las quinonas y catequinas. Los detalles de estos

resultados, así como, los reactivos usados para la determinación de cada uno de estos compuestos, se reportan en el cuadro 2.

**Cuadro 2. Resultados del análisis fitoquímico**

Reactivo	Compuesto encontrada	Cantidad
FeCl <sub>3</sub>	Taninos y fenoles	+++
Borntrager	Quinonas	+
Shinoda	Flavonoides	++
Rosenheim	Catequinas	+
Mayer	Alcaloides	+++
Dragendorff		
Wagner		
Lieberman	Esteroides	+++
Bouchard	Triterpenos	+++

### 5.3. Análisis de metales

Los resultados del análisis de metales por ICP, se muestra en el cuadro 3.

**Cuadro 3. Resultados de los análisis de metales**

Elemento Químico	Cantidad en mg/Kg	Elemento Químico	Cantidad en mg/Kg
Potasio	14982,0	Cadmio	0,1
Calcio	9654,0	Cobalto	0,3
Magnesio	2070,0	Cromo	2,2
Hierro	371,1	Estaño	0,6
Aluminio	249,0	Molibdeno	0,3
Manganeso	68,7	Niquel	0,7
Estroncio	48,1	Plata	0,5
Sodio	47,4	Plomo	0,6
Boro	23,0	<b>Selenio</b>	<b>2,2</b>
Zinc	22,6	Talio	0,5
Cobre	6,3	Titanio	3,9
Bario	3,6	Vanadio	0,6
Berilio	0,1		

De este análisis resaltamos el alto contenido de potasio (15g/kg), seguido del calcio (9,6 g/kg), magnesio (2g/kg), hierro (0,4g/kg) y aluminio (0,25 g/kg), y los demás metales tienen valores entre 0,1 a 69 mg/kg. Aparentemente, esta planta es una buena fuente de potasio, calcio y magnesio, pero el hecho que se encuentran también otros elementos tóxicos, no nos permite recomendar su consumo masivo por los animales.

El contenido de selenio en la planta es de 2,2 mg/kg, esta cantidad de selenio es alta para el consumo del ganado si tenemos en cuenta la acumulación de este elemento en el organismo del animal, esto demuestra que la planta es altamente bioacumuladora de selenio, según reglamentaciones internacionales el contenido máximo permisible de selenio en una planta forrajera es de 0,2 mg/kg.

#### **5.4. Análisis de ácidos grasos**

Se procedió a realizar los análisis de ácidos grasos en dos etapas y con dos repeticiones, de acuerdo al método de cromatografía gaseosa, encontrando los resultados que se reportan en el cuadro 4. Los cromatogramas obtenidos se adjuntan en el anexo.

**Cuadro 4. Resultados del análisis de ácidos grasos**

<b>Ácidos grasos</b>	<b>% relativo</b>
Acido esteárico (18:0)	10,6
Acido cis-oleico (18:1)	6,7
Acido linoleico (18:2)	5,8
Acido palmítico (16:0)	3,2

En esta tabla se observa a los 4 ácidos grasos mayoritarios que contiene el garbancillo. No se ha encontrado ningún ácido graso del tipo omega 3 u omega 6. Los ácidos esteárico y palmítico son saturados, mientras que el cis-oleico y el linoleico son insaturados.

#### **5.5. Análisis de esteroides**

Los diferentes esteroides encontrados en la planta de garbancillo, así como sus respectivos valores, se reportan en el cuadro 5.

### Cuadro 5. Resultado del análisis de esteroides

<b>Esteroides</b>	<b>% relativo</b>
Brassicasterol	44,03
$\beta$ -sitosterol	22,30
Stigmasterol	13,10

El garbancillo tiene una buena cantidad de brassicasterol y  $\beta$ -sitosterol, estos son frecuentes en la dieta alimentaria pero en pequeñas cantidades, el brassicasterol es un marcador para la adulteración del aceite de soya y aceite de girasol. El  $\beta$ -sitosterol en la medicina se utiliza para el tratamiento de la hiperplasia prostática benigna (BPH) y fortalece el sistema inmune.

#### 5.6. Análisis toxicológico como LD<sub>50</sub>:

Para este análisis se procedió primero a realizar un extracto etanólico por maceración de la muestra seca y molida; luego se concentró el extracto y finalmente se realizó el análisis toxicológico utilizando la técnica OECD Guideline for Testing of Chemicals. Test N° 401: “Acute Oral Toxicity”.

El alimento preparado a base de harina de garbancillo, suministradas a ratas de laboratorio, durante 7 días, no produjo mortalidad en las cuatro dosis del ensayo, como puede observarse en el cuadro 6. Por lo tanto, la DL<sub>50</sub> por vía oral de la muestra diluida en agua destilada es mayor de 5,0 g de producto/Kg de rata.

#### Cuadro 6. Toxicidad aguda del garbancillo

<b>Dosis (g/kg rata)</b>	<b>Ratas muertas total</b>
5,0	0/5
2,5	0/5
1,25	0/5
0,625	0/5
Control	0/5



## 6. DISCUSIÓN

1. Según el análisis fitoquímico los metabolitos mayoritarios (+++) en el *Astragalus garbancillo* son: los taninos y fenoles, alcaloides, esteroides y triterpenos; en cantidad media (++) los flavonoides. De éstos metabolitos nos interesan los alcaloides, porque, son los responsables de generar adicción del garbancillo en los animales. Según, Aguadé y Chávez (INIFAP) la locaina es el componente tóxico en el garbancillo.
2. El garbancillo tiene altos contenidos de los siguientes metales: potasio (15 g/kg), seguido del calcio (9,6 g/kg), magnesio (2 g/kg), hierro (0,4 g/kg) y aluminio (0,25 g/kg), por tanto, esta planta es una buena fuente de potasio, calcio y magnesio, pero el hecho que tiene otros elementos tóxicos, hace peligroso su consumo por los animales.
3. Según Brack A. (1999) el garbancillo es una planta acumuladora de selenio, el contenido de selenio determinado en el garbancillo es de 2,2 mg/kg, siendo este valor muy alto comparado con otras especies forrajeras (< 0,1 mg/kg). Según normas internacionales el contenido máximo permisible de selenio en una planta forrajera es de 0,2 mg/kg. Según NRC (2001), el consumo máximo recomendable es de 6 mg/vaca/día. Una vaca de 350 kg de peso vivo, consumiendo garbancillo en el equivalente al 50% de su requerimiento de forraje verde, ingeriría aproximadamente 38 mg de Se/día. Si bien es cierto, que el selenio es necesario en cantidades pequeñas en la alimentación de los animales, porque es antioxidante, en cantidades altas es tóxico, su límite máximo tolerable en la alimentación es de 2 mg Se/ kg de alimento y el nivel tóxico es de 8 mg/Kg (NRC 1996) y tener en cuenta que este elemento es acumulable. Entonces, el selenio es el que genera las lesiones histopatológicas, con sintomatología típica en el ganado que lo consume, llevándolo hasta la muerte. Según Aguadé y Chávez (INIFAP) las plantas que tienen niveles tóxicos de selenio, producen envenenamientos agudos y crónicos en el ganado que lo consume, los primeros son poco frecuentes, mientras que la intoxicación crónica produce ceguera, incoordinación y la llamada “enfermedad alcalina”.

4. Los ácidos grasos encontrados en la planta son: Acido esteárico (10,6%), Acido cis-oleico (6,7%), Acido linoleico (5,8%) y Acido palmítico (3,2%). No se ha encontrado ningún ácido graso del tipo omega 3 u omega 6. Los ácidos esteárico y palmítico son saturados, mientras que el cis-oleico y el linoleico son insaturados. Los ácidos grasos insaturados son beneficiosos en la salud del ser humano, porque disminuye el riesgo de enfermedades cardiacas coronarias.
5. Los esteroides o fitoesteroides hallados en el garbancillo son: Brassicasterol (44,03%) ,  $\beta$ -sitosterol (22,3%) y estigmasterol (13,1%), cuyos valores aparentemente no generan efecto nocivo en los animales; por lo contrario ayuda a mejorar la eficiencia reproductiva de los animales y tienen propiedades antioxidantes, su consumo es beneficioso en la salud humana y fortalece el sistema inmune.
6. La prueba de toxicidad en ratas, no produjo mortalidad en las cuatro dosis del ensayo. Por lo tanto, la  $DL_{50}$  por vía oral de la muestra diluida en agua destilada es mayor de 5,0 g de producto/Kg peso corporal de rata, toda vez, que esta cantidad equivale a 0,011 mg Se/Kg de pc, siendo el nivel tóxico de 8 mg Se/Kg de producto.

## 7. CONCLUSIONES

Luego del análisis de los resultados y discusiones realizadas en el presente estudio, se llegó a las siguientes conclusiones:

1. Según el análisis fitoquímico los metabolitos se encuentran en mayor cantidad (++++) en el *Astragalus garbancillo* son: los taninos y fenoles, alcaloides, esteroides y triterpenos; en cantidad media (++) los flavonoides y en menor cuantía (+) las quinonas y catequinas. Los alcaloides son las sustancias responsables de generar adicción en los animales.
2. El contenido de metales en el garbancillo es como sigue: potasio (15g/kg), seguido del calcio (9,6 g/kg), magnesio (2g/kg), hierro (0,4g/kg) y aluminio (0,25 g/kg), y los demás metales tienen valores entre 0,1 a 69 mg/kg. Esta planta es una buena fuente de potasio, calcio y magnesio.
3. El contenido de selenio en el garbancillo es de 2,2 mg/kg, siendo este valor muy alto con respecto a otras especies forrajeras (< 0,1 mg/kg). Según normas internacionales el contenido máximo permisible de selenio en una planta forrajera es de 0,2 mg/kg. Según NRC (2001), el consumo máximo recomendable es de 6 mg/vaca/día. Una vaca de 350 kg de peso vivo, consumiendo garbancillo en el equivalente al 50% de su requerimiento de forraje verde, ingeriría aproximadamente 38 mg de Se/día. Entonces, el selenio es el responsable de la intoxicación en el ganado.
4. Los ácidos grasos encontrados en la planta son: Acido esteárico (10,6%), Acido cis-oleico (6,7%), Acido linoleico (5,8%) y Acido palmítico (3,2%). Los ácidos esteárico y palmítico son saturados, mientras que el cis-oleico y el linoleico son insaturados.
5. Los esteroides hallados en el garbancillo son: Brassicasterol (44,03%) ,  $\beta$ -sitosterol (22,3%) y estigmasterol (13,1%), no son nocivos para los animales; por lo contrario son beneficiosos.
6. La prueba de toxicidad en ratas, no produjo mortalidad en las cuatro dosis del ensayo. Por lo tanto, la DL<sub>50</sub> es mayor de 5,0 g de producto/Kg pc de rata.

## **8. RECOMENDACIONES**

1. Realizar análisis específicos de los alcaloides presentes en el garbancillo, para identificar y cuantificar a cada uno de ellos, para determinar cuál o cuáles de ellos causan efectos de adicción en los animales.
2. Realizar pruebas toxicológicas con vacunos, ovinos, equinos y camélidos sudamericanos, para evaluar los procesos histopatológicos y la sintomatología que desarrollan.
3. Difundir estos resultados entre los ganaderos, proponiéndoles las acciones a desarrollar para evitar las pérdidas económicas que les genera el garbancillo. Especialmente, es necesario sensibilizarlos para un uso racional de las praderas nativas, evitando el sobrepastoreo que genera la proliferación de esta planta; asimismo, proponerles la erradicación (extracción manual o con herbicidas) de la planta.

## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Brack Egg, A. Diccionario enciclopédico de plantas útiles del Perú, Ed. CBC, Cusco, Perú, 1999, página: 52, 53.
- Lock de Ugaz, O., Investigación fitoquímica: métodos en el estudio de productos naturales, Ed. Fondo editorial-PUCP, 1994, página, 21-35.
- Krasteva, I., Nikolov, S, Quim. Nova, 2008; 31(1): 59-60. “ Flavoboid in astragalus corniculatus”
- Cappia, V. 2008. Importancia y papel del selenio en la alimentación de bovinos. Instituto de Zootecnia. Facultad Agraria. Universidad Católica del Sagrado Corazón. Piacanza, Italia.
- El-Hawiet, A.M. et al., Brazilian Journal of Pharmacognosy, 2010, 20(6): 860-865, , “Chemical cponstituents from Astragalus cannuaris Forssk and A. trimestris, Fabaceae”
- Diario CHILECITO.COM. 2009. Flora del Famatina: Garbancillo o Hierba loca (Astragalus garbancillo Cav.). En: [www.diariochilecito.com/articulo/6976.html](http://www.diariochilecito.com/articulo/6976.html). Accesado el 10 de junio de 2015.
- Aguadé P., y Chávez J., (INIFAP), Plantas tóxicas para el ganado: su identificación, manejo y control – ISO 690. [Geocyt.com/.../Identificación/.20manejo%20 y %20control%20 de %20 pla...](http://Geocyt.com/.../Identificación/.20manejo%20 y %20control%20 de %20 pla...) (pdf).
- Gunstone, FD, Fatty And Lipid chemistry, Ed. Chapman and Hall, London, 1996.
- Guil Guerrero, JL, Reboloso Fuentes MM, Torija Isasa ME.; Journal of food Composition and Analysis, 2003; 16(2): 111-119.
- Kovacs, M.I., Anderson, W.E. and Ackman, R.G.; J. Food Science, 1979, 44(5), 1299-1301.
- Robles, C. A., C. Saber, M. Jeffrey. 2000. Intoxicación por Astragalus pehuenches (locoismo) en ovinos Merino de la Patagonia Argentina. Ct-384 EEA Bariloche. Publicado en Rev. Med. Veterinaria, Vol 81(5): 380-384.
- Amaral, Joana S.; Casal, Susana; Seabra, Rosa M. and. Oliveira, Beatriz P. P; J. Agric. Food Chem. 2003; 51, 7698-7702.

- Mattha, Bertrand And Zcan, Musa O.; J. Agric. Food Chem. 2005; 53, 7136-7141.
- El-hawiet, A M; Toaima S M; et al; Journal of Pharmacognosy Brazilian, 2010, 20(6), 860-865, “Chemical constituents from Astragalus annularis and Astragalus trimestris”.
- Zhang Li, Liu H, eta al., Journal of agricultural and food Chemistry, 2011, 59, 1131-1137, “New isoflavonoid glycosides and related constituents from Astragalus membranaceus, and their inhibitory activity on nitric oxide production”.
- Grum D, Cook D, et.al.; Journal of agricultural and food Chemistry, 2012, 60, 8083-8089, “Influence of seed endophyte amounts on Swainsonine concentrations in Astragalus and Oxytropis locoweeds”
- Jung J Y, Jung Y, Kim J, et. al.; Journal of agricultural and food Chemistry, 2013, 61, 10398-10407, “assessment of peeling of Astragalus roots using H-NMR and UPLC-MS-based metabolite profiling”.
- Molyneux R, Lee S, et. Al.; Phytochemistry, 2007, 68, 2973-2985, “Phytochemicals:the good, the bad and the ugly”
- Radwan M, Farooq A, et al., J. Nat. Prod, 2004, 67, 487-490, “acetals of three new cycloartane type saponins from Egyptian collections of Astragalus tomentosus”.
- Reinoso V, Soto C, 2009. Importancia de la vitamin E y el Selenio en vacas lecheras. Artigas, Uruguay
- Gerloff, B. (1992): Effect of selenium supplementation on dairy cattle. J. Anim. Sci. 70:3934-3940.
- Villanueva, G. 2011. Nutrición del ganado: Selenio. Jalisco, México.
- Moya, A. 2002. Importancia de la suplementación mineral en el ganado bovino de doble propósito. III Curso Internacional de Ganadería de Doble Propósito. IX Congreso Venezolano de Producción e Industria Animal. Valera, Venezuela.
- NATIONAL RESEARCH COUNCIL (NRC) (2001) Nutrient Requirements of Dairy Cattle (7<sup>a</sup> Ed.). National Academy Press, Washington, D.C.

## **ANEXOS**

## 1. FOTOGRAFÍAS



Foto N° 1: Evaluación biométrica de la planta    Foto N° 2: Toma de muestras en Chiquián



Foto N° 3: Muestra fresca de garbancillo



Foto N° 4: Traslado de muestras a Huaraz





Foto N° 5: Garbancillo en Prov. Sanchez Carrión – La Libertad      Foto N° 6: Garbancillo en Prov. Carhuaz



Foto N° 7: Garbancillo en Kallan punta – Huaraz      Foto N° 8: Garbancillo en Conococha – Recuay.



Foto N° 9: Garbancillo en Ayash, San Marcos-Huari



Foto N° 10: Comunidad de garbancillo



Foto N° 11: Garbancillo, una planta melífera



Foto N° 12: Raíz pivotante y profunda, con yzobium



Foto N° 13: Planta perenne, con tallos viejos y nuevos



Foto N° 14: Afectado por el hongo Oidium



Foto N° 15: Flores maduras, próximo a formar frutos



Foto N° 16: Garbancillo maduro, con legumbres dentro de las vainas



Foto N° 17: Caballo consumiendo garbancillo



Foto N° 18: Ovino, luego de haber consumido garbancillo



Foto N° 19: Garbancillo en época de lluvias



Foto N° 20: Garbancillo en época de estiaje

## 2. CROMATOGRAMAS

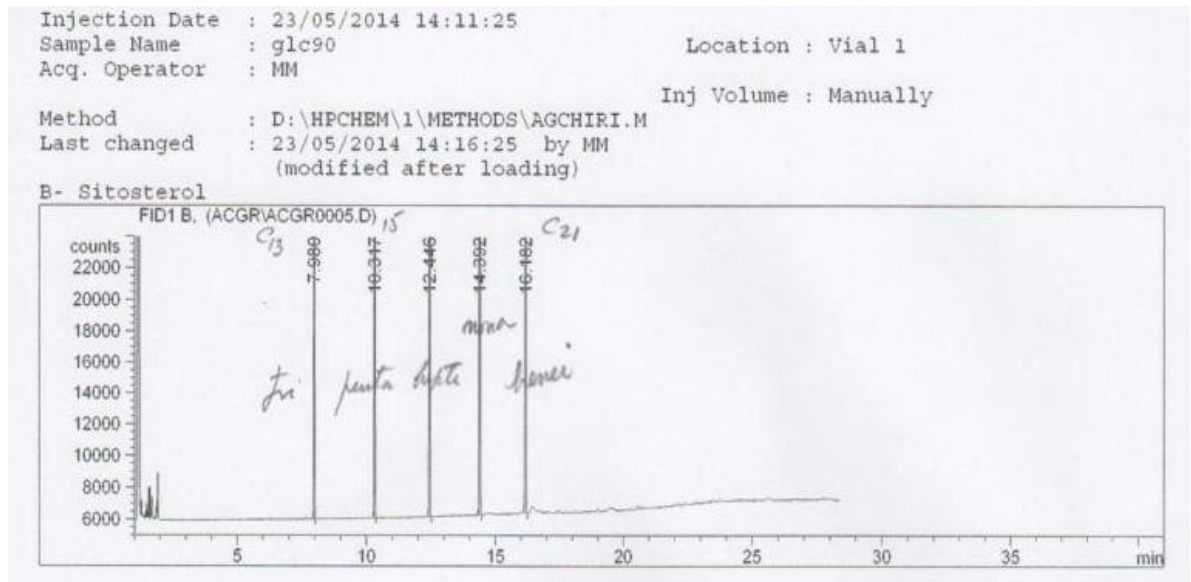


Figura 1. Cromatograma de ácidos grasos estándares

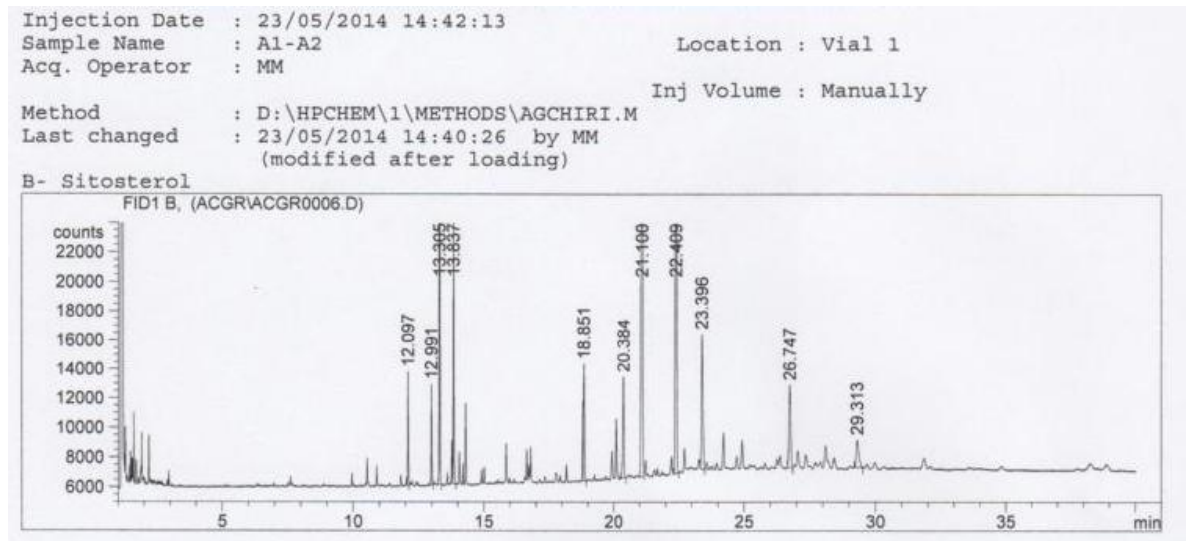


Figura 2. Cromatograma de ácidos grasos de la muestra de Astragalus

Peak #	RetTime [min]	Type	Width [min]	Area counts*s	Height [counts]	Area %
1	12.097	VV	0.0277	1.37968e4	7785.32373	2.12669
2	12.991	BB	0.0299	1.28027e4	6818.41748	1.97347
3	13.305	BP	0.0288	1.05745e5	5.65654e4	16.29994
4	13.837	VB	0.0301	3.70947e4	1.95581e4	5.71792
5	18.851	VB	0.0409	2.17528e4	7950.53223	3.35306
6	20.384	PB	0.0443	2.08308e4	6882.77783	3.21094
7	21.100	BV	0.0416	1.97289e5	6.65195e4	30.41093
8	22.409	VB	0.0428	1.65506e5	5.38843e4	25.51180
9	23.396	VV	0.0531	3.48239e4	9215.79199	5.36789
10	26.747	BV	0.0622	2.61200e4	5620.16113	4.02624
11	29.313	BP	0.0852	1.29822e4	1843.52258	2.00112
Totals :				6.48744e5	2.42644e5	

Figura 3. Resultados del cromatograma de la muestra de Astragalus

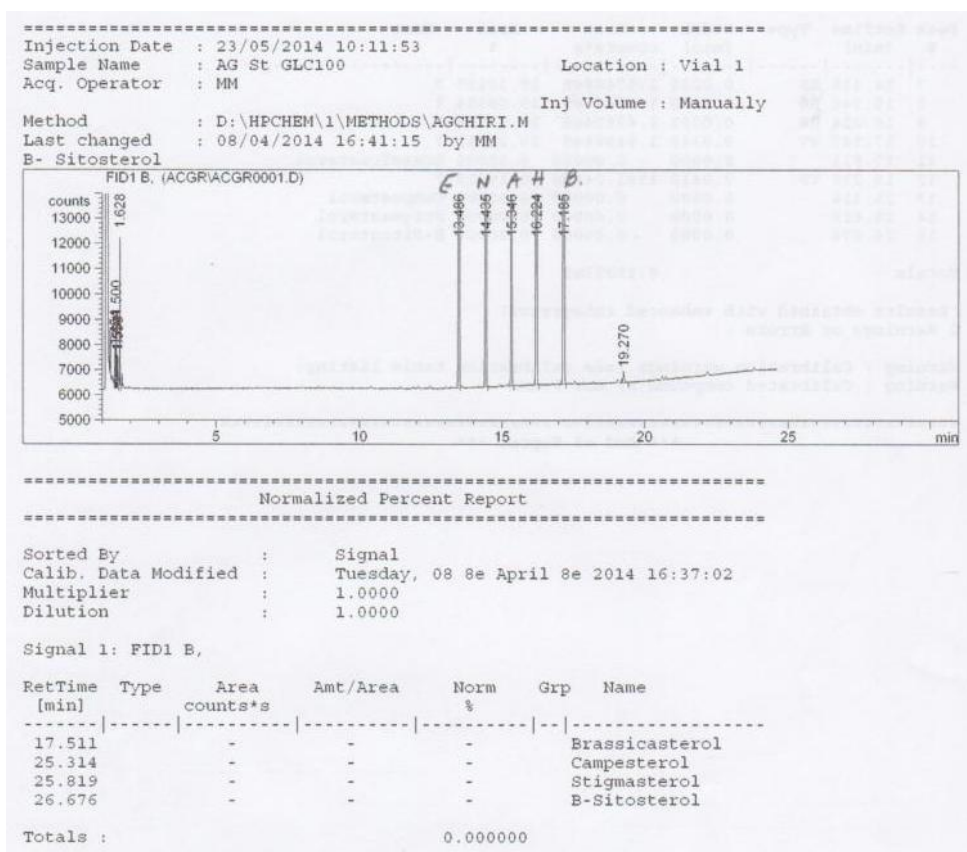


Figura 4. Cromatograma de los esteroides estándares

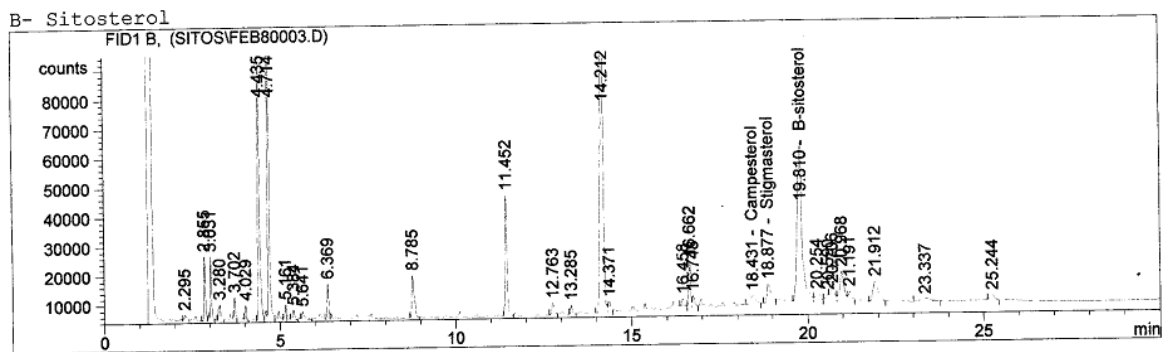


Figura 5. Cromatograma de los esteroides de la muestra de Astragalus

RetTime [min]	Type	Area counts*s	Amt/Area	Norm %	Grp	Name
17.834	-	-	-	-	-	Brassicasterol
18.431	BV	3.03131e4	1.14549e-3	5.135816		Campesterol
18.877	VB	5.24014e4	1.14501e-3	8.874387		Stigmasterol
19.810	PV	5.07621e5	1.14531e-3	85.989797		B-sitosterol
Totals :				100.000000		

Figura 6. Resultados del análisis de esteroides de la muestra de Astragalus