AGENCY FOR INTERNATIONAL DEVELOPMENT
WASHINGTON, D. C. 20523

BIBLIOGRAPHIC INPUT SHEET

FOR AID USE ONLY
BATCH 42

1. SUBJECT CLASSIFICATION

A. PRIMARY
Food production and nutrition — AL30-0000-0000

B. SECONDARY
Animal nutrition

2. TITLE AND SUBTITLE
Metodos de analisis de minerales para tejidos de plantas y de animales

3. AUTHOR(S)

Fick,K.R.; Miller,S.M.; Funk,J.D.; McDowell,L.R.; Houser,R.H.

4. DOCUMENT DATE	5. NUMBER OF PAGES	6. ARC NUMBER
1976	90p.	ARC

7. REFERENCE ORGANIZATION NAME AND ADDRESS

Fla.

8. SUPPLEMENTARY NOTES *(Sponsoring Organization, Publishers, Availability)*

(In English and Spanish; English,80p.:PN-AAC-873)

9. ABSTRACT

10. CONTROL NUMBER	11. PRICE OF DOCUMENT
PN-AAC-768	

12. DESCRIPTORS

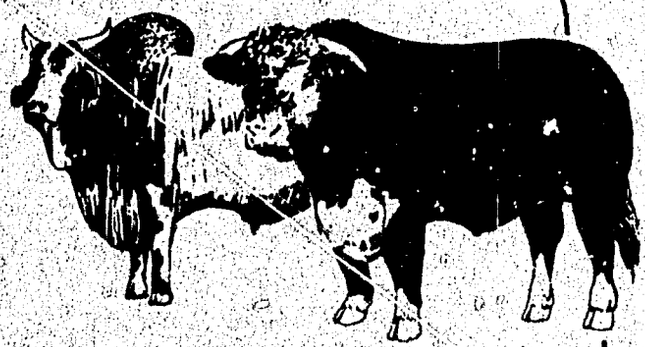
Chemical analysis
Minerals
Mineralogy
Plant tissues
Tests
Tissues

13. PROJECT NUMBER	
14. CONTRACT NUMBER	AID/ta-C-1153 Res.
15. TYPE OF DOCUMENT	

AID 590-1 (4-74)

AID/HQ-C-1153 Res.
AID-ANE-768

Métodos de Análisis de Minerales para Tejidos de Plantas y de Animales



University of Florida Institute of Food and Agricultural Sciences
Center for Tropical Agriculture Animal Science Department

METODOS DE ANALISIS DE MINERALES PARA TEJIDOS DE PLANTAS Y DE ANIMALES

Universidad de Florida
Instituto de Ciencias Alimenticias y Agropecuarias
Centro de Agricultura Tropical
Departamento de Ciencia Animal
En Cooperación con la Agencia para
El Desarrollo Internacional

METODOS DE ANALISIS DE MINERALES PARA TEJIDOS DE PLANTAS Y ANIMALES

Preparado por:

Karl R. Fick
Sarah M. Miller
John D. Funk
Lee R. McDowell
Richard H. Houser

Departamento de Ciencia Animal
Universidad de Florida
Gainesville, Florida, EE.UU.

y

por

Ricardo Valdivia

Departamento de Producción Animal e
Inspección de Alimentos
Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Lima, Perú

Latin American Mineral Research Program
Animal Science Department
Center for Tropical Agriculture
2001 McCarty Hall
University of Florida
Gainesville, Florida 32611
U.S.A.

1976

C O N T E N I D O

Página

I. INTRODUCCION 101

II. RECOLECCION, IDENTIFICACION Y ALMACENAJE DE LAS MUESTRAS . 201

A. Sangre 201-1
1. Plasma 201-2
2. Suero 201-2
3. Precipitación de proteínas en plasma y suero 201-3

B. Hígado 201-4
1. Recolección de animales destazados 201-4
2. Técnica de biopsia de hígado 201-5
a. Referencia , ...201-5
b. Equipo y materiales 201-5
c. Procedimiento 201-6

C. Huesos. 201-9

D. Forrajes 201-9
1. Procedimiento de muestreo 201-9
2. Secado 201-10
3. Molido y submuestreo 201-10
4. Almacenamiento 301

III. PREPARACION DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO 301

A. Procedimiento de limpieza 301
1. Crisoles 301-1
2. Material de vidrio y plástico 301-1

B. Suero o plasma 301-3
1. Equipo y materiales 301-3
2. Calcio y magnesio 301-3
3. Fósforo 301-3
4. Zinc y cobre 301-4

C. Hígado 301-4
1. Equipo y materiales 301-5
2. Materia seca 301-5
3. Pre-incineración o digestión húmeda 301-6
4. Incineración 301-6
5. Solubilización de las cenizas 301-6

D. Huesos 301-7
1. Equipo y materiales 301-7
2. Procedimiento 301-8

E. Forrajes 301-9
1. Equipo y materiales 301-9
2. Materia seca, materia orgánica y cenizas 301-10
3. Solubilización de las cenizas 401

Página

IV. PREPARACION DE LOS ESTANDARES 401

A. Procedimiento 401
B. Dilución de las muestras y estándares 401-2

V. DETERMINACION DE FOSFORO POR METODO COLORIMETRICO 501

A. Referencia 501
B. Reactivos 501
C. Procedimiento 501-1
D. Cálculos 501-1

VI. ANALISIS DE MINERALES POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA 601

A. Equipo y materiales 601
B. Procedimiento 601
C. Determinación de macroelementos 601-2
1. Sodio y potasio 601-2
2. Calcio 601-2
3. Magnesio 601-2
D. Determinación de microelementos (cobre, hierro, manganeso y zinc) 601-3
E. Operación instrumental 601-5
1. Procedimiento de encendido 601-6
2. Procedimiento de calibración 601-8
3. Procedimiento de apagado 601-9
4. Cambio de lámpara 601-10
5. Precauciones 601-10
6. Limitaciones 601-10
F. Lectura de estándares y muestras 601-11
G. Cálculo de los resultados 601-11

VII. CUADROS DEL APENDICE 701

VIII. REFERENCIAS 801

I. INTRODUCCION

El Centro de Agricultura Tropical y el Departamento de Ciencia Animal del Instituto de Ciencias Alimenticias y Agropecuarias de la Universidad de Florida con la asistencia de un contrato de la Agencia para el Desarrollo Internacional vienen colaborando con Instituciones de Latinoamérica para fomentar la investigación en minerales en América Latina. El contrato se titula "Determinación de Deficiencias y Toxicidades de Minerales en el Ganado en América Latina" (AID-TA-C-1153). Los objetivos principales de investigación son los siguientes: (1) Determinar experimentalmente las áreas donde se presentan concentraciones deficientes, adecuadas o tóxicas de minerales en América Latina, allí donde predomina el ganado en pastoreo, (2) establecer, por experimentación, la respuesta biológica y el beneficio económico de la suplementación mineral de los animales en pastoreo, (3) evaluar experimentalmente los métodos para la administración del suplemento mineral al ganado en pastoreo, y (4) publicar y distribuír la información de la investigación para estimular el uso de suplementos minerales.

Este proyecto ha sido establecido debido a que en extensas áreas de Latinoamérica el ganado en pastoreo recibe muy poca o ninguna suplementación mineral. Esto contribuye a los bajos rendimientos de la producción ganadera de América Latina. Ningún otro factor, de por sí, tiene tanto potencial para aumentar la producción del ganado en América Latina a un costo relativamente bajo como la adecuada nutrición mineral.

El propósito de esta publicación es describir métodos estandarizados de procedimientos analíticos para minerales. Existen un buen número de procedimientos y técnicas apropiadas para analizar minerales. Los métodos que se detallan en esta publicación se presentan como guías y en algunos casos será necesario modificarlos para adaptarlos a las condiciones propias del laboratorio

y de los experimentos específicos. Se discutirán métodos para la recolección, identificación, preparación y análisis de muestras. Se utilizó la espectrofotometría de absorción atómica para la determinación de la mayoría de los minerales y un procedimiento colorimétrico para el análisis de fósforo.

Los autores desean hacer mención y agradecimiento de los siguientes miembros del personal de la Universidad de Florida quienes aportaron ideas y cooperación en la preparación de esta publicación: C.B. Ammerman, J.E. Moore, J.H. Conrad, J.K. Loosli, R.L. Shirley, J.F. Easley, y J.E. Bell.

Una parte del material contenido en este manual ha sido adaptado de algunos procedimientos vigentes en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad de Florida y tomados de la siguiente publicación: R.L. Shirley, J.F. Easley, J.P. Feaster, C.B. Ammerman, y J.E. Moore. 1973. Equipment and Procedures. Nutrition Laboratory, Department of Animal Science, University of Florida, Gainesville, Florida.

II. RECOLECCION, IDENTIFICACION Y ALMACENAJE DE LAS MUESTRAS

La determinación cuantitativa del contenido de un mineral específico requiere de un buen procedimiento de muestreo, una adecuada identificación, preparación apropiada y la aplicación de técnicas analíticas adecuadas. Aunque el análisis sea exacto, los valores obtenidos no pueden ser mejores que la muestra recolectada. Entre los factores importantes en la recolección de muestras se incluyen el obtener una muestra representativa, evitar la contaminación e identificar la muestra en forma adecuada. Cada muestra debe relacionarse a una área específica, finca o animal.

Todas las muestras deben estar relacionadas a un cuestionario que describe la finca (Cuadro 1), animal (Cuadro 2) o forraje (Cuadro 3). El recipiente que contiene la muestra o la etiqueta debe de identificarse con tinta permanente e impermeable (i.e., pluma Sharpie). Los errores por contaminación siempre causan

problemas y pueden ocurrir en cada paso hasta que se ha completado el análisis. Recipientes sucios, instrumentos que no son de acero inoxidable y la exposición al aire son las principales fuentes de contaminación en muestras de tejido animal, mientras que las más importantes fuentes de contaminación del forraje son el suelo, polvo atmosférico y el procedimiento de recolección y molienda. La contaminación que proviene de los recipientes usados para las muestras de sangre y tejidos se puede minimizar remojando los recipientes durante la noche en agua que contenga detergente de bajo contenido en fosfatos. Los envases (incluyendo las tapaderas) deben cepillarse y enjuagarse tres veces con agua corriente, tres veces con agua deionizada, tres veces con una solución de HCl al 10% y tres enjuages finales con agua deionizada. Las muestras de sangre pueden contaminarse por medio de los anticoagulantes, agujas y jeringas. Las agujas de acero inoxidable deben de preferirse. Las muestras de tejido se pueden recolectar disecando la muestra cuidadosamente con cuchillo o tijera de acero inoxidable.

A. Sangre

Muestras representativas de sangre se pueden obtener convenientemente por punción yugular o punción de la cola con aguja y jeringa o se puede tomar en el matadero al momento que se corta el cuello al animal. Agujas de tamaño No. 18 o más grandes se recomiendan para prevenir la hemólisis. De 10 a 50 ml de sangre se pueden recolectar de cada animal. Las muestras de sangre se pueden almacenar bajo refrigeración por varios días o por un período más largo si se congelan. Si se desea estudiar las concentraciones de minerales en el plasma o suero, la sangre entera no se debe refrigerar ni congelar. Por lo tanto, es necesario separar el plasma o suero tan pronto sea posible después que se tome la muestra de sangre. Las muestras desproteinizadas del suero y plasma son más estables y se pueden mantener a la temperatura ambiente por 2 a 4 semanas

y se pueden congelar si se anticipa un período más largo (más de 4 semanas) entre la recolección y el análisis de la muestra.

1. Plasma - Para obtener plasma, el tubo o recipiente de recolección debe contener un anticoagulante y tan pronto como se tome la sangre, ésta se debe mezclar suavemente con el anticoagulante invirtiendo el tubo varias veces hasta lograr una mezcla completa. Los anticoagulantes se pueden usar en las siguientes concentraciones: heparina, .2 mg/ml de sangre; citrato sódico y citrato de litio, 5 mg/ml de sangre; oxalatos sódico, potásico y de litio, de 1 a 2 mg/ml de sangre. El anticoagulante que se escoja para uso en análisis de minerales no debe causar hemólisis o contaminar la muestra con elementos minerales que se desean analizar. Por ejemplo, el citrato sódico y los oxalatos potásico y sódico no se deben usar si se va analizar sodio y potásio en el plasma. Las células rojas del ganado son relativamente frágiles y hay evidencia que ocurre cierta hemólisis de estas células cuando se usa heparina. El citrato de litio (20% p/v; .1 ml/10 ml de sangre) ha dado buenos resultados cuando se usa para prevenir la coagulación de la sangre y puede ser un anticoagulante adecuado en el análisis de minerales en plasma. Centrifugar las muestras de sangre por 15 a 20 minutos de 2000 a 2500 rpm aproximadamente. Centrifugar las muestras dentro de las 24 horas después de la recolección, si es posible. Remover el plasma con una pipeta teniendo cuidado de no aspirar o revolver las células. Expeler el plasma en un recipiente limpio.

Para el análisis de macrominerales, pipetear 1 ml en otro recipiente que contenga 9 ml de ácido tricloracético (TCA) al 10% (p/v) para precipitar las proteínas. Tapar el recipiente, identificar, agitar, remover la tapadera, centrifugarlo y taparlo nuevamente. Refrigerar o congelar para su uso posterior.

2. Suero - La recolección de suero es apropiada en aquellas áreas donde no se puede centrifugar y refrigerar la muestra dentro de las 24 horas después de colección. Recolectar de 10 a 15 ml de sangre de cada animal en tubos de en-

sayo recubiertos con silicon. En el caso que las muestras de sangre se tomen con agujas, se pueden obtener buenos resultados usando agujas "California" de tamaño 15 y tubos de ensayo o tubos al vacío de 20 ml. El tapón de goma de los tubos al vacío (Vacutainer) que se venden comercialmente contiene zinc. Si este tipo de tubos se usa en la colección de sangre para análisis de zinc, se debe evitar que la sangre o el suero tenga contacto con el tapón o el área del tubo que tiene contacto con el tapón. Antes de tomar la muestra liberar el vacío en los tubos Vacutainer para prevenir la hemólisis. Permitir que se coagule la sangre y tan pronto se forme suficiente suero, lo que generalmente toma 8 o más horas, transferir el suero a otro recipiente. El suero se puede transferir utilizando una pipeta de vidrio tipo "Pasteur" con bulbo de gotero de 1 ml de volumen. Se debe tener el cuidado de introducir la pipeta en el tubo de ensayo de tal manera que no se aspire parte del coágulo o se dañe la membrana de las células rojas. Se debe desproteinizar un ml de suero para el análisis de macroelementos tan pronto se disponga de el equipo necesario. El suero restante se puede identificar y refrigerar o congelar para la determinación de los microelementos. Las muestras de suero que se toman en el campo deben conservarse frías en hielo o refrigeradas hasta que se llevan al laboratorio. Las muestras de suero de color rosado indican hemólisis y no son aceptables para análisis de minerales; los valores de ciertos minerales pueden presentarse muy altos, particularmente los de hierro, zinc, magnesio y potasio.

3. Precipitación de proteínas en plasma y suero - Una solución libre de proteínas debe utilizarse para el análisis de fósforo por el método de Fiske-Subbarow y para el análisis de macrominerales por espectrofotometría de absorción atómica. El suero o plasma que sobra se usa para el análisis de los microminerales. Un buen procedimiento para precipitar las proteínas séricas y plasmáticas es el siguiente:

a. Dispensar 9 ml de ácido tricloracético (TCA) al 10% (p/v) en un tubo de ensayo marcado.

b. Pipetear 1 ml de plasma o suero y añadir a los 9 ml de TCA. La muestra de suero o plasma debe mezclarse inmediatamente antes de tomar el ml.

c, Mezclar (tapado) por 1 minuto en un agitador "Vortex." Dejar en reposo por lo menos 10 minutos y después centrifugarlo por 10 minutos a 2500 rpm. Decantar el sobrenadante si se desea guardar por un período más largo,

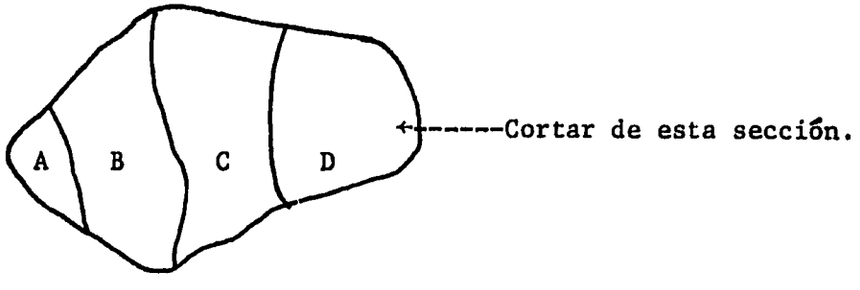
d. El sobrenadante representa una dilución 1 → 10 de la muestra de suero o plasma.

e. Los estándares se deben diluír con TCA en la misma manera.

B. Hígado

1. Recolección de animales destazados - Para prevenir la contaminación de la muestra de hígado, ésta se debe colectar tan pronto se corte el abdómen del animal que se está destazando. Se debe hacer el esfuerzo de no tocar la parte del hígado que se va a utilizar como muestra. Se debe usar guantes de plástico cuando sea posible. Cortar aproximadamente de 50 a 100 g (tamaño de un puño) del lóbulo derecho del hígado (Figura 1) con unas tijeras o un cuchillo de acero inoxidable.

Figura 1. Diagrama del hígado de bovinos



A. Lóbulo caudato (Lobus caudate)
B. Lóbulo izquierdo (Lobus sinister)
C. Lóbulo medio (Lobus centralis)
D. Lóbulo derecho (Lobus dexter)

La muestra de hígado fresco se puede almacenar en el congelador en una bolsa de plástico o se puede poner en botellas de polietileno de 8 a 16 oz. con formaldehido al 10% (v/v) hasta que se prepare para el análisis. El tamaño de la muestra fresca será de aproximadamente 4 cm^3 en volumen. Las botellas de polietileno se deben de llenar hasta la mitad aproximadamente con formaldehido al 10% antes de introducir la muestra. Deben evitarse las áreas del hígado infestadas con parásitos.

2. Técnica para la biopsia de hígado

   a. Referencia: Chapman, H.L., Jr., D.H. Cox, C.H. Haines and G.K. Davis. 1963. Evaluation of the liver biopsy technique for mineral nutrition studies with beef cattle. J. Anim. Sci. 22:733.

   b. Equipo y materiales:

      b-1 Algún medio para sujetar el animal (cepo de una manga).

      b-2 Máquina de cortar pelo (tijera o afeitadora).

      b-3 Botella con alcohol etílico al 70%.

      b-4 Bisturí u hoja de afeitar de un solo filo.

      b-5 Trocar y cánula.

      Trocar - Construído de acero inoxidable con mango de madera. El largo total es de 13½ pulgadas, el largo de la hoja de 9½ pulgadas y la punta afinada en redondo con una extensión de 1½ pulgadas.

      Cánula - Construída de acero inoxidable, 8 pulgadas de largo y la punta distal rebajada dándole el filo necesario para que se facilite la introducción de la misma en el tejido hepático. El diámetro interior de la cánula es de aproximadamente ¼ de pulgada y el trocar debe corresponder exactamente en el interior de la cánula evitando que exista luz entre ambos.

b-6 Cilindro graduado de 100 ml lleno de alcohol al 90%.

b-7 Botella con agua deionizada.

b-8 Algodón

b-9 Papel toalla

b-10 Papel filtro #40

b-11 Recipientes para muestras, etiquetas y lápiz.

b-12 Formaldehido al 10%

b-13 Producto para prevenir la infección de la herida.

c. Procedimiento: Las muestras de hígado se pueden obtener in vivo utilizando la técnica de biopsia de hígado. Es una operación fácil y simple y el principal requisito es de tener los medios adecuados para sujetar e inmovilizar al animal. Este procedimiento ha sido practicado cada 28 días y por un período de más de 2 años en los mismos animales, sin haber observado inconveniente alguno. Es importante mantener condiciones asépticas durante el procedimiento. Otra de las consideraciones importantes es prevenir la contaminación de las muestras de hígado.

c-1 Enjuaguar el trocar y la cánula con agua deionizada, después sumerjir en un cilindro graduado lleno de alcohol al 90%. Extraer e introducir el trocar en la cánula varias veces asegurándose que el instrumento esté bien desinfectado. Este paso, c-1, se repite cada vez, inmediatamente antes de introducir el trocar con la cánula en el animal para tomar la muestra.

c-2 Sujetar el animal. No es necesario el uso de tranquilizantes a menos que no se tengan los medios adecuados para sujetar al animal.

c-3 Preparar la zona a operar cortando el pelo en el área sobre el

11, 12 y 13 espacio intercostal, aproximadamente 6 a 8 pulgadas por debajo de la línea superior del lomo, según el tamaño y volumen del animal (lado derecho del animal).

c-4 Desinfectar la zona con alcohol al 70%.

c-5 Efectuar una incisión vertical en la piel de aproximadamente ½ pulgada a una distancia de 6 a 8 pulgadas por debajo de la línea superior del lomo en el espacio intercostal 11 (entre la segunda y tercera costilla tomando como primera la última costilla del lado derecho). La incisión debe ser lo suficientemente grande para dar entrada al trocar. Es preferible el uso de una hoja de afeitar de un solo filo para evitar daños a los animales que estén excitados. En general el uso de anestesia en vacunos aumenta el tiempo de la operación sin mayores beneficios.

c-6 Introducir el trocar por la incisión en un ángulo aproximado de 45° y ejerciendo una presión constante y firme se atraviesan los músculos intercostales y el diafragma. Con cierta práctica se reconoce cuando se atraviesa los músculos intercostales y el diafragma.

c-7 Extraer el trocar al atravesar el diafragma dejando introducida la cánula.

c-8 Empujar la cánula ejerciendo una presión constante y firme y con movimientos circulares atravesar el tejido hepático (la penetración en el hígado resulta en un sonido y sensación característicos). Este proceso se continúa hasta que la cánula atraviesa el órgano o se encuentra resistencia a una mayor penetración.

c-9 Luego, con el dedo pulgar, se obstruye el agujero exterior de

la cánula y se le extrae suavemente (aproximadamente 1½ pulgadas), pero no se saca completamente del hígado. Cambiar un poco el ángulo de la cánula y con movimientos circulares atravesar más tejido hepático repitiendo los pasos (c-8 y c-9) dos o tres veces para obtener mayor muestra de hígado. En el caso de extraer la cánula del hígado en la primera etapa del paso (c-9), ésta se debe sacar completamente del animal. Si se considera que no se ha hecho daño al animal y no está nervioso o excitado el procedimiento se puede repetir en el mismo animal empezando en el paso (c-6).

c-10 Cuando se tiene suficiente tejido hepático en la cánula, con el dedo pulgar se obstruye el agujero exterior de la cánula y se le extrae suavemente del animal, sin quitar el dedo, a fin de crear y mantener una presión negativa, que permita el arrastre de la muestra. Empujar la muestra de tejido hepático con el trocar y depositarla sobre un disco de papel filtro #40. Para evitar la contaminación del papel filtro y la muestra con polvo y suciedad, éste no se debe de sacar de la caja hasta el momento de usarlo. Utilizar el trocar para mover la muestra de tejido hepático de un lado a otro sobre el papel filtro con el objeto de remover la sangre, luego depositar la biópsia en un recipiente previamente identificado.

c-11 Una vez obtenida la biópsia, se desinfecta nuevamente la herida exterior, se aplica un producto apropiado para heridas y se suelta el animal. En áreas o épocas del año con alta incidencia de miasis es recomendable aplicar en la herida repelentes o productos para prevenir la miasis.

c-12 La muestra fresca de tejido hepático se puede conservar congelada o en formaldehido al 10% hasta que se prepare para el análisis. Los animales que se utilicen para tomar muestras por biópsia deben estar libres de enfermedades, tener más de 6 meses de edad, no estar gestando y haber permanecido por lo menos un año en la finca para que las muestras reflejen el estado de la nutrición mineral. Esta técnica no es la apropiada en los casos que se necesiten muestras grandes para el análisis de minerales. Una persona con considerable experiencia puede obtener una muestra de hígado de .2 a .5 g de materia seca.

C. Huesos

Una muestra de los huesos de la cola se puede obtener con un cuchillo o sierra de carne durante el destaze. Remover dos vértebras caudales de la parte proximal (la parte próxima al animal) del animal destazado. En las especies más pequeñas de rumiantes, tales como ovinos y caprinos, se puede tomar el hueso matacarpus (hueso largo de la extremidad anterior que une al casco) durante el destaze. Las muestras de hueso se pueden conservar congeladas o en recipientes con formaldehido al 10% hasta que se preparen para el análisis.

D. Forraje

1. Procedimiento de muestreo - En general, las muestras de forraje se deben de tomar dos veces por año por finca. Estos muestreos se deben hacer durante el período final de la estación seca y el período final de la estación lluviosa. Antes de tomar las muestras de forrajes se debe observar cuidadosamente a los animales en pastoreo y recolectar en las áreas donde éstos comen. En algunas ocasiones, es necesario seguir al animal en el potrero y colectar las muestras con la mano para que representen lo que el animal consume. Obviamente, no se

deben tomar muestras de forraje en áreas donde los animales no pastorean.

Se deben de tomar muestras separadamente de las especies más importantes. Las muestras se pueden depositar en bolsas de tela para secarlas inmediatamente al aire o se puedan mantener en bolsas de plástico siempre y cuando se sequen en el horno dentro de pocas horas después de colectadas.

La parte aérea de la muestra se debe cortar usando tijeras de acero inoxidable. La altura del corte se debe registrar y debe representar la altura a la que el animal pastorea. Se recomienda el uso de guantes de plástico cuando sea posible. Para muestrear la parte aérea de las plantas, seleccionar al azar diez o más sitios en el potrero, dependiendo del tamaño del potrero. Combinar las muestras tomadas de diferentes sitios en una sola muestra que pese aproximadamente 400 g de materia fresca. Cuando existan grandes diferencias entre potreros, cada tipo de pastura o campo (tipo de suelo + vegetación) se deben de muestrear para establecer el porcentaje de cada una de las especies principales.

2. Secado - Secar el forraje fresco en un horno de aire forzado a una temperatura de 45 a 60°C. El secado se debe realizar en poco tiempo (i.e., entre 8 horas o dejando por toda la noche). Utilizar bolsas de tela en vez de bolsas de papel. Permitir que la humedad de las muestras llegue a un equilibrio con la humedad ambiental por un período de 48 horas. No se deben de mantener las muestras en un cuarto hermético durante el período de equilibrio. Las nuestras deben tener 88% o más de materia seca.

3. Molienda y submuestreo - Al moler la muestra se puede contaminar con ciertos minerales traza (i.e., cobre, manganeso, selenio y zinc). Por ejemplo, si se va a analizar cobre en la muestra, el contenido de este elemento se puede triplicar si la muestra se muele en un molino Wiley con cribas de bronce. Por lo tanto, una buena forma de preparar las muestras que se van a incinerar es molerlas en un molino limpio con cribas de acero inoxidable, utilizando un mortero y mango o cortando finamente el forraje con cuchillo o tijeras de acero

inoxidable. Las muestras secadas al aire o parcialmente secas se muelen la primera vez en un molino Wiley através de una criba de acero inoxidable de 4 mm. Luego se toma una submuestra y ésta se muele de nuevo através de una criba de acero inoxidable de 1 mm. Mezclar la parte del material que quedó en el molino con la parte molida antes de tomar la submuestra. Tener mucho cuidado de mezclar bien el material antes de tomar submuestras, éstas se pueden obtener colocando el material en una bolsa grande de plástico y mezclando con movimientos rotatorios (la bolsa debe tener aproximadamente 1/3 de material molido y 2/3 aire).

4. Almacenamiento - Colocar aproximadamente 30 g del material molido através de una criba de 1 mm en una bolsa de plástico (bolsa Whirl-Pak), sellar herméticamente para prevenir los cambios de humedad en el laboratorio durante los análisis, e identificar las muestras.

En el caso que se anticipe trabajo analítico adicional y como precaución contra la pérdida accidental de la muestra que se usa para el análisis, es recomendable almacenar aproximadamente 300 g del material molido en forma gruesa, en un recipiente a prueba de insectos y gases. Asegurarse que la muestra contenga por lo menos 88% de materia seca. También se puede incluír bolas de nafta en el recipiente si fuese necesario evitar el crecimiento de insector o moho.

III. PREPARACION DE LA MUESTRA EN EL LABORATORIO

Las muestras de tejidos y forrajes se secan a 100°C y se incineran a 500°C. Las muestras de tejidos que no sean fluídos requieren de una pre-incineración o digestión húmeda antes de la incineración. La ceniza es solubilizada en HCl y H_2O, filtrada, y tomada cuantitativamente con agua deionizada en frascos volumétricos de 25 o 50 ml. Los estándares de trabajo son preparados de tal manera que contengan concentraciones del mineral comparable con aquellos rangos esperados en las soluciones de las muestras, tales como µg/25 ml, µg/50 ml, mg/25 ml o mg/50 ml. Para la determinación de los microelementos cobre, hierro, zinc y manganeso, se usa como estándar de referencia una solución mineral múltiple (matríz),

que contenga una composición iónica similar (dentro del 25%) a aquella esperada en las soluciones de las muestras. Se pueden hacer mayores diluciones mediante el dilutor automático cuando sea necesario. Las concentraciones de minerales de las soluciones de las muestras se calculan de acuerdo al peso de la muestra y se multiplican por 25 o 50 a fin de obtener la cantidad total del mineral en la muestra. Cuando las soluciones de la muestra y del estándar han sido diluídas en forma semejante y los valores de absorbancia de los estándares no diluídos son usados como referencia, no es necesario considerar los factores de dilución en la calculación.

Solamente se obtienen resultados exactos cuando se toma cuidado para prevenir la contaminación mineral de las muestras durante la recolección, almacenamiento y preparación para el análisis. Debe usarse agua deionizada o triplemente destilada através de toda la recolección y preparación de las muestras. Si es que se va a analizar cobre no se debe utilizar agua destilada obtenida de destiladores con tubería de cobre.

A. Procedimientos de limpieza

Una cuidadosa atención debe darse a los procedimientos de limpieza del material de laboratorio que tendrá contacto con las muestras o los estándares.

1. Crisoles - Los crisoles deben ser "demineralizados" colocándolos por una noche en una solución de dicromato y ácido sulfúrico y enjuagándolos luego con agua por seis veces consecutivas; seguidamente enjuagados con HCl al 10% y tres veces con agua deionizada. Secar los crisoles en estufa y almacenarlos en bolsas de plástico. Volverlos a secar por varias horas antes de usarlos y colocarlos en un desecador. A partir de este momento, manejarlos con pinzas solamente.

2. Material de vidrio y plástico

   a. El material de laboratorio que contenga $LaCl_3$, sangre, o sus componentes debe ser lavado con agua corriente antes del remojo en

detergente a fin de prevenir la precipitación. El material del laboratorio que ha contenido extractos de MIBC (metil isobutil cetona) deberá ser pre-enjuagado con acetona antes del remojo en detergente.

b. No usar material de laboratorio en el cual se haya dejado secar substancias químicas o jabón, sin un previo tratamiento con una mezcla de dicromato-ácido sulfúrico o con una solución de HNO_3 en caliente.

c. Remojar el material de laboratorio por una noche en una solución de detergente acuoso con bajo contenido de fosfatos, tal como Sparkleen (Fisher Scientific, Co.) o Acationix.

d. Escobillar el material, incluyendo las tapas, y enjuagar (enjuagar = llenado y vaciado) en agua corriente; enjuagado tres veces con agua deionizada. (Una vez seco, el material de vidrio puede inspeccionarse visualmente a fin de detectar la presencia de capas residuales).

e. Tres enjuages (o un remojo por toda una noche) en HCl al 10%, eliminará los elementos insolubles en el detergente y el sodio residual presente en el jabón.

f. Finalmente, se usa tres enjuages con agua deionizada.

g. El material de plástico se sacude y deja secar tan pronto como sea posible mientras permanece cubierto con una tela de gaza a la temperatura ambiente.

h. El material de vidrio es secado en una estufa o con acetona. En ningún caso la temperatura deberá ser mayor de 100°C cuando se trata de material de vidrio calibrado.

i. Todo el material de vidrio y plástico es almacenado inmediatamente en bolsas de plástico o sellado con película de parafina o con tapas secas y limpias.

j. Para los análisis del tipo ultra-micro, el material deberá enjuagarse en HNO_3 al 10% seguido de tres enjuages con agua deionizada inmediatamente antes de su utilización.

k. Las puntas de entrega de las pipetas Eppendorf se tratarán en la forma arriba indicada (j).

B. Suero o plasma

La preparación de las muestras varía de acuerdo al mineral del que se trate.

1. Equipo y materiales

a. Centrífuga

b. Pipeteador con 10 ml de capacidad.

c. Tubos de ensayo de plástico (17 x 100 mm) con tapas herméticas y gradillas.

d. Balanza tipo Harvard.

e. Pipetas

f. Cinta para marcar y lapicero.

g. Llenador de pipetas.

2. Calcio y magnesio

El nivel aproximado de calcio en el suero o plasma es 10 mg % = 10 mg/100 ml = 100 µg/ml. El nivel aproximado de magnesio en el suero o plasma es 2 mg % = 2 mg/100 ml = 20 µg/ml.

a. Diluír el filtrado de TCA 1 → 5 con $LaCl_3$ al 1%.

b. El factor de dilución final es 50. La concentración de las muestras deberá caer en cualquier lado de los 2 µg Ca/ml y .4 µg Mg/ml del suero o plasma.

3. Fósforo (como fosfato) - El nivel aproximado de fósforo como PO_4^{-3} en el suero o plasma es de 3 a 5 mg/100 ml (30 a 50 µg/ml). Utilizar 1 ml del filtrado de TCA para el análisis de fósforo. La concentración de las muestras

deberá caer en cualquier lado de los 4 µg P/ml del suero o plasma.

4. Zinc y cobre - El nivel aproximado de zinc en el suero o plasma es 0.8 µg/ml (0.5 a 1.2 µg/ml) y el cobre típicamente se le encuentra en concentraciones de 0.7 a 1.4 µg/ml.

Fernández y Kahn (1971) indicaron que el zinc y el cobre podrían determinarse por absorción atómica a partir de muestras de suero diluído con agua deionizada (el instrumento deberá estar equipado con un quemador del tipo "High Solids"). Para el cobre, el suero se diluye 1 → 2 y para el zinc 1 → 5. Debido a que el suero diluído con agua deionizada resulta más viscoso que el agua, es posible que se obtengan bajas recuperaciones cuando se comparan con estándares acuosos. Para superar este inconveniente se agrega glicerol al blanco y a los estándares tratando de igualar la viscosidad del suero diluído. Los estándares de cobre se diluyen a la concentración apropiada con una solución de glicerol al 10% (v/v) y los de zinc con una solución de glicerol al 5% (v/v).

Las bajas diluciones del suero en agua como se ha indicado para el cobre y zinc pueden obstruír las válvulas del aspirador y el quemador ordinario del instrumento de absorción atómica, además de que la mayor concentración de iones presenta un efecto de matriz en la solución que puede conducir a resultados inexactos. Estos problemas potenciales podrían eliminarse incinerando uno o más ml de suero y solubilizando las cenizas con HCl al 5% (5 ml de HCl al 5%/ml de suero incinerado). Los estándares deberán prepararse de manera que ccntengan concentraciones similares al total de los iones en la muestra.

C. Hígado

El hígado se corta en pequeños fragmentos de ¼" x ¼" x ¼", con cuchillo o tijeras de acero inoxidable. Si el hígado fué almacenado congelado, éste se deberá cortar mientras esté aún parcialmente congelado. Si el tejido es preservado en formaldehido, la solución preservadora se deberá medir y analizar para aquellos elementos que pudieran haberse difundido de la muestra. De ser

posible, analizar las muestras dentro de los 2 meses de la preservación con formaldehido.

1. Equipo y materiales

   a. Balanza analítica

   b. Estufa de secado

   c. Horno

   d. Dilutor automático (American Optical o equivalente).

   e. Crisol de porcelana de 100 ml.

   f. Frascos volumétricos de 25 y 50 ml.

   g. Tubos de ensayo de plástico con tapas herméticas y gradillas.

   h. Pipetas volumétricas

   i. Cuchillo y tijeras de acero inoxidable.

   j. Botellas de almacenamiento, preferiblemente de polietileno.

   k. Campana de extracción y ventilador resistentes a la corrosión.

   l. Plancha caliente eléctrica.

   m. Varillas agitadoras (paletas) de Nalgene.

   n. Embudos de filtración y gradillas para embudos.

   o. Papel de filtro tipo "Sharkskin."

   p. Colorímetro y cubetas para determinación de fósforo. (Manipular las cubetas con cuidado para prevenir rasguños y manchas en el vidrio).

2. Materia seca - Seleccionar los crisoles que tengan un buen acabado (de lustre suave para prevenir las dificultades en remover la solución mineral durante la solubilización). Limpiar los crisoles tal como ha sido previamente discutido en la preparación de material de vidrio. Secar los crisoles en estufa (100 a 105°C) por lo menos por 2 horas. Retirar los crisoles de la estufa y enfriarlos en un desecador por 2 horas. Pesar los crisoles en una balanza analítica con una aproximación de cuatro decimales. Registrar todas las pesadas

de una manera similar a la hoja analítica incluída (Cuadro 14). De ser posible, pesar aproximadamente 25 g de fragmentos de hígado fresco. Tomar el duplicado de cada muestra en este momento. Pesar el crisol más las muestras de hígado fresco y colocarlo por toda la noche o por lo menos 16 horas en estufa a 100°C. Retirar de la estufa y enfriar por 2 horas en un desecador. Pesar el crisol y el tejido seco. Es una buena práctica correr con las muestras dos o tres crisoles en blanco através de todo el proceso analítico para descontar la contaminación.

3. Preincineración o digestión húmeda - Los crisoles conteniendo la muestra de tejido seco (5 g aproximadamente) se colocan sobre una plancha caliente dentro de una campana de extracción y se preincineran mediante adiciones gota a gota de HNO_3 concentrado hasta que la muestra adquiera una consistencia semi-líquida y no produzca más burbujeo con las adiciones del ácido. Las muestras pueden tomar una consistencia indeseable ("souffle") si el proceso es acelerado o si se agrega demasiado ácido. Si la temperatura de la plancha caliente es muy elevada se puede producir salpicadura del contenido. Comenzar con una temperatura entre 200 y 300°C y elevar o bajar la temperatura como sea necesario. Las muestras formarán un "souffle" en el horno si el preincinerado fue incompleto.

4. Incineración - Los crisoles que contienen las muestras pre-incineradas secas se colocan en un horno y la temperatura (200°C para comenzar) se eleva 100°C cada hora hasta alcanzar un máximo de 500°C. La incineración se continúa por toda una noche. Retirar los crisoles del horno cuando se hayan enfriado parcialmente y colocarlos en un desecador para enfriarlos por 2 horas. Pesar el crisol con las cenizas.

5. Solubilización de las cenizas - Los crisoles conteniendo las cenizas obtenidas de 25 g de muestra de hígado fresco se colocan en una plancha caliente para realizar la hidrólisis ácida. Mojar las cenizas con unas cuantas gotas de agua deionizada; agregar aproximadamente 5 ml de HCl al 50%. Evaporar

la solución de HCl hasta cerca de la ½ del volumen y luego agregar HCl al 10% hasta las 2/3 partes del volumen del crisol. Enjuagar los lados del crucible mediante la adición de HCl al 10%. Evaporar la solución hasta cerca de 10 ml y agregar agua deionizada hasta los 2/3 del volumen del crisol. Evaporar la solución hasta cerca de 5 ml; no permitir que el crisol se seque completamente. Se estima que la concentración de ácido en 25 ml de volumen es cerca de 5% o 0.6 N de HCl aproximadamente. Retirar los crisoles de la plancha caliente. (Si se desea detener el proceso en esta etapa, dejar enfriar el crisol y cubrirlo con papel de cera). Enjuagar el embudo que contiene el papel filtro "Sharkskin" con HCl al 10% en un vaso (beaker). Colocar el embudo en el cuello de un frasco volumétrico de 25 ml de tal manera que cuando se agregue líquido el aire pueda escapar libremente. Con el ácido que contiene el crisol y con la ayuda de la paleta de agitación de Nalgene limpiar de arriba hacia abajo los lados del crisol. Transferir la solución al papel del filtro utilizando el costado de la paleta. Agregar 5 ml de agua deionizada y repetir el raspado y la transferencia. Enjuagar el papel de filtro, el crisol y la paleta con dos porciones de 3 ml de agua deionizada; dejar escurrir el papel de filtro entre cada lavado. Retirar el papel de filtro y enjuagar el embudo y la punta del mismo mientras se le retira. Ajustar el volumen mediante el lavado del cuello del frasco volumétrico con agua deionizada y mezclar invirtiendo el frasco por lo menos ocho veces. Transferir a frascos de almacenamiento. Estos deberán tener una boca suficientemente grande, de tal manera que permita la entrada del pipeteador del dilutor o la pipeta (es preferible utilizar botellas de polietileno si es que se va a determinar Na).

D. Huesos

1. Equipo y materiales

a. Cuchillo de acero inoxidable.

b. Tela de gaza.

c. Extractor de reflujo

d. Estufa de secado

e. Balanza analítica

f. Horno

g. Mortero y mango

h. Crisoles de porcelana de 100 ml.

i. Campana extractora y ventilador resistentes a la corrosión.

j. Plancha caliente eléctrica.

k. Varillas de agitación (paletas) de Nalgene.

l. Frascos volumétricos de 50 ml.

m. Embudos de filtración y gradilla para embudos.

n. Papel de filtro del tipo "Sharkskin."

o. Botellas de almacenamiento de soluciones, preferible de polietileno.

p. Tubos de ensayo de plástico con tapas herméticas y gradillas.

q. Dilutor automático (American Optical o equivalente).

r. Colorímetro y cubetas para determinación de fósforo. (Manipular las cubetas con cuidado para prevenir rasguños y manchas en el vidrio).

2. Procedimiento: Se remueven todos los tejidos blandos adheridos al hueso. Secar el hueso fresco a 100°C por 24 horas, enfriar, envolver en gaza y colocarle una etiqueta (usar lápiz). Hacer la extracción etérea (éter de petróleo) en un extractor de reflujo por 48 horas. (Aproximadamente cada hora deberá ocurrir un reflujo completo por sifonamiento de la solución). Después de la extracción, dejar secar el hueso (aproximadamente 3 horas) o hasta que no se pueda detectar el olor a éter. Obtener el peso seco después de 24 horas a 100°C. Incinerar el hueso a 600°C por toda la noche (la temperatura se deberá elevar gradualmente). Obtener el peso de las cenizas para calcular el porcen-

taje de las cenizas en base a hueso seco y libre de grasa.

La solubilización de las cenizas de hueso pesadas y libres de humedad es similar a aquella que se ha descrito para el caso del hígado, excepto que el hueso calcinado se muele con mortero y mango antes de tomar la muestra. La ceniza del hueso pesada es humedecida ligeramente con agua deionizada y se le agrega cuidadosamente 10 ml de HCl concentrado; seguidamente se hace la hidrólisis en caliente con los crisoles casi llenos con HCl al 10%, seguida con la adición de agua. La evaporación se realiza hasta antes de la formación de los cristales de fosfato de calcio. El proceso de la digestión de deberá continuar por varias horas para asegurar la completa solubilización de los óxidos y fosfatos. Dos gramos de cenizas de hueso pueden ser solubilizados y transferidos cuantitativamente a frascos volumétricos de 50 ml para realizar los análisis de calcio, fósforo, magnesio y zinc. Las soluciones deben tener un 5% de acidez. Todas las diluciones deben tener un pH menor que 2 al momento del análisis. Si el pH se eleva por encima de 4 puede ocurrir cristalización con el tiempo (4 semanas).

E. Forrajes

1. Equipo y materiales

a. Balanza analítica

b. Estufa de secado

c. Horno

d. Dilutor automático (American Optical o equivalente).

e. Crisoles de porcelana de 100 ml.

f. Frascos volumétricos de 50 ml.

g. Tubos de ensayo de plástico con tapas herméticas y gradillas.

h, Pipetas volumétricas.

i. Botellas de almacenamiento de plástico, preferible de polietileno.

j. Gradilla para embudos.

k. Varillas de agitación (paletas) de Nalgene.

l. Embudos de filtración

m. Papel de filtro del tipo "Sharkskin"

n. Plancha caliente eléctrica.

o. Campana extractora y ventilador resistentes a la corrosión.

p. Colorímetro y cubetas para determinación de fósforo. Debe ponerse suficiente cuidado en el lavado y el almacenamiento de las cubetas a fin de evitar rasguños o manchar el vidrio. Es necesario utilizar gradillas protegidas (recubiertas de goma, plástico, etc.) para las cubetas.

2, Materia seca, materia orgánica y cenizas - Seleccionar los crisoles que posean un buen acabado interior (de lustre suave para prevenir las dificultades en la remoción de la solución mineral durante la solubilización). Limpiar los crisoles como se ha indicado anteriormente en la preparación del material de vidrio. Secar los crisoles en estufa (± 100°C) por lo menos por 2 horas. Retirar los crisoles de la estufa y enfriarlos en un desecador por 2 horas.

Pesar los crisoles en una balanza analítica con una aproximación de cuatro decimales. Registrar todas las pesadas de una manera similar a aquella en la hoja analítica incluída (Cuadro 14). Pesar aproximadamente 5 g de una muestra secada al aire colocándola en el crisol mientras éste permanece en el platillo de la balanza (mezclar bien la muestra antes de pesar la alícuota de 5 g). Hacer duplicados de cada muestra en este momento. Pesar el crisol más la muestra secada al aire, colocarla a 100°C en la estufa por toda la noche o por 16 horas. Retirar de la estufa y enfriar en un desecador por 2 horas. Pesar el crisol más la materia seca y luego ponerlo en el horno, elevando la temperatura con incrementos de 100°C hasta alcanzar una temperatura máxima de 500°C. Mantener a 500°C por lo menos por 8 horas. Retirar los crisoles del horno después de que se hayan enfriado parcialmente, colocarlos en un desecador por 2 horas a

fin de que enfrien. (Si los crisoles se hubieran enfriado completamente en el horno, recalentarlos a 100°C por 2 horas antes de colocarlos en el desecador). Pesar los crisoles conteniendo las cenizas. Es una buena práctica correr dos o tres crisoles en blanco conjuntamente con las muestras através de todo el proceso analítico para descontar la contaminación.

3. Solubilización de las cenizas - La solubilización de las cenizas de los 5 g de la muestra de forraje y la transferencia a frascos volumétricos es similar a aquella descrita para las muestras de hígado. Después de agregar HCl al 50%, HCl al 10% y agua deionizada, evaporar a un volumen no menor que 10 ml y transferir la solución de las cenizas a frascos volumétricos de 50 ml. Se estima que la concentración de ácido en un volumen de 50 ml es no más de 2% o 0.2 N de HCl aproximadamente.

IV. PREPARACION DE LOS ESTANDARES

A. Procedimiento

Los estándares deben ser preparados para duplicar tanto como sea posible las concentraciones de los minerales esperados en las soluciones de las muestras sin diluír. Para cualquier mineral, la concentración del mismo en la muestra debe ser primeramente estimado. El estándar es preparado diluyendo una solución altamente concentrada del elemento que se desea determinar. Tanto las muestras como los estándares se diluyen de una forma similar para obtener el rango analítico apropiado para el análisis del elemento por espectrometría de absorción atómica o procedimientos de colorimetría. Una vez que se ha establecido el rango definitivo de las concentraciones del mineral para un grupo de muestras, se pueden preparar los estándares de trabajo de tal forma que incluyan los rangos esperados para las soluciones de las muestras sin diluír. Las concentraciones típicas de los minerales en el suero (o plasma), hígado, hueso y forrajes se presentan en el Cuadro 4. La composición elemental aproximada del

hígado (5 g de tejido seco/25 ml) y del forraje (5 g de muestra seca/50 ml) en solución se presentan en los cuadros 5 y 6, respectivamente. Las soluciones "madre" (stock) se pueden preparar a partir de las soluciones estándar para absorción atómica disponibles comercialmente, o también de los productos químicos de grado reactivo. El Cuadro 8 proporciona información detallada de los cálculos y la preparación de las soluciones estándar "madre" (stock).

Es deseable, cuando sea posible, preparar soluciones "madre" concentradas de cada elemento en concentraciones apropiadas de tal manera que puedan ser diluídas mediante el pipeteo en frascos volumétricos para ajustarse a los rangos de las muestras sin diluir. Estas diluciones se les denomina estándares de trabajo. Las soluciones de los estándares de trabajo deben ser similares a las soluciones de las muestras de suero (o plasma), hígado, y forrajes presentadas en los cuadros 7 al 13. De ser posible, los estándares de trabajo se deben preparar en el mismo volumen de la solución no diluída de la muestra (i.e., 50 ml para las muestras de forraje). El rango de los estándares de trabajo debe incluir la concentración más alta y la más baja de los elementos, con un total de por lo menos cinco estándares para cada mineral. Los estándares de trabajo y las muestras son diluídas con un dilutor automático a la concentración apropiada para el análisis. Cuando se preparan soluciones "madre" altamente concentradas a partir de compuestos grado reactivo, la exactitud del contenido mineral se puede establecer llevando estas soluciones através del proceso de dilución y comparándolas con soluciones estándar certificadas para absorción atómica. Se han utilizado compuestos en forma de cloruros para preparar las soluciones "madre" tratando de evitar la introducción de aniones extraños en los estándares. Las formas de nitratos se recomiendan cuando las soluciones de las muestras necesitan estar en soluciones de ácido nítrico para ser inyectadas en el horno de grafito en la determinación de elementos traza por el método de absorción atómica sin llama (los cloruros son volátiles a las tem-

peraturas empleadas).

B. Dilución de las muestras y estándares

Para la dilución de las muestras y los estándares, siempre que sea posible, se debe utilizar un dilutor automático, ya que la repetibilidad es muy importante en este método de análisis. Los tamaños disponibles de la bomba del dilutor son los únicos factores limitantes en el uso extensivo del dilutor. Si los volúmenes que se van a pipetear estuvieran por debajo o por encima de la capacidad del dilutor, será necesario utilizar pipetas. De ser posible, eliminar el uso de pipetas de vidrio en volúmenes menores que 5 ml, debido al error de calibración en las pipetas de volumen pequeño.

El procedimiento usual consiste en preparar los estándares de trabajo utilizando pipetas y frascos volumétricos que igualen el volumen y la acidez de las soluciones de las muestras. Regular el dilutor de acuerdo a la dilución deseada y diluír todas las muestras y los estándares sin cambiar la posición inicial. Si se necesita otra dilución, cambiar la regulación del diluyente como sea necesario y completar las diluciones sin alterar las posiciones. Asegurarse de mezclar bien cada muestra diluída mediante el mezclador vortex o por inversión antes de tomar una muestra de ésta para hacer una dilución mayor.

Las soluciones de ácido altamente concentradas no se deben pasar por el dilutor, ya que pueden corroer las partes de la bomba.

Los instrumentos de dilución automáticos usados en trabajo con minerales deberán enjuagarse antes y después de su uso utilizando por lo menos 200 ml de agua deionizada seguido sucesivamente de 200 ml de detergente Acationix al 1%, 100 ml de HCl al 10%, y un enjuague final con 200 ml de agua deionizada. La expulsión de las burbujas grandes requiere la repetición de la dilución pero la presencia de pequeñas burbujas es inconsequente.

La punta de la pipeta se debe limpiar con una servilleta suave o enjuagar

entre cada toma de muestra.

Los cuadros 9 a 13 proporcionan información detallada sobre la preparación de soluciones "madre" concentradas y soluciones estandarizadas de trabajo, así como las diluciones aproximadas para los estándares y las muestras.

La concentración de ácido de las muestras y los estándares deben corresponder estrechamente ya que las diferencias pueden afectar negativamente las lecturas comparativas en el aparato de absorción atómica. El estándar de trabajo debe corresponder con la concentración de ácido en las soluciones originales de la muestra. Cuando las muestras y los estándares son tratados en forma semejante, las lecturas de las concentraciones finales serán comparables.

V. DETERMINACION DE FOSFORO POR METODO COLORIMETRICO

La dilución en cloruro de lantano que se prepara para la determinación de calcio puede utilizarse para la determinación colorimétrica de fósforo. Las soluciones con $LaCl_3$ han sido probadas con el método colorimétrico y se ha encontrado que proveen perfecta duplicación con el uso de soluciones estándar ácidas. En realidad, la concentración ácida en las soluciones de $LaCl_3$ aseguran un pH bajo que mantiene el $PO_4^{\equiv}$ en solución para el análisis mediante el método de Fiske-Subbarow.

A. Referencia:

Fiske, C.H. y Y. Subbarow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem. 66:375 (modificado para un volumen total de 10 ml). Otro método que se puede usar si se desea es el de Chen, P.S., T.Y. Toribara y H. Warner. 1956. Microdetermination of phosphorus. Anal. Chem. 28:1756.

B. Reactivos:

1. Solución de molibdato amónico: 2.5% en H_2SO_4 5N.

   Disolver 25 g de molibdato amónico $(NH_4)_6Mo_7O_{24}\cdot 4\ H_2O$ en 200 ml de agua deionizada.

   En un matraz volumétrico de un litro añadir agua deionizada (varios cientos de ml) y 150 ml de H_2SO_4 concentrado. Cuando enfríe, transferir cuantitativamente la solución de molibdato y completar el volumen a un litro con agua deionizada. Esta solución es estable por mucho tiempo.

2. Acido-1 amino-2 naftol-4-sulfónico (ANS): (Reactivo que se puede obtener de las compañías Harleco y Fisher Scientific).

   Disolver un paquete (viene medido) del polvo seco de ácido 1-amino 2-naftol 4-sulfónico, siguiendo las instrucciones, en 100 ml de agua deionizada a una temperatura entre tibia y caliente. Dejar enfriar y filtrar la solución. Almacenar en una botella ámbar bajo refrigeración. Usarlo a temperatura ambiente. La solución solamente es estable aproxi-

madamente 2 o 3 semanas.

(En el método de Chen, Toribara y Warner, se usa ácido ascórbico como agente reductor).

C. Procedimiento:

(Los estándares y el blanco se procesan en la misma forma que las muestras).

1. En cubetas que han sido apareadas, dispensar .5 o 1 ml de la muestra en solución. (Cubetas redondas, Hycel, 19 x 105 mm de la compañia Scientific Products).
2. Añadir 8 ml de H_2O para alícuotas de .5 ml, o 7.5 ml de H_2O para alícuotas de 1 ml.
3. Añadir 1 ml de la solución de molibdato. Mezclar completamente y dejar en reposo por unos minutos.
4. Añadir .5 ml de la solución ANS y mezclar por inversión. La lectura en el colorímetro debe empezar después de 20 minutos desde que se añadió ANS a la primera muestra y se deben leer dentro de 1 hora.
5. Leer el % de transmitancia (T) a 825 mμ (milimicrón). Convertir la lectura a absorción o densidad óptica (O.D.). Usar un fototubo rojo o filtro rojo.

D. Cálculos:

Reportar el fósforo en suero o plasma como mg/100 ml (mg %). Reportar la concentración de fósforo en hígado y forraje como ppm (partes por millón o por ciento en base seca). Preparar una gráfica con las lecturas de los estándares (concentración vs. densidad óptica) para determinar si la curva es linear y la precisión de los puntos sobre la curva. La concentración de fósforo en las muestras se puede tomar directamente de la gráfica de la curva estándar o se puede determinar utilizando una ecuación de regresión basada en la concentración (y) y densidad óptica (x) de los estándares. Omitir los

puntos que no caen en la línea o son inexactos.

En los casos que las muestras y soluciones estándar se diluyan en la misma forma no es necesario tomar en cuenta el factor de dilución en los cálculos y las concentraciones de fósforo se pueden determinar de la siguiente manera:

$$(\mu g/volumen);\ ppm = \frac{(a + bx)\ 1}{\text{peso de la muestra seca}}$$

$$(mg/volumen);\ \% = \frac{(a + bx)\ .1}{\text{peso de la muestra seca}}$$

Donde b = pendiente de la regresión
a = intercepción
x = densidad óptica

Las lecturas de fósforo de los estándares y las muestras de forraje (5 g de materia seca/50 ml), se pueden registrar en una hoja de datos como se ilustra en el Cuadro 15.

Cuando los estándares no se diluyen en la misma forma como las muestras y las lecturas están expresadas en absorción o densidad óptica, la ecuación de regresión se puede utilizar para calcular µg del elemento por ml de solución analizada. En el caso de muestras líquidas (i.e., suero o plasma), la concentración de la solución analizada se debe multiplicar por el factor de dilución para determinar el total de µg de fósforo presente en la muestra. En la ceniza en solución analizada se debe multiplicar por el volumen (ml) de la solución original en que se solubilizó la ceniza del material y también se multiplica por el factor de dilución para determinar el total de µg de fósforo presente en las muestras. Este valor se divide entre el peso de la muestra en base seca en g para obtener µg/g o ppm del elemento en la muestra. Las lecturas de fósforo (% T), conversiones a densidad óptica, concentraciones (µg/ml), factores de dilución, peso de la muestra seca y cálculos de las muestras así como las lecturas de los estándares se pueden registrar en una hoja de datos como se ilustra en el Cuadro 16.

VI. ANALISIS DE MINERALES POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA

A. Equipo y materiales

1. Aparato de absorción atómica, Perkin-Elmer, modelo 306 o un aparato equivalente.
2. Tanque de acetileno.
3. Lámpara para cada elemento.
4. Soluciones estándar para absorción atómica (Harleco o Fisher Scientific).

B. Procedimiento

El principio de la espectrofotometría de absorción atómica (EAA) es similar al de espectrofotometría de emisión, excepto que se mide la energía que absorben los átomos en vez de medir la energía que éstos emiten. En la técnica de emisión de llama, la muestra se eleva a un estado alto de energía (excitación) y se mide la intensidad de la radiación que emiten los átomos cuando éstos regresan al estado mínimo de energía. En absorción atómica se lleva a cabo el proceso inverso; el elemento de interés en la muestra no se excita, sino simplemente se disocia de sus enlaces químicos y se coloca en un estado no excitado, no ionizado y en su estado mínimo de energía. En estas condiciones el elemento es capaz de absorber radiación externa que es la que se mide. Cada elemento tiene su propio espectro de emisión y absorción que es característico. Las energía de emisión y absorción no tienen siempre la misma longitud de onda. La radiación con longitud de onda en donde ocurre emisión y absorción son útiles en absorción atómica y se conocen como líneas de resonancia.

La técnica de análisis por absorción atómica utiliza la energía de emisión y la de absorción. Generalmente, se usan lámparas de cátodo hueco como fuentes de luz o energía en las cuales el cátodo está fabricado o revestido por el elemento que se va a analizar. La luz proveniente de la lámpara de cátodo hueco pasa através de una llama en la cual se aspira la muestra

líquida que se va a analizar. Los átomos que están químicamente disociados y en su estado mínimo de energía absorben la radiación emitida en líneas discretas.

El grado de absorción es proporcional a la concentración del elemento en la muestra aspirada. Detectores electrónicos miden el cambio en la cantidad de luz o energía que ha pasado a través de la llama. Las señales que se obtienen de los detectores se pueden expandir y aparecen, según el tipo de instrumentación, como porcentaje de absorción, unidades de absorbancia, directamente en concentración o en forma de picos utilizando un registrador. El límite de detección se define como la menor concentración que se puede analizar y que da una señal igual al doble de la variabilidad de fondo. Sensibilidad se define como la concentración de un elemento que producirá una absorción del 1% o .0044 unidades de absorbancia.

La espectrofotometría de absorción atómica se ha considerado libre de interferencias; sin embargo, con el aumento en sensibilidad y más amplia aplicación, ciertas características físicas de las soluciones aspiradas han producido señales de absorbancia atómica para el elemento que difieren de aquellas para cantidades conocidas en soluciones acuosas "simples" o no complicadas. Las soluciones de materiales biológicos siempre son complejas y la variabilidad es impredecible.

Slavin (1968) sugirió que cuando la muestra en solución es tal que el total de sólidos disueltos (matriz) son menores del .1% de la solución, los estándares simples en un solvente equivalente darán resultados satisfactorios. Cuando las sales disueltas están entre .1 y 1%, se pueden obtener resultados correctos en el análisis de EAA de llama preparando los estándares de manera que contengan una concentración aproximada dentro del 25% de los constituyentes principales en las muestras en solución. La forma más práctica para reducir el total de sólidos disueltos es diluyendo la muestra, pero esta

ventaja se pierde cuando la concentración del elemento de interés en la muestra está cerca del límite de detección. Por lo tanto, se deben sospechar y medir las interferencias de la matriz en las soluciones de material biológico cuando no se puede diluir el total de los sólidos disueltos a menos del .1%.

C. Determinación de macroelementos

1. Sodio y potasio

Las concentraciones de estos elementos en las diluciones de las soluciones estándar son equivalentes a las encontradas en las diluciones de las muestras.

No siendo necesario elevar la sensibilidad para el tipo de las muestras de interés no se da importancia a los efectos de ionización en la llama. Se ha encontrado que es necesario incluír tres o más blancos para determinar la contaminación de sodio. En el caso de que se tenga que postergar el análisis, las soluciones se deben almacenar en recipientes de polietileno.

2. Calcio

Las diluciones de las muestras en solución para la determinación de calcio son variables. Es recomendable, por lo tanto, preparar la dilución final que se va a usar en el análisis de tal manera que contenga aproximadamente 1% de $LaCl_3$. Esta concentración de lantano va a controlar más o menos 200 µg/ml del ion fosfato en la llama. El ion fosfato interfiere marcadamente en el análisis de calcio por EAA de llama.

3. Magnesio

A las diluciones que generalmente se requieren para la determinación de magnesio, los iones de fosfato y silicato no se encuentran presentes en cantidades suficientes que requieran la presencia de lantano; sin embargo, éste puede estar presentes en las soluciones de las muestras y por lo tanto, se debe añadir a los estándares en concentraciones similares.

D. Determinación de microelementos (cobre, hierro, manganeso y zinc)

Los cuadros 5 y 6 pueden servir como guía de las posibles concentraciones iónicas que se pueden encontrar en el hígado de vacunos y ovinos (5 g de tejido seco/25 ml) y varios forrajes (5 g de muestra seca/50 ml).

Resultados de este laboratorio y otros han confirmado ciertos efectos e interferencias de la matriz en la determinación de microelementos por espectrofotometría de absorción atómica utilizando la llama (Billings, 1965; Koirtyohann y Pickett, 1966a,b; Slavin, 1968; Kahn, 1968; Hell y Ramírez-Muñoz, 1970; West, Fassel and Kniseley, 1973; Legget y Westerman, 1973; Girón, 1973; Baker y Smith, 1973; Ball y Gottschall, 1975).

Las concentraciones del zinc, manganeso y hierro que se encuentran en las soluciones de muestras de hígado y forraje permiten diluír las muestras. Cuando la dilución es de 1 → 10 (forraje) y 1 → 100 (hígado) (Cuadros 5 y 6), la concentración iónica (incluyendo el ácido) se puede reducir a menos del .1%. Muy pocas soluciones de muestras sin diluír tienen menos de .1% de el total de sólidos disueltos. Estas soluciones se pueden analizar utilizando estándares "simples" en soluciones acuosas. En general, sin embargo, el total de sólidos disueltos para hígado (5 g de tejido seco/25 ml) y forraje (5 g de muestra seca/ 50 ml) se encuentra entre 2 y 5 y .5 a 1%, respectivamente. Cuando la concentración de los microelementos en las soluciones de las muestras sin diluír son muy bajas para diluirlas (i.e., concentraciones en el límite de detección o por debajo del límite de detección), se debe determinar el efecto de interferencia de la matriz sobre la absorbancia. Los procedimientos que se pueden utilizar para determinar las interferencias de la matriz son los siguientes:

1. Método de Billings, 1965. La lectura de absorbancia de la muestra aspirada se compara con la lectura obtenida con una solución blanco comparable en una línea de radiación cercana donde no ocurra absorción. Las líneas (Å) que se sugieren son para el manganeso, 2576.1; cobre, 2961;

hierro, 2510.8 o 2472.9. No se encontró ninguna para zinc.

2. La detección de un error que es constante también se puede hacer analizado diluciones en serie de la muestra y comparando las lecturas con las obtenidas de las soluciones "simples" de los estándares. También se puede analizar una muestra poniendo en solución diferentes cantidades de la muestra en un mismo volumen. Cualquier cambio que se observe en la concentración de la muestra indica una interferencia de la matriz. El significado de la interferencia en el análisis deberá ser juzgado por el analista en base a la aplicación de los resultados.

Se pueden obtener análisis más correctos de las siguientes maneras:

1. Por el método de adición de estándares.
2. Utilizando el sistema de corrección de fondo por el arco de deuterio, el cual se recomienda especialmente para el análisis de zinc.
3. Separando los microelementos de la matriz que tiene altas concentraciones de sal. Este proceso es laborioso pero ha tenido éxito utilizando procedimientos de extracción con quelatos o métodos de intercambio de iones.
4. Preparando los estándares de microelementos de manera que tengan las matrices de macroelementos similares a las encontradas en las muestras. Debido a que las soluciones sin diluír de las muestras pueden exceder el 1% del total de sólidos disueltos, se pueden preparar soluciones estándar matriz con concentraciones similares dentro del 25%. En nuestro laboratorio, se determinó la concentración de microelementos aportados por los compuestos grado reactivo en una solución matriz grado reactivo de un litro. Se utilizó el procedimiento de extracción por medio de quelatos con amonio pirrolidino ditiocarbamato (APDC) u oxina y metil isobutil cetona (MIBC) y los resultados indicaron que la contribución de cobre, zinc y manganeso por los compuestos grado reactivo no sería detectable por el análisis de EAA usando la llama. La contaminación de hierro

puede ser significativa. Sin embargo, el análisis de hierro por EAA de llama no es tan sensitivo, relativamente, como lo es para el cobre, zinc y manganeso y los blancos estarían por debajo del límite de detección del aparato.

En los cuadros 9, 10 y 13 se presenta información para la preparación de los estándares de los microelementos. Cuando las soluciones de las muestras no se pueden diluír por lo menos de 1 → 10 se debe utilizar para el análisis estándares preparados en una solución matriz. Si la solución de la muestra se puede diluir y la concentración del total de sales es menor que .5%, se pueden usar estándares "simples."

La absorbancia linear del hierro es limitada y las fluctuaciones de la línea base hacen difícil la calibración del aparato para tomar lecturas de concentración. Es recomendable tomar las lecturas de hierro en absorbancia en un rango analítico de 1 → 5 µg/ml y si es posible, diluír las soluciones de las muestras. Cuando las lecturas se toman directamente en concentración, utilizar la posición de integración 10 para cobre, manganeso y zinc. En soluciones de alto contenido de sólidos, la tasa de atomización se reduce y ésto causa que tome más tiempo para obtener la absorbancia máxima. Cualquier cambio en las lecturas de los estándares con el tiempo sugiere una reducción en la tasa de aspiración. Es recomendable aspirar una solución del 5% de HCl o escariar periodicamente la aguja del atomizador con un alambre de cobre para remover los depósitos de sal. No utilizar el quemador de tres ranuras para los análisis de elementos menores en soluciones de muestras biológicas.

E. Operación del instrumento

No se intenta presentar toda la información necesaria para el manejo adecuado de un aparato de espectrofotometría de absorción atómica. Las compañias

que fabrican los instrumentos proveen instrucciones en detalle sobre el manejo de sus aparatos y éstas se deben de seguir cuidadosamente. Los siguientes pasos se siguen en el Laboratorio de Nutrición, Universidad de Florida, Gainesville, FL., U.S.A. en la operación de un aparato de absorción atómica de la compañía Perkin Elmer, modelo 306.

1. Procedimiento de encendido

   a) Conectar el cable eléctrico del aparato al regulador de voltaje y conectar el cable de este último al tomacorriente.

   b) Montar la lámpara de cátodo hueco.

   c) Encender el aparato oprimiendo el botón correspondiente. Calentar la lámpara de cátodo hueco por 10 a 15 minutos. Para el análisis de potasio, utilizar el filtro y éste se coloca en posición oprimiendo el botón verde.

   d) Con la perilla (source knob) que controla el amperaje, ajustar el miliamperaje en el medidor que está detrás de la lámpara para que corresponda con el miliamperaje indicado en la etiqueta de la lámpara (miliamperaje designado para los aparatos modelo 303, 306 y 403).

   e) Montar un quemador de una sola ranura cuando se va a trabajar con llama azul. Utilizar el quemador de 3 ranuras para la llama amarilla. Para el análisis de potasio usar el quemador de tres ranuras. Los quemadores se cambian cuando están fríos aflojando y apretando la tuerca en la base del quemador. No se debe forzar el quemador o apretar demasiado la tuerca cuando se cambian.

   f) Revisar el recipiente donde se acumula el líquido del desague de la cámara del quemador. Revisar el recodo del tubo de plástico, éste debe estar lleno con agua y el extremo del tubo de plástico se debe introducir de 3 a 5 pulgadas bajo el nivel de agua en el recipiente

donde se acumula el desague.

Nota: Si no se toman estas precauciones, la cámara de mezcla de el quemador puede explotar.

g) Operar los selectores del aparato para el elemento deseado de acuerdo a lo indicado en el libro de operaciones que provee la compañía.

g-1 Seleccionar el ancho adecuado de la rendija.

g-2 Seleccionar la posición "VIS" o "UV" requerida.

g-3 Ajustar la longitud de onda con el selector observando el medidor de energía. Regresar la aguja a la parte verde del medidor.

h) Encender el compresor de aire y la campana de extracción. Abrir la válvula de la línea de aire. Vacíar la trampa de agua de la línea de aire, si es que contiene agua (la válvula de la trampa no se puede abrir hasta que la presión de aire regresa a cero). Cuando la presión de aire en el manómetro de la caja control indica 30 libras/pulgada cuadrada (lpc) y los manómetros de la línea de aire marcan una presión sobre 30 lpc, la presión es óptima. La esfera de bronce en la caja control debe estar aproximadamente entre 10 y 10.5 para la llama azul y 9 y 9.5 para la llama amarilla.

i) Cerrar la válvula de acetileno en la caja control. Abrir la válvula del tanque de acetileno y regular la presión a 10 en la caja control. Abrir la válvula de acetileno en la caja control y con un encendedor de chispa, encender la llama en el quemador. La esfera blanca en la caja control debe estar aproximadamente en 10.5. Introducir el capilar aspirador en un vaso (beaker) con agua deionizada (libre de partículas).

j) El aparato está listo para tomar lecturas en absorción o para calibrarlo y tomar las lecturas directamente en concentración.

2. Procedimiento de calibración

a) En la sección izquierda de los controles, mover las respectivas perillas a las posiciones "ABS" y "DAMPING" 1, como lo indican las instrucciones.

b) En la sección derecha de los controles:

b-1 Asegurarse que ambas perillas que sirven para la corrección de curva estén en la posición "cero" y también que las perillas de "ONSET" y "MAGNITUDE" estén en "cero."

b-2 Poner la perilla de abajo que está a la derecha en la posición "ABS."

b-3 Introducir el capilar aspirador en una solución blanco. Apretar el botón de "AUTO ZERO" hasta que la lectura digital sea .000.

b-4 Considerando que ya se estableció la exactitud y linearidad de los estándares, colocar el capilar aspirador en la solución estándar apropiada. Es preferible utilizar un estándar que está en el rango de concentración de las soluciones que se van a analizar.

b-5 Cambiar la perilla que está abajo y a la derecha a la posición "CONC." Quitar el seguro a la perilla que está encima a la anterior y moverla de manera que la lectura digital lea la misma concentración que la solución estándar que se está aspirando y poner el seguro.

b-6 Cambiar la perilla que está abajo y a la derecha a la posición "AUTO CONC." Apretar el botón "AUTO CONCENTRATION" hasta que la lectura sea la misma que en (b-5). Ajustar el punto decimal si es necesario.

b-7 Introducir el capilar aspirador en un beaker con agua deionizada

y después introducirlo de nuevo en la solución blanco.

b-8 En la sección izquierda de los controles, cambiar la perilla a "INT 2" o "INT 10."

b-9 Apretar el botón "AUTO ZERO" hasta que la lectura sea .000.

b-10 Introducir el capilar de nuevo en la solución estándar que se usó para la calibración. Tocar el botón de lectura "READ"; cuando se enciende la luz del botón, la lectura está lista.

b-11 Comprobar la exactitud y linearidad de la calibración leyendo otros estándares que están en el rango de concentración de las muestras que se van a analizar. Hacer las correcciones convenientes.

b-12 Introducir el capilar en la solución que se va a analizar, tocar el botón "READ," tomar la lectura y registrarla.

b-13 Instrucciones adicionales para tomar lecturas de absorción, corrección de curvas, operación con llamas de oxido-nitroso-acetileno, y lecturas con registrador se pueden encontrar en los manuales de Perkin-Elmer.

3. Procedimiento de apagado

a) Cerrar la válvula de acetileno en la caja control.

b) Cerrar las dos válvulas del tanque de acetileno.

c) Abrir las válvulas de acetileno de la caja control y liberar de acetileno la tubería.

d) Cerrar la válvula del aire.

e) Apagar el compresor y la campana de extracción.

f) Apagar el aparato de absorción atómica.

g) Colocar la perilla "source knob" en "cero."

h) Remover los cables eléctricos del tomacorriente.

i) Cambiar el tanque de acetileno cuando la presión sea menor de 100 libras.

4. Cambio de lámpara

Cerrar la válvula del acetileno de la caja control. Apagar el aparato. Colocar la perilla "source knob" en "cero." Dejar que la lámpara se enfrie antes de desconectarla. Guardar la lámpara que se terminó de usar y montar la siguiente lámpara. Iniciar el procedimiento de encendido.

5. Precauciones

a) Nunca se debe abandonar el cuarto cuando la llama del aparato está encendida.

b) Si por cualquier razón se corta la energía eléctrica (i.e., se apagan las luces, etc.), inmediatamente cerrar la válvula del acetileno en la caja control (de otra manera el compresor se va a apagar y la llama solo estará quemando acetileno).

c) Si no se enciende el compresor y/o se abre la tubería de aire al inicio del procedimiento de encendido en 1 (h), ésto producirá una descarga de humo y hollín.

d) Siempre abrir la tubería de acetileno al final del procedimiento de encendido y cerrar primero el tanque de acetileno durante el procedimiento de apagado.

6. Limitaciones

a) No se debe tratar de analizar muestras que están por debajo del límite de detección.

b) Para determinar concentraciones en ppb (i.e., <ppm) en soluciones que no sean puras, hay que consultar la literatura.

c) En cualquier solución que contenga una mezcla de iones, asegurarse que el elemento que se va a analizar esté libre de interferencias.

d) Las soluciones estándar por debajo de 2 ppm deben de prepararse cada vez que se van a utilizar.

e) Las concentraciones de ácido y/o de cualquier "agente que interfiere" y/o concentraciones de elementos en exceso de 500 µg/ml y/o compuestos orgánicos deben encontrarse en concentraciones similares en los estándares y en las muestras.

F. Lectura de estándares y muestras

Seguir el procedimiento descrito anteriormente en 2 (b) (procedimiento de calibración). Tomar periodicamente lecturas del blanco y los estándares después de leer aproximadamente 15 muestras. Se recomienda dos lecturas por estándar. Si se reajusta el "AUTO-ZERO" se deben de leer de nuevo los estándares. El capilar aspirador se debe introducir en un vaso (beaker) con agua deionizada cuando se cambia de una muestra a otra para prevenir contaminación. Si el capilar aspirador se obstruye, se obtiene una lectura de "cero." Las partículas invisibles que resultan de un filtrado inadecuado, substancias que se encuentran en los líquidos, o partículas que caen en las soluciones pueden obstruír la aguja del atomizador. El alambre de cobre que provee la compañía que fabrica el aparato se puede utilizar para escariar cuidadosamente el capilar y la aguja del atomizador. También se obtiene una lectura de "cero" cuando el capilar aspirador se presiona contra los lados o fondo del recipiente, o no está dentro de la solución.

Las lecturas se pueden registrar en hojas de datos como se ilustra en los cuadros 17 y 18.

G. Cálculo de los resultados

Reportar la concentración de los elementos en el suero o plasma como µg/ml o mg/100 ml (mg %). Reportar la concentración de los elementos en el hígado y forraje como porciento o ppm (µg/g) en base a materia seca.

Las lecturas de los estándares deben de ponerse en una gráfica para determinar la linearidad y exactitud de los puntos. Omitir los puntos inexactos o

que no caen en la línea. La concentración mineral de las muestras se puede tomar directamente de la gráfica de la curva estándar o se puede determinar utilizando una ecuación de regresión basada en la concentración (y) y absorción (x). En los casos en que las muestras y soluciones estándar se diluyen en la misma forma (i.e., muestras de forrajes) no es necesario tomar en cuenta el factor de dilución en los cálculos y se pueden determinar por medio de una ecuación de regresión basada en la concentración de los estándares (y) (i.e., µg/50 ml o mg/50 ml) y la absorbancia (x) de la siguiente manera:

$$(\mu g/volumen);\ ppm = \frac{(a + bx)\ 1}{\text{peso de la muestra seca}}$$

$$(mg/volumen);\ \% = \frac{(a + bx)\ .1}{\text{peso de la muestra seca}}$$

Donde: b = pendiente de regresión
a = intercepción
x = absorbancia

Las lecturas de los minerales en los estándares y las muestras de forraje (5 g de peso seco/50 ml) se pueden registrar en una hoja de datos como se ilustra en el Cuadro 17.

Cuando los estándares no se diluyen en la misma forma que las muestras y las lecturas están expresadas en absorbancia, la ecuación de regresión se puede utilizar para calcular los µg del elemento por ml de solución analizada. En el caso de muestras líquidas (i.e., suero o plasma), la concentración de la solución analizada se debe multiplicar por el factor de dilución para determinar el total de µg presente en la muestra. En la ceniza en solución (i.e., hígado), la concentración de la solución analizada se debe multiplicar por el volumen (ml) de la solución original en que se solubilizó la ceniza del material y también se multiplica por el factor de dilución para determinar el total de µg de elemento presente en la muestra. Este valor se divide entre el peso de la muestra en base seca en g para obtener µg/g o ppm del elemento en la muestra.

Las lecturas de minerales en los estándares y las muestras de tejidos se pueden registrar en una hoja de datos como se ilustra en el Cuadro 18.

CUADRO 1. CUESTIONARIO PARA FINCAS QUE PARTICIPAN EN ESTUDIOS DE MINERALES

Fecha _____

NOMBRE DE LA FINCA: _____

2. LOCALIZACION DE LA FINCA: _____

2.1 Provincia (municipio) _____ ☐ 2 2 Estado (departamento) _____ ☐

2.3 País _____ 2.4 Latitud y Longitud ☐ 2.5 Altitud ☐

3. NOMBRE Y DIRECCION DEL PROPIETARIO: _____

4. NOMBRE Y DIRECCION DEL ADMINISTRADOR: _____

5. NIVEL EDUCATIVO DEL ADMINISTRADOR: _____

6. INFORMACION DE ACCESO:

6.1 Punto de referencia (ciudad) 6.2 Carretera 6.3 Distancia

_____ _____ _____

Tipo de carretera (pavimentada, grava) _____

7. USO DE LA TIERRA:

	Ha.		(%)	
7.1	Infraestructura (Instalaciones)	_____	☐	_____	☐
7.2	Cultivos agronómicos	_____	☐	_____	☐
7.3	Pasto natural	_____	☐	_____	☐
7.4	Pasto mejorado	_____	☐	_____	☐
7.5	Bosque	_____	☐	_____	☐
7.6	Area total cultivada	_____	☐	_____	☐
7.7	Agua	_____	☐	_____	☐
7.8	Area total	_____	☐	_____	☐

8. CLIMA:

8.1 Tipo _____ ☐ 8.2 Temperatura promedio _____ ☐

8.3 Precipitación pluvial promedio _____ ☐

8.4 Estación seca _____ a _____ ☐ (meses)

9. SUELO:

9.1 Características generales del suelo pH _____ ☐

Drenaje _____ ☐ Color _____ ☐

Otros _____ ☐ _____ ☐

9.2 Tipos: CUADRO 1. (Continuación)

	Clases	%

9.3 Análisis del suelo (Adjúntelo si es posible) Sí ____ ☐ No ____ ☐

10. DATOS DE AGUA:

10.1 Fuente _____ ☐

10.2 Análisis Sí ____ ☐ No ____ ☐
(Adjúntelo si es posible)

10.3 Observaciones sobre el agua _____

_____

11. DESCRIPCION DE LA VEGETACION:

11.1 Original (total de la finca)

	Ha.	%
Bosque		
Llanos altos		
Llanos medianos		
Llanos bajos		
Areas inundadas		

11.2 Descripción de la vegetación original de las areas cultivadas

Tipo	%	Tipo	%
Bosque		Llanos bajos	
Llanos altos		Areas inundadas	
Llanos medianos		Otros	

12. PRADERAS:

12.1 Nombre del forraje nativo | Capacidad de carga (cabezas/Ha.) | Area promedio (Ha.)

Introducido

CUADRO 1 (Continuación)

Mejorado	Capacidad de carga (cabezas/Ha.)	Area promedio (Ha.)
_____ ☐	_____ ☐	_____ ☐
_____ ☐	_____ ☐	_____ ☐
_____ ☐	_____ ☐	_____ ☐

12.2 Se queman las praderas periodicamente? Sí ____ ☐ No ____ ☐

Cuándo? _____

12.3 Sistema de pastoreo Rotacional _____ ☐ Continuo _____ ☐

Si es rotacional, describa _____

12.4 Se aplican fertilizantes a los pastos? Sí ____ ☐ No ____ ☐

Clases y cantidades _____

_____

Frecuencia _____

12.5 Plantas tóxicas:

Nombre	Mes	Mortalidad estimada (%)
_____ ☐	_____ ☐	_____ ☐
_____ ☐	_____ ☐	_____ ☐

13. GANADO BOVINO:

13.1 Ganado de carne _____ ☐ Ganado lechero _____ ☐

Ganado de doble propósito _____ ☐

13.2 Razas principales _____ ☐ _____ ☐

13.3 Clases:

	No. de Animales		No. de Animales
Toros	_____ ☐	Machos 1-3 años	_____ ☐
Vacas	_____ ☐	Hembras 1-3 años	_____ ☐
Terneros	_____ ☐	Ganado de Engorde	_____ ☐
Terneras	_____ ☐	Total	_____ ☐

13.4 Utiliza inseminación artificial? Sí ____ ☐ No ____ ☐

13.5 No. de terneros nacidos este año _____ ☐

13.6 Cuál es la producción promedio de leche? _____ (litros) ☐

CUADRO 1 (Continuación)

13.7 Animales agregados al hato durante el último año

Origen		Cantidad		Clase	
_____	☐	_____	☐	_____	☐
_____	☐	_____	☐	_____	☐
_____	☐	_____	☐	_____	☐
_____	☐	_____	☐	_____	☐
_____	☐	_____	☐	_____	☐

13.8 Fertilidad (% de natalidad)

197 _____ ☐
197 _____ ☐
197 _____ ☐

13.9 Porcentaje que se destaza

197 _____ ☐
197 _____ ☐
197 _____ ☐

13.10 Mortalidad

	No.	%		Causa	
197	_____	_____	☐	_____	☐
197	_____	_____	☐	_____	☐
197	_____	_____	☐	_____	☐

13.11 Epoca de apareamiento y manejo

Libre _____ ☐ Controlada _____ ☐

_____ a _____ (mes)

13.12 A qué edad se desteta? _____ ☐

13.13 A qué edad se aparean las terneras? _____ ☐

13.14 A qué edad se venden los animales? _____ ☐

14. INSTALACIONES:

14.1 Cajas de minerales (saleros)

Clase _____

Cubiertos Sí _____ ☐ No _____ ☐ No. Total _____ ☐

No./100 cabezas _____ ☐ Tamaño _____ ☐

Altura (cm) _____ ☐

CUADRO 1 (Continuación)

14.2 Instalaciones para manejo

No. de corrales _____ ☐ Tamaño del corral _____ ☐

Manga Sí ____ ☐ No ____ ☐ Brete Sí ____ ☐ No ____ ☐

Balanza Sí ____ ☐ No ____ ☐

Electricidad en el corral Sí ____ ☐ No ____ ☐

15. SALUD DEL HATO:

15.1 Vacunaciones

Aftosa _____ ☐
Brucellosis _____ ☐
Rabia _____ ☐
Otras _____ ☐

15.2 Control de parásitos

Internos

Tipos _____ ☐ _____ ☐ _____ ☐

Se trató con vermífugo Sí ____ ☐ No ____ ☐

Cuándo _____

Tratamiento _____

Externos

Tipos _____ ☐ _____ ☐ _____ ☐

Tratamiento _____

Cuándo _____

15.3 Hay problemas de salud (i.e., huesos fracturados, pérdida de peso, pelo áspero, baja fertilidad, étc.)?

Sí _____ ☐ No _____ ☐

Describa _____

_____

_____

16. EMPLEADOS:

Veterinario _____ ☐ Administrador _____ ☐

Agrónomos _____ ☐ Vaqueros _____ ☐

CUADRO 1 (Continuación)

17. SUPLEMENTACION DE ENERGIA O PROTEINA:

Con qué se alimenta (describa: suplementos, métodos y cantidades que se alimentan)

_____

_____

_____

18. SUPLEMENTACION DE MINERALES:

18.1 Cuáles de los siguientes minerales son proveídos?

Sal común _____ ☐ Sal yodada _____ ☐

Calcio y fósforo _____ ☐ Minerales traza _____ ☐

Otros (i.e., inyecciones) _____

18.2 Fórmula del suplemento mineral

Elemento	%		Elemento	%	
NaCl	_____	☐	Mn	_____	☐
Ca	_____	☐	Zn	_____	☐
P	_____	☐	Fe	_____	☐
Mg	_____	☐	I	_____	☐
Cu	_____	☐	Se	_____	☐
Co	_____	☐	Otros	_____	☐

18.3 Proporción de la sal con los otros minerales _____ ☐

18.4 Consumo promedio/cabeza/año _____ ☐

18.5 Frecuencia con que se proveen minerales durante el mes? _____ ☐

18.6 Se han observado problemas de minerales en el área? _____

_____

_____

19. OBSERVACIONES:

_____

_____

_____

20. NOMBRE DE LA PERSONA QUE LLENA EL FORMULARIO (EN LETRA DE IMPRENTA)

_____

Fecha _____

CUADRO 2. IDENTIFICACION DE LA MUESTRA DE TEJIDO ANIMAL

1. Identificación de la finca (Nombre, localización exacta, administrador o propietario)

_____

_____

2. Origen de la muestra (i.e. Nombre y localización del matadero) _____

_____

_____

3. Identificación de la muestra*

(Especifique)				
Finca	_____	_____	_____	_____
Animal ID	_____	_____	_____	_____
Tejido	_____	_____	_____	_____
Fecha	_____	_____	_____	_____
Muestra	_____	_____	_____	_____

4. Descripción del animal

a) Número de identificación _____

b) Raza _____

c) Edad _____

d) Clase--Novillo _____ Vaquilla _____ Toro _____ Vaca que no está lactando _____ Vaca lactante _____

e) Peso _____

f) Condición o acabado--Bueno _____ Regular _____ Pobre _____

g) Enfermedades o parásitos (especifique) _____

_____

_____

5. Otras observaciones _____

_____

_____

_____

_____

*Es esencial que la identificación de la muestra en este formulario corresponda con la identificación del recipiente que contiene la muestra.

País _____

CUADRO 3. IDENTIFICACION DE LA MUESTRA DE FORRAJE

Fecha _____

1. Identificación de la finca (Nombre, localización exacta, administrador o propietario) _____ _____

2. Potrero donde se colectó la muestra (Detalle el lugar en la finca) _____

3. Muestras colectadas (Coleccione por lo menos una muestra de cada una de las especies principales en el potrero)

4. Identificación de la muestra*

Finca	_____	_____	_____	_____
Potrero	_____	_____	_____	_____
Fecha	_____	_____	_____	_____
Muestra	a	b	c	d

5. Descripción de la muestra

Género, especie	_____	_____	_____	_____
Nombre común	_____	_____	_____	_____
Variedad	_____	_____	_____	_____
Altura al corte (cm)	_____	_____	_____	_____
Estado de madurez	_____	_____	_____	_____
% en el potrero	_____	_____	_____	_____
	_____	_____	_____	_____

6. Clasificación del suelo y textura _____

7. Fertilizante (Especifique el tipo, fecha de aplicación, y Kg./Ha.). _____

*Es esencial que la identificación de la muestra en este formulario corresponda con la identificación en la tarjeta atada a la muestra.

CUADRO 4. CONCENTRACIONES TIPICAS DE MINERALES EN EL SUERO (O PLASMA), HIGADO Y HUESO DE RUMINANTES Y FORRAJES.

Item	Concentraciones de minerales[a]								
	Na	K	Ca	Mg	P	Cu	Fe	Zn	Mn
Suero (o plasma), µg/ml	±3,000	±200	±100	±20	±50	±1	±1.5	±1	±.05
Hígado, µg/g	±4,000	±10,000	±300	±600	±10,000	±200	±500	±150	± 5
Ceniza de hueso	1%	.05%	36%	.6%	17%	2-3ppm	±15ppm	±100ppm	2-3ppm
Forrajes, µg/g	80-1,000	±1,500	±3,500	±200	±1,650	1-40	10-1,000	4-500	5-1,000

[a]Los valores de hígado, hueso y forrajes están expresados en base de materia seca y los valores de suero (o plasma) en base fresca.

CUADRO 5. COMPOSICION APROXIMADA DE MINERALES EN UNA SOLUCION DE HIGADO (5g DE MUESTRA SECA/VOLUMEN DE 25 ml)

Especies	Dilución	HCl[a]	Composición de Minerales, µg/ml									% de Sales[d]	Referencia
			Na	K	P	Ca	Mg	Fe	Zn	Cu	Mn		
Vacunos	ninguna	18,000	734	2,340	2,480	43	125	65.2	30.8	17.8	2.5	2.38	Ammerman et
	1→ 10		73.4	234	248	4.3	12.5	6.5	3.1	1.8	.2	.24	al. 1974
	1→ 100		7.3	23.4	24.8	.4	1.2	.6	.3	.2	---	.02	
Ovejas	ninguna	"	----	----	2,340	32.6	118	211	38.6	8.7	2.0	---	Watson et al.
	1→ 10		----	----	234	3.3	11.8	21.1	3.9	.9	.2	---	1973
	1→ 100		----	----	23.4	.3	1.2	2.1	.4	.09	---	---	
Vacunos	ninguna	"	----	----	----	---	---	47.8	20	29.6	1.67	---	Lang, 1974
	1→ 10		----	----	----	---	---	4.8	2.0	3.0	.2	---	
	1→ 100		----	----	----	---	---	.5	.2	.3	---	---	
Ovejas	ninguna	"	----	----	----	40	117	98	36	136	1.96	---	Standish y
	1→ 10		----	----	----	4	11.7	9.8	3.6	13.6	.2	---	Ammerman, 1971
	1→ 100		----	----	----	.4	1.2	1	.4	1.4	---	---	
Vacunos	ninguna	"	----	----	2,749	55	126	51	29	35.4	2.36	---	Standish et al.
	1→ 10		----	----	275	5	12.6	5.1	2.9	3.5	.24	---	1971
	1→ 100		----	----	27.5	.5	1.3	.5	.3	.3	---	---	
Ovejas	ninguna	50,400[b]	800[c]	2,200[c]	2,040	18.4	103	43.8	18.6	106.4	1.6	5.57	Lab de Nut.
	1→ 10		80	220	204	1.8	10.3	4.4	1.9	10.6	.2	.56	Univ. de FL.
	1→ 100		8	22	20.4	.2	1.0	.4	.2	1.1	---	.06	
Vacunos	ninguna	18,000	486	1,940	----	---	---	54	26	38.6	2.1	---	ANE (Agencia
ANE #1577	1→ 10		48.6	194	----	---	---	5.4	2.6	3.9	.2	---	Nacional de
	1→ 100		4.9	19.4	----	---	---	.5	.3	.4	---	---	Estándares)

[a] HCl 1% ≃ .1N = .1 g p.m./litro, 1% HCl = 3,600 µg/ml HCl, 5% HCl = 18,000 µg/ml HCl.
[b] HNO_3 .1N = .1 g p.m./litro = 6,300 µg/ml HNO_3, 5% HNO_3 ≃ .8N HNO_3 = 50,400 µg/ml HNO_3.

[c] Valores estimados.
[d] El total de sales solubles incluyen NO_3^- y H^+ calculados en base a peso/volumen.
Las sales contribuídas por el hígado = % total de sal + 5.04 (5% HNO_3)
= % total de sal + 1.8 (5% HCl)

CUADRO 6. COMPOSICION APROXIMADA DE FORRAJES EN SOLUCION (µg DE MUESTRA SECA/VOLUMEN DE SOLUCION)

Tipo de Muestra	Dilución	Composición Mineral, µg/ml										% de Sales[b]	Referencia
		HCl[a]	Na	K	P	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn	Cu		
Pasto Pangola	ninguna	7200	350	800	250	450	438	25	18	10	1	.95	Lab de Nut.
(10 semanas)	1→10		35	80	25	45	44	2.5	1.8	1	.10	.10	Univ. de FL.
Heno, FL.													
Pasto Pangola	ninguna	"	110	1620	170	310	100	4	11.5	5	.57	.95	"
Heno, Guayana	1→10		11	162	17	31	10	.4	1.15	.5	---	.10	
Pasto Pangola	ninguna	"	150	135	145	250	65	10	80	55	.35	.95	"
Heno, FL.	1→10		15	13.5	14.5	25	6.5	1	8	5.5	---	.10	
Cortado con tijeras													
Pasto Bahía-Trebol	ninguna	"	80	---	230	690	340	2.5	9.9	6.8	.52	---	"
Heno, FL.	1→10		8	---	23	69	34	.25	1	.68	---	---	
Pasto Argentina	ninguna	"	---	---	80	630	190	1.9	16.5	25	1.6	---	"
Bahía, FL.	1→10		---	---	8	63	19	.19	1.65	2.5	.16	---	
Perdigones de	ninguna	"	46	1810	1220	325	625	6.4	9.6	2.1	1.22	1.12	"
harina de semilla	1→10		4.6	181	122	32.5	62.5	.64	1	.21	.12	.11	
de algodón													
Alfalfa	ninguna	3600	240	2220	280	1370	253	2.7	18.9	2.2	1.3	.76	Baker y Smith,
Wash.	1→10		24	222	28	137	25.3	.27	1.89	.22	.13	.08	1968
Forrajes mez-	ninguna	"	182	2000	260	1390	253	3.13	11.6	15.2	1.33	.77	"
clados	1→10		18.2	200	26	139	25.3	.31	1.16	1.52	.13	.08	
Wash.													
Maíz en mazorca	ninguna	"	18	580	53	30	26	2.19	14.5	.65	3.71	.43	"
Wash.	1→10		1.8	58	5.3	3	2.6	.22	1.45	---	.37	.04	

CUADRO 6 (continuación)

Tipo de Muestra	Dilución	HCl[a]	Composición Mineral, µg/ml Na	K	P	Ca	Mg	Zn	Fe	Mn	Cu	% de Sales[b]	Referencia
Maíz en grano, Wash.	ninguna	3600	13	630	364	30	133	2.71	2.52	.72	.67	.48	Baker y Smith, 1968
	1→10		1.3	63	36.4	3	13.3	.27	.25	---	---	.05	
Maíz en grano entero, FL.	ninguna	7200	---	---	300	4	188	2.50	6.0	.75	.50	---	Lab de Nut. Univ. de FL.
	1→10		---	---	30	.4	18.8	.25	.6	----	---	---	
Pulpa de cítricos molida	ninguna	7200	100	1080	100	1540	120	1.77	13.5	.67	.97	1.02	Ammerman et al. 1973
	"	"	110	1120	110	1470	120	1.14	9.4	.58	.60	.10	
Sin moler	1→10		10.5	110	10.5	150	12	.15	1.10	---	---	---	
Hojas de aliso, Wash.	ninguna	3600	28	790	135	980	237	5.3	13.90	40.9	1.04	.58	Baker y Smith, 1973
	1→10		2.8	79	13.5	98	23.7	.53	1.39	4.09	.10	.06	
Hojas de pino Douglas, Wash.	ninguna	"	29	550	144	220	79	1.0	9.9	23.0	.29	.46	"
	1→10		2.9	55	14.4	22	7.9	.10	.99	2.30	---	.05	
Hojas de vergel, ANE #1571	ninguna	7200	8	1470	210	2090	620	2.5	30	9.1	1.20	1.16	ANE (Agencia Nacional de Estándares)
	1→10		.8	147	21	209	62	.25	3	.91	.12	.12	
Ración de novillos (baja en Mn)	ninguna	"	45	90	340	225	126	10.8	43	2.7	1.8	.81	Lab. de Nut. Univ de Fl.
	1→10		4.5	9	34	22.5	12.6	1.08	4.3	.27	.18	.08	
Melaza (en base de materia seca)	ninguna	"	288	4775	100	900	700	20	35	50	17.5	1.40	"
	1→10		28.8	478	10	90	70	2	3.5	5	1.75	.14	

[a] HCl 1% ≃ .1N = .1 g p.m./litro, HCl 1% = 3600 µg/ml HCl, HCl 2% = 7200 µg/ml HCl.
[b] El total de sales solubles incluyen Cl^- y H^+ calculados en base a peso/volumen.
Las sales contribuídas por forrajes = % total de sal + .72 (2% HCl) o .36 (1% HCl).

CUADRO 7. NIVELES DE MACROELEMENTOS Y MICROELEMENTOS EN EL SUERO (O PLASMA), HIGADO Y FORRAJE. CONCENTRACION DE ELEMENTOS EN LOS ESTANDARES "MADRE" REQUERIDOS PARA PROVEER CONCENTRACIONES SIMILARES A LAS ENCONTRADAS EN LAS SOLUCIONES DE LAS MUESTRAS.

Suero (o plasma)	Na	K	Ca	Mg	P	Zn	Cu
Rango, µg/ml	3,000	200	90-110	18-31	30-60	.5-1.2	.7-1.4
1 ml→ 10, 10% TCA (p/v)	300	20	9-11	1.8-3	3-6	---	---
Rango de los estándares, µg/ml	---	---	25-500	4-40	30-60	---	---
Concentración de la solución estándar "madre," µg/ml	13,000	15,600	10,000	10,000	2,000	1,000	1,000

Hígado	Na	K	Ca	Mg	P
Rango, µg/g, MS	4,000	10,000	200-460	400-600	10,000-14,000
Total µg/5g de muestra, MS	20,000	50,000	1000-2300	2000-3000	50,000-70,000
Concentración/25 ml, µg/ml	800	2,000	40-92	80-120	2,000-2,800
Rango de los estándares, µg/ml	----	---	50-1500	10-400	500-7500
Concentración de solución estándar "madre," µg/ml	13,000	15,600	1,000	10,000	100,000

CUADRO 7 (continuación)

Hígado	Fe	Zn	Cu	Mn	Co	Se	Mo
Rango, µg/g, MS	180-376	84-132	100-300	8-12	.2-1	.5-5	2-4
Total de µg/5g de muestra, MS	900-1800	420-660	500-1500	40-60	1-5	2.5-25	10-20
Concentración/25 ml, µg/ml	36-75	17-26	20-60	1.6-2.4	.04-.2	.1-5	.4-.8
Rango de los estándares, µg/ml	5-80	2-30	5-100	2-100	---	---	---
Concentración de la solución estándar "madre," µg/ml	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000	1,000

Forrajes	Na	K	Ca	Mg	P
Rango, µg/g, MS	50-3,500	8000-20,000	2400-8500	1300-4300	900-2900
Total de µg/5g de muestra, MS	250-17,500	40,000-100,000	12,000-42,500	6500-21,500	4500-14,500
Concentración/50 ml, µg/ml	3-350	800-2,000	240-850	130-430	90-290
Rango de los estándares, µg/ml	2.5-400	500-3,500	100-1500	50-600	40-300
Concentración de la solución estándar "madre," µg/ml	500	50,000	10,000	10,000	2,000

CUADRO 7 (continuación)

	Fe	Zn	Cu	Mn
Rango, µg/g, MS	10-1,000	4-500	1-40	5-1000
Total de µg/5g de muestra, MS	50-5,000	20-2500	5-200	25-5000
Concentración/50 ml, µg/ml	1-100	.4-50	.1-4	.5-100
Rango de los estándares, µg/ml	20-800	40-500	10-150	15-1500
Concentración de la solución estándar "madre," µg/ml	1,000	1,000	1,000	1,000

Para preparar las soluciones estándar de cobre, zinc en suero y hierro, zinc , cobre y manganeso en hígado y forraje se pueden utilizar soluciones estándar que se venden comercialmente para absorción atómica (Harleco, Fisher Scientific Co.).
Diluciones de los microelementos con concentraciones de 500, 100 y 10 µg/ml pueden ser útiles.

CUADRO 8. CALCULO Y PREPARACION DE SOLUCIONES ESTANDAR Y OTROS REACTIVOS

1. Fósforo

a. Fósforo, 2,000 µg P/ml

KH_2PO_4 p.m., 136.09; 22.76% P

1 g KH_2PO_4 = .2276 g P = 227.6 mg P

1 g KH_2PO_4 litro = .2276 mg P/ml = 227.6 µg P/ml

2,000 ÷ 227.6 = 8.7873 g/litro

Disolver 8.7873 g de KH_2PO_4 (secado en desecador) a un volumen de un litro con agua deionizada. Un ml de H_2SO_4 concentrado preserva la solución por bastante tiempo.

b. Fósforo, 10 y 20% (p/v)

H_3PO_4 85%, p.m., 97.97; 31.63% P

31.63% P x .85 = 26.89% P = 268.900 µg/g (≈ml)

1→10 dilución = 26,890 µg P/ml = 10% (p/v)

1→20 dilución = 13,445 µg P/ml = 20% (p/v)

Si este compuesto se usa como solución estándar se debe hacer una corrección de gravedad específica.

2. Sodio

a. Sodio, 500 µg/ml

NaCl p.m., 58.44; 39.34% Na

1 g NaCl = .3934 g Na = 393.4 mg Na

1 g NaCl/litro = .3934 mg Na/ml = 393.4 µg Na/ml

500 ÷ 393.4 = 1.2710 g/litro

Disolver 1.2710 g NaCl (secado al horno 70° C) a un volumen de un litro con agua deionizada.

Consérvelo en un recipiente de polietileno.

CUADRO 8 (continuación)

b. NaCl, 6.5 N

NaCl, p.m., 58.4; 1N = 23 g Na/litro

6.5N = 14.95% Na = 149,500 µg/ml

6.5 x 58.4 = 379.6 g NaCl/litro

c. NaCl, .6N

.6 x 58.4 = 35.04 g/litro

Pesar 35.04 g (secado en desecador) y completar a un litro con agua deionizada.

3. Potasio

a. Potasio, 50,000 µg K/ml

KCl, p.m. 74.56; 52.44% K

1 g KCl = .5244 g K = 524.4 mg K

1 g KCl/litro = .5244 mg K/ml = 524.4 µg K/ml

50,000 ÷ 524.4 = 95.35 g/litro

Disolver 95.35 g KCl (secado al horno 70° C) y completar a un litro con agua deionizada.

b. KCl, 4.5N

KCl, p.m., 74.5; 1N = 39.1 g K/litro

4.5N = 17.60% K = 175,950 µg/ml

4.5N x 74.5 = 335.25 g KCl/litro

c. KCl, .4N

.4 x 74.5 = 29.80 g/litro

Pesar 29.80 g KCl (secado en el desecador) y completar a un litro con agua deionizada.

4. Calcio

a. Calcio, 10,000 µg Ca/ml

$CaCO_3$, p.m., 100.09; 40.08% Ca

1 g $CaCO_3$ = .4008 g Ca = 400.8 mg Ca

CUADRO 8 (continuación)

1 g $CaCO_3$/litro = .4008 mg Ca/ml = 400.8 µg Ca/ml

10,000 ÷ 400.8 = 24.95 g/litro

Disolver 24.95 g $CaCO_3$ (secado al horno 70° C) en la cantidad necesaria de HCl al 50%. Cuando enfríe llevar al volumen de un litro con agua deionizada.

b. $CaCl_2$ al 10%; disolver 24.95 g en $CaCO_3$ en la cantidad necesaria de HCl al 50%. Cuando enfríe, llevar al volumen de un litro con agua deionizada.

5. Magnesio

a. Magnesio, 10,000 µg Mg/ml

Mg metálico = 100% Mg; 10 g Mg metál. = 10 g Mg = 10,000 mg Mg

10 g Mg metálico/litro = 10 mg Mg/ml = 10,000 µg Mg/ml

Disolver 10 g Mg metálico en la cantidad necesaria de HCl. Llevar al volumen de un litro con agua deionizada.

b. $MgCl_2$, 10% (p/v)

Disolver 10 g Mg metál. en HCl al 10%. Llevar a un volumen de 100 ml con agua deionizada.

6. Solución de cloruro de lantano ($LaCl_3$), 5% lantano.

Disolver 117.3 g de La_2O_3 en 500 ml de HCl concentrado y cuando enfríe preparar dos litros con agua deionizada. Usar un vaso (beaker) Pyrex de tres litros y en la campana. Añadir el ácido al polvo de lantano despacio y con mucho cuidado. La solución libera O_2 y el Cl_2 rápidamente y puede rebosar el recipiente. Diluir esta solución al 1% $LaCl_3$ para uso en los análisis.

7. Acido tricloracético (TCA), 10% (p/v)

Disolver cuidadosamente 100 g de TCA en un litro de agua deionizada.

CUADRO 9. SOLUCIONES ESTANDAR Y DILUCIONES PARA ANALISIS DE CALCIO, MAGNESIO, FOSFORO, ZINC Y COBRE EN MUESTRAS DE SUERO O PLASMA

Soluciones "madre:"

HCl, .4N = 15,600 µg K/ml = 14,176 µg Cl/ml

NaCl, .6N = 13,800 µg Na/ml = 22,240 µg Cl/ml

$CaCO_3$ en HCl = 10,000 µg Ca/ml

Mg metálico en HCl = 10,000 µg Mg/ml

H_3PO_4 (diluído) = 10,000 µg P/ml

Estándares:

Calcio: En un matraz volumétrico de 100 ml preparar estándares de 0, 25, 50, 150, 250, 350 y 500 µg de Ca/ml. Si se desea, añadir 1 ml de potasio y 20 ml de sodio de las soluciones "madre." Cada estándar tendrá 156 µg de K/ml y 2760 µg de Na/ml, concentraciones que equivalen aproximadamente a las concentraciones de potasio y sodio de la muestra original (sin diluír). Diluír estándares y muestras en la siguiente manera:

1 ml → 10, TCA (10%)→ 1 ml→5, 1% $LaCl_3$. Factor de dilución es 50. Los estándares deben de contener: 0, .5, 1, 3, 5, 7 y 10 µg/ml de calcio.

Magnesio: En un matraz volumétrico de 100 ml preparar estándares de 0, 4, 10, 20, 30 y 40 µg de Mg/ml (si se desea, añadir sodio y potasio en la forma indicada anteriormente) y diluír junto con las muestras.

1 ml → 10, TCA (10%)→1 ml→5, 1% $LaCl_3$.

El factor de dilución es 50. Los estándares deben contener: 0, .08, .2, .4, .6, y .8 µg/ml de magnesio.

Fósforo: Diluír la solución "madre" (2,000 µg P/ml) 25 ml→500 ml = 100 µg P/ml estándar.

Estándares:

1 ml→100 ml = 1 µg/ml

CUADRO 9 (continuación)

2 ml→100 ml = 2 µg/ml

10 ml→100 ml = 10 µg/ml

15 ml→100 ml = 15 µg/ml

Seguir el procedimiento para la determinación colorimétrica de fósforo Los estándares y el blanco se tratan exactamente en la misma forma que las muestras.

Zinc y cobre en suero (plasma):

Soluciones estándar en glicerol para diluciones de suero en agua deionizada:

En un matraz volumétrico preparar una solución matriz usando las siguientes soluciones:

Solución "madre"	Concentración del elemento, µg/ml
1 ml solución de K	156 K
20 ml solución de Na	2,760 Na
1 ml solución de Ca	100 Ca
0.2 ml solución de Mg	20 Mg
0.5 ml solución de P	50 P

Las soluciones estándar para el análisis de zinc se preparan añadiendo zinc a soluciones matrices como la descrita anteriormente, para proveer las siguientes concentraciones: 0, 1, 2, 3, 5 y 10 µg de Zn/ml. Completar al volumen de 100 ml con una solución de glicerol (25%, v/v). Diluír los estándares (1→5) con agua deionizada junto con las muestras de suero. La concentración de los estándares va a ser de 0, .2, .4, .6, 1 y 2 µg de Zn/ml en una solución de glicerol de aproximadamente 5% (v/v).

Los estándares para el análisis de cobre se preparan añadiendo cobre a soluciones matrices, descritas anteriormente, para proveer las siguientes concen-

CUADRO 9 (continuación)

traciones: 0, .5, 1, 1.5 y 2 µg de Cu/ml. Completar al volumen con una solución de glicerol (20%, v/v). Diluír los estándares (1→ 2) con agua deionizada junto con las muestras de suero. La concentración de los estándares va a ser de 0, .25, .50, .75, y 1 µg Cu/ml en una solución de glicerol de aproximadamente 10% (v/v).

Estándares en 5% de HCl (v/v) para ceniza de suero en solución (1 ml de suero/5 ml de HCl al 5%):

Preparar una mezcla estándar de zinc y cobre con las siguientes concentraciones: 0, .1, .2, .4, 1 y 2 µg de Cu/ml; y 0, .1, .4, 1, 2 y 3 µg de Zn/ml en 5% de HCl.

En matraces volumétricos que contengan la solución matriz descrita previamente, preparar las mezclas estándar de cobre y zinc. A cada matraz volumétrico añadir las siguientes soluciones de elementos (10 ml a cada uno):

Estándar	Volumen	Concentración de elementos en la solución "madre," µg/ml		Concentración de los estándares, µg/ml	
		Cu	Zn	Cu	Zn
A blanco		0	0	0	0
B	10 ml	5	5	.5	.5
C	" "	10	20	1	2
D	" "	20	50	2	5
E	" "	50	100	5	10
F	" "	100	150	10	15

Completar al volumen con HCl al 5%. Diluír los estándares 1→5 en HCl al 5% para llevarlos al rango de concentración adecuado para cobre (0 a 2 µg/ml) y zinc (0 a 3 µg/ml), y a la concentración equivalente de los iones de mayor concentración en la solución de ceniza del suero (1 ml/5 ml de HCl al 5%).

CUADRO 10. SOLUCIONES ESTANDAR REQUERIDAS PARA PROVEER CONCENTRACIONES SIMILARES A LAS ENCONTRADAS EN LAS MUESTRAS DE HIGADO (5 g DE TEJIDO SECO/25 ml DE SOLUCION)

Calcio

Preparar estándares con concentraciones de 0, .5, 1, 2, 4, 8, 10 y 15 µg Ca/ml en HCl al 5% y 1% de $LaCl_3$. Diluír las muestras 1→ 100 para proveer la misma concentración de 1% $LaCl_3$ que tienen los estándares.

Magnesio

Preparar estándares con concentraciones de 0, .1, .5, 1, 1.5, 2, 3 y 4 µg Mg/ml en HCl al 5% y 1% de $LaCl_3$. Diluír las muestras 1→100 para proveer la misma concentración de 1% $LaCl_3$ que tienen los estándares. (Este paso es igual para la determinación de calcio).

Fósforo

Preparar estándares de C, 1, 2, 4, 6, 8, 10, 15 y 20 µg/ml de P en agua deionizada a partir de una solución de 100 µg P/ml. Diluír las muestras 1→100 en 1% de $LaCl_3$ y diluír estas muestras todavía más (1→10) en agua deionizada. Estas diluciones pondrán las muestras en un rango aproximado de concentración de 2 a 2.8 µg P/ml. Continuar con el procedimiento colorimétrico para la determinación de fósforo. Las muestras y los estándares se tratan en la misma forma.

Estándares para los microelementos hierro, zinc, cobre y manganeso

Preparar una solución que contenga sodio, potasio, calcio, magnesio y fosforo en concentraciones similares a las encontradas en una solución de hígado (5 g de tejido seco/25 ml de HCl al 5%).

Elementos	µg/ml	Solución "madre"	ml requeridos por litro	Soluciones "madre que se pueden usar
Na	828	13,800 µg/ml	60	.6N
K	2,184	15,600 "	140	.4N
Ca	50	1,000 "	50	10% Ca ($CaCO_3$ en HCl)
Mg	150	10,000 "	15	1% Mg (metál. en HCl)
P	2,000	100,000 "	20	10% P (H_3PO_4 concentrado)
			285 ml	
HCl	2.5%	10%	250	

CUADRO 10 (continuación)

Para eliminar la contaminación de los estándares, los elementos menores de esta solución se pueden extraer con un quelato (10 ml de Amonio Pirrolidino Ditiocarbamato, APDC, 1% p/v) y una solución orgánica (10 ml Metil Isobutil Cetona, MIBC) antes de añadir los elementos traza para los estándares.

Añadir soluciones de elementos traza a la solución de iones descrita anteriormente para proveer las siguientes concentraciones en µg/ml:

	Blanco	A	B	C	D	E	F	G
Fe	0	5	10	15	30	50	100	150
Zn	0	3	5	10	20	30	50	80
Cu	0	3	5	10	30	50	100	150
Mn	0	.1	.3	.5	.8	1	2	3

Estándares de los Microelementos

	Blanco	A	B	C	D	E	F	G
Fe								
ml requeridos/100 ml	0	5	10	15	3	5	10	15
Zn								
ml requeridos/100 ml	0	3	5	10	2	3	5	8
Cu								
ml requeridos/100 ml	0	3	5	10	3	5	10	15
	---solución de 100µg/ml----				solución de 1000 µg/ml			
Mn								
ml requeridos/100 ml	0	1	3	5	8	10	20	30
	--------solución de 10 µg/ml----------							

Usar una solución de 100 µg/ml para los estándares A, B, C de hierro, zinc y cobre.

Usar una solución de 1000 µg/ml para los estándares D, E, F, G de hierro, zinc y cobre.

Usar una solución de 10 µg/ml para preparar todos los estándares de manganeso.

Los estándares para hierro, zinc y cobre se diluyen 1→10 con agua deionizada junto con las soluciones de hígado.

Para el análisis de manganeso utilizar estándares y muestras originales (sin diluír).

CUADRO 11. SOLUCIONES ESTANDAR REQUERIDAS PARA PROVEER CONCENTRACIONES SIMILARES A LAS ENCONTRADAS EN LAS MUESTRAS DE FORRAJE (5 g PESO SECO/ 50 ml) PARA FOSFORO, SODIO, POTASIO, CALCIO Y MAGNESIO

No. de Estándar HCl 2% ≈ .2N	Concentración/100 ml de solución, µg/ml					ml de solución "madre" requeridos/100 ml					
	P	Na	K	Ca	Mg	P	Na	K	Ca	Mg	HCl
1 A	40	2.5	500	100	50	2	.5	1	1	.5	4 ml
2 A	60	10	1000	300	100	3	2	2	3	1	4 ml
3 A	80	25	1500	500	200	4	5	3	5	2	4 ml
4 A	120	50	2000	700	300	6	10	4	7	3	4 ml
5 A	160	100	2500	800	400	8	10*	5	8	4	4 ml
6 A	200	300	3000	1000	500	10	30*	6	10	5	4 ml
7 A	300	400	3500	1500	600	15	40*	7	15	6	4 ml
8 A (blanco)	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	4 ml

Completar a un volumen de 100 ml con agua deionizada.

Soluciones estándar "madre:"

P, 2000 µg/ml; Na, 500 µg/ml; K, 50,000 µg/ml; Ca and Mg, 10,000 µg/ml;

HCl, 50% (v/v) o 6N. *Usar una solución de 1000 µg Na/ml.

Pipetear los estándares en matraces volumétricos de 100 ml. Almacenar en botellas.

Notas: Las soluciones estándar de fósforo servirán como estándares simples debido a que el compuesto (KH_2PO_4) que contiene fósforo también contribuye con potasio.

El sodio, potasio, calcio y magnesio se pueden combinar en soluciones estándar que contengan todos estos elementos.

Las concentraciones en las soluciones estándar son similares a las concentraciones de los elementos anticipados en las soluciones originales (sin diluír) de los forrajes. Las soluciones estándar deben ser normalizadas o calibradas en diluciones apropiadas contra soluciones estándar de absorción atómica de concentración conocida.

CUADRO 12. DILUCIONES REQUERIDAS PARA LLEVAR LOS ESTANDARES DE SODIO, POTASIO, CALCIO, MAGNESIO Y FOSFORO A LOS RANGOS ANALITICOS CORRESPONDIENTES A LAS SOLUCIONES DE LAS MUESTRAS DE FORRAJE

No. de Estándar	Concentración en µg/ml de la dilución 1→10 en agua deionizada				No. de Estándar	Concentración en µg/ml de la dilución 1→20 en 1% $LaCl_3$
	Na	K	Ca	Mg		P
1 B	.25	50	10	5	1 C	2
2 B	1	100	30	10	2 C	3
3 B	2.5	150	50	20	3 C	4
4 B	5	200	70	30	4 C	6
5 B	10	250	80	40	5 C	8
6 B	30	300	100	50	6 C	10
7 B	40	350	150	60	7 C	15
8 B	0	0	0	0	8 C	0

No. de Estándar	Concentración en µg/ml de la dilución 1→100 en 1% $LaCl_3$				No. de Estándar	Concentración en µg/ml de la dilución 1→500 en 1% $LaCl_3$	
	Na	K	Ca	Mg		Mg	K
1 D	--	5	1	.5	1 E	.1	1
2 D	.1	10	3	1	2 E	.2	2
3 D	.25	15	5	2	3 E	.4	3
4 D	.5	20	7	3	4 E	.6	4
5 D	1	25	8	4	5 E	.8	5
6 D	3	30	10	5	6 E	1	6
7 D	4	35	15	6	7 E	1.2	7
8 D	0	0	0	0	8 E	0	0

Soluciones 1B-8B representan diluciones 1→10 de los estándares "madre" 1A-8A.
" 1C-8C " " 1→20 de " " " 1A-8A.
" 1D-8D " " 1→10 de " " " 1B-8B.
" 1E-8E " " 1→5 de " " " 1D-8D.

Todas las diluciones se pueden hacer con un aparato automático para diluír muestras. Los estándares se pueden diluír al mismo tiempo que se diluyen las muestras y se pueden usar tubos "Falcon" de polietileno como recipientes.

CUADRO 13. PREPARACION DE SOLUCIONES MATRICES PARA LAS SOLUCIONES ESTANDAR DE LOS MICROELEMENTOS EN FORRAJES. ESTANDARES Y DILUCIONES DE LOS ESTANDARES PARA ANALISIS DE HIERRO, ZINC, MANGANESO Y COBRE

A. Dispensar en un matraz volumétrico las siguientes soluciones:

1. Matriz baja (.12% de sólidos disueltos, .84% total de la sal)

40 ml KCl, 4.5N	Aprox. 7,000 µg/ml	K
5 ml NaCl, 6.5N	" 750 "	Na
10 ml H_3PO_4, 5% (v/v)	" 1,340 "	P
20 ml $CaCl_2$, 10% (p/v)	" 2,000 "	Ca
10 ml $MgCl_2$, 10% (p/v)	" 1,000 "	Mg
200 ml HCl, concentrado	" 20% HCl (v/v)	

2. Matriz alta (.32% de sólidos disueltos, 1.04% total de la sal)

100 ml KCl, 4.5N	Aprox. 17,500 µg/ml	K
20 ml NaCl, 6.5N	" 2,990 "	Na
20 ml H_3PO_4, 5% (v/v)	" 2,700 "	P
50 ml $CaCl_2$, 10% (p/v)	" 5,000 "	Ca
40 ml $MgCl_2$, 10% (p/v)	" 4,000 "	Mg
200 ml HCl, concentrado	" 20% HCl (v/v)	

Completar al volumen con H_2O deionizada. Mezclar 10 veces por inversión.

Almacenar en una botella "Nalgene" limpia de reactivo.

Cuando la solución matriz se diluye 1→10 ml, es similar en concentración de elementos a las soluciones de muestras de forraje, 5 g/50 ml.

B. Estándares de microelementos

Para rangos en forraje:

Cobre, 10-150 µg/5 g de muestra	.2-3 µg/ml (50 ml)
Hierro, 20-800 " " " "	.4-16 " "
Zinc, 40-500 " " " "	.8-10 " "
Manganeso, 15-1500 µg/5 g de muestra	.3-30 " "

Los estándares analíticos se pueden preparar con un aparato dilutor automático.

CUADRO 13 (continuación)

Estándares analíticos a contener la siguiente concentración en µg/ml.

	A	B	C	D	E	F
Cu, 2 & 3	0	.2	.5	1	2	4
Fe, 2 & 3	0	.2	.5	1	2	4
Zn, 2 & 3	0	.2	.5	1	2	4
Mn, 2 & 3	0	.2	.5	1	2	4
Mn	0	.4	1	2	4	8

La serie de estándares A1-F1 deben contener 2% HCl:

Pipetear las soluciones adecuadas de estándares y de HCl para llevarlas a un volumen de 100 ml.

Estándar "madre" B 1 contiene 2 µg/ml de Cu, Fe, Zn y Mn.

" " C 1 " 5 " " " " " "

" " D 1 " 10 " " " " " "

" " E 1 " 20 " " " " " "

" " F 1 " 40 " " " " " "

La serie de estándares A1-F1 se diluyen 1→10 ml para preparar soluciones estándar A2-F2 o A3-F3. Almacenar las soluciones en botellas de "Nalgene" limpias.

La serie de estándares A2-F2 contiene .2% de HCl y se usa para análisis de diluciones 1→10 de las muestras.

Para las diluciones 1→5 de las muestras, estos estándares deben contener .4% de HCl.

La serie de estándares A3-F3 contiene 1 ml de la solución matriz por 10 ml de solución y se debe usar para el análisis de las soluciones originales de las muestras (sin diluír).

Para forrajes con alto contenido de manganeso puede que se necesite una serie adicional, A1A-F1F con concentraciones de Mn en µg/ml de: 0, 4, 10, 20, 40 y 80.

Para los estándares de microelementos se pueden usar soluciones estándar comerciales de absorción atómica (1000 µg/ml).

CUADRO 14. HOJA PARA REGISTRO DE PESO

No. de Experimento_____ Fecha_____

Técnico de Laboratorio_____

Identificación de la muestra	Número del Crisol	Peso del Crisol	Peso "húmedo"		Peso seco			Peso de la ceniza		
			Crisol + muestra	Peso de muestra	Crisol + muestra	Peso de muestra	% materia seca	Crisol + muestra	Peso de muestra	% ceniza

701-27

CUADRO 15. HOJA DE DATOS PARA ANALISIS DE FOSFORO (FORRAJE)

No. de Exp.________________________ Fecha____________________

Unidad (µg o mg)* ______________ Técnico de Laboratorio______________

Identificación de muestra	% T	D.O.	Peso seco	**

Estándares		
*(y) —/50 ml	% T	(x) D.O.

Regresión

b = ______________________

a = ______________________

**Factor__________________

% = 0.1 (mg/50 ml)

ppm = 1.0 (µg/50 ml)

Coeficiente de correlación

r= ______________________

Error estándar del estimado de Y con X ·

Sy.x______________________

CUADRO 16. HOJA DE DATOS PARA ANALISIS DE FOSFORO

Exp. No.____________________ Dilución______________ Fecha_________________

Solución original____________ Alícuota____________ Técnico de Lab.____________

Identif. muestra	% T	D.O.	µg/ml		Dilución Final	Peso Seco g	µg/g	P %	Estándar		
			Gráfico	Regresión					µg/ml	% T	D.O.

Regresión

b __________________

a __________________

Coeficiente de correlación

r __________________

Error estándar del estimado de Y con X.

Sy. x ________________

CUADRO 17. HOJA DE DATOS PARA ANALISIS DE MINERALES POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA (FORRAJE).

No. de Exp.______________ Unidad (μg or mg)*__________ Fecha________________

Mineral________ Dilución Aproximada_________ Técnico de Lab.________________

Idéntificación de la muestra	Abs.	Abs.	Peso Seco	**

Estándares		
(x) Abs.	(x) Abs.	* (y) /50 ml

Regresión

b= ____________________

a= ____________________

**factor= ________________

% = 0.1 (mg/50 ml)

ppm = 1.0 (μg/50 ml)

Coeficiente de correlación

r = ____________________

Error estándar del estimado de Y con X

Sy. x __________________

CUADRO 18. HOJA DE DATOS PARA ANALISIS DE MINERALES POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA.

No. de Exp._______________ Solución Original__________ Fecha_______________

Mineral ______________ Dilución__________ Técnico de Lab._______________

Identif. Muestra	L e c t u r a		μg/ml		Dilución Total	Peso Seco g	μg/g	μg/ml	E s t á n d a r e s Lectura	
	Conc.	Abs.	Gráfico	Regresión					Conc.	Abs.

Regresión

b = ____________________

a = ____________________

Coeficiente de correlación

r= ____________________

Error estándar del estimado de Y con X

Sy. x ____________________

REFERENCIAS

Ammerman, C. B., J. M. Loaiza, W. G. Blue, J. F. Gamble and F. G. Martin. 1974. Mineral composition of tissues from beef cattle under grazing conditions in Panama. J. Anim. Sci. 38:158.

Ammerman, C. B., F. G. Martin and L. R. Arrington. 1973. Mineral contamination of feed samples by grinding. J. Dairy Sci. 53:1514.

Atomic Absorption Newsletter. Vol. 1, 1962 through Vol. 14 (4), 1975. Perkin-Elmer Corp., Norwalk, Conn.

Baetz, R. A. and C. T. Kenner. 1975. Determination of trace metals in foods using chelating ion exchange concentration. J. Agr. Food Chem. 23:44.

Baker, A. S. and R. R. Smith. 1973. Preparation of solutions for atomic absorption analyses of Fe, Mn, Zn, and Cu in plant tissue. J. Agr. Food Chem. 22:103.

Ball, J. W. and W. C. Gottschall. 1975. Matrix interferences in the determination of iron by atomic absorption spectrophotometry. Atomic Absorption Newsletter 14:63.

Billings, G. K. 1965. Light scattering in trace element analysis by atomic absorption. Atomic Absorption Newsletter 4:357.

Chapman, Jr. H. L., D. H. Cox, C. H. Haines and G. K. Davis. 1963. Evaluation of the liver biopsy technique for mineral nutrition studies with beef cattle. J. Anim. Sci. 22:733.

Chen, P. S., T. Y. Toribara, and H. Warner. 1956. Micro-determination of phosphorus. Anal. Chem. 28:1755.

Coker, D. T. and J. N. Ottoway. 1970. Overexcitation interferences in atomic absorption spectrophotometry with an air acetylene flame. Nature 227:831.

Fernandez, F. J. and H. L. Kahn. 1971. Clinical methods for atomic absorption spectroscopy. Clin. Chem. Newsletter 3:24.

Fiske, C. H. and Y. Subbarow. 1925. The colorimetric determination of phosphorus. J. Biol. Chem. 66:375.

Giron, H. C. 1973. Comparison between dry-ashing and wet digestion in the preparation of plant material for atomic absorption analysis. Atomic Absorption Newsletter 12:28.

Hell, A. and J. Ramirez-Munoz. 1970. High solid samples in atomic absorption flame spectrophotometry. Anal. Chim. Acta. 51:141.

Kahn, H. L. 1968. A background compensation system for atomic absorption. Atomic Absorption Newsletter 7:40.

Koirtyohann, S. R. and E. E. Pickett. 1966a. Spectral interferences in atomic absorption spectrophotometry. Anal. Chem. 38:585.

Koirtyohann, S. R. and E. E. Pickett. 1966b. Light scattering by particles in atomic absorption spectrometry. Anal. Chem. 38:1087.

Lang, C. E. 1974. Phosphorus and trace mineral status of beef cattle in the Guanacaste region of Costa Rica. M. S. Thesis. University of Florida, Gainesville.

Legget, G. E. and D. T. Westerman. 1973. Determination of mineral elements in plant tissues using trichloracetic acid extraction. J. Agr. Food Chem. 21:65.

Manning, D. C. 1972. Using the Perkin-Elmer deuterium background correction system. Atomic Absorption Newsletter 11:112.

Slavin, W. 1968. Atomic Absorption Spectroscopy. John Wiley and Sons, N. Y., N. Y.

Standish, J. F. and C. B. Ammerman. 1971. Effect of excess dietary iron as ferrous sulfate and ferric citrate on tissue mineral composition of sheep. J. Anim. Sci. 33:481.

Standish, J. F., C. B. Ammerman, A. Z. Palmer and C. F. Simpson. 1971. Influence of dietary iron and phosphorus on performance, tissue mineral composition and mineral absorption in steers. J. Anim. Sci. 33:171.

Watson, L. T., C. B. Ammerman, J. P. Feaster and C. E. Roessler. 1973. Influence of manganese intake on metabolism of manganese and other minerals in sheep. J. Anim. Sci. 36:131.

West, A. C., F. A. Fassel, and R. N. Kniseley. 1973. Calcium phosphate solute volatilization interference in flame spectrophotometry. Anal. Chem. 45:2420.