

I. Disposiciones generales

PRESIDENCIA DEL GOBIERNO

23561 *CORRECCION de erratas del Real Decreto 2031/1981, de 4 de septiembre, por el que se aprueba la regulación de la campaña olivarera 1981-82.*

Padecido error en la inserción del citado Real Decreto, publicado en el «Boletín Oficial del Estado» número 219, de fecha 12 de septiembre de 1981, se transcribe a continuación la oportuna rectificación.

En la página 21135, punto cinco, en relación a los precios de venta de aceite de oliva virgen en noviembre de 1981, donde dice:

	Precio, ptas/kg.
Corriente de más de 2.º y hasta 3.º de acidez ...	142,—
Corriente de hasta 2.º de acidez	140,—
debe decir:	
Corriente de hasta 2.º de acidez	142,—
Corriente de más de 2.º y hasta 3.º de acidez ...	140,—

23562 *ORDEN de 17 de septiembre de 1981 por la que se establecen métodos oficiales de análisis de aceites y grasas, aguas, carnes y productos cárnicos, fertilizantes, productos fitosanitarios, leche y productos lácteos, piensos y sus primeras materias, productos orgánicos fertilizantes, plantas, suelos, productos derivados de la uva y similares y toma de muestras.*

Excelentísimos señores:

De conformidad con lo establecido en las Ordenes ministeriales de 30 de noviembre de 1976 («Boletín Oficial del Estado» de 4 de enero de 1977), 31 de enero de 1977 («Boletín Oficial del Estado» de 14 a 27 de julio) y 31 de julio de 1979 («Boletín Oficial del Estado» de 20 y 30 de agosto), por las que se declaraban como oficiales diversos métodos de análisis, se ha continuado ensayando y poniendo a punto nuevos métodos, no sólo de las materias comprendidas en las citadas Ordenes, sino de otras nuevas donde existe necesidad urgente de disponer de métodos de análisis para el control de determinados parámetros analíticos.

En su virtud, y a propuesta de los Ministros de Agricultura y Pesca, de Hacienda, de Administración Territorial, de Defensa, de Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, de Industria y Energía, de Economía y Comercio, de Educación y Ciencia, de Obras Públicas y Urbanismo, esta Presidencia del Gobierno dispone:

Primero.—Se aprueban como oficiales los métodos de análisis de aceites y grasas, aguas, carnes y productos cárnicos, fertilizantes, productos fitosanitarios, leche y productos lácteos, piensos y sus primeras materias, productos orgánicos fertilizantes, plantas, suelos, productos derivados de la uva y similares y toma de muestras que se citan respectivamente en los anejos I al XII.

Segundo.—Cuando no existan métodos oficiales para determinados análisis, y hasta que sean estudiados por el grupo de trabajo correspondiente, podrán ser utilizados los adoptados por Organismos nacionales o internacionales de reconocida solvencia.

Tercero.—Quedan derogadas las disposiciones de igual o inferior rango que se opongan a la presente Orden.

Cuarto.—La presente disposición entrará en vigor a los treinta días de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Lo que se comunica a VV. EE. para su conocimiento y efectos. Dios guarde a VV. EE.

Madrid, 17 de septiembre de 1981.

RODRIGUEZ INCIARTE

Excmos. Sres. Ministros de Agricultura y Pesca, Hacienda, Administración Territorial, Industria y Energía, Obras Públicas y Urbanismo, Defensa, Trabajo, Sanidad y Seguridad Social, Economía y Comercio y de Educación y Ciencia.

INDICE DE ANEJOS

Anejo I. Aceites y grasas

35. Prueba de Vizern.
43. Reconocimiento de ésteres no glicéridos en grasas comestibles por cromatografía en capa fina.
49. Ácidos docoséncicos.

Anejo II. Aguas

14. Flúor.
- 15 (a). Boro (curcumina).
16. Mercurio.

Anejo III. Carne y productos cárnicos

18. Tiuracilos.

Anejo IV. Fertilizantes

- 6 (a). Nitrógeno total (método de Kjeldahl, modificado para muestras que no contengan nitratos).
- 6 (c). Nitrógeno total.
- 7 (a). Nitrógeno amoniacal (método del óxido de magnesio).
- 7 (b). Nitrógeno amoniacal (método del formaldehído).
8. Nitrógeno amoniacal y nítrico conjuntamente (método de Devarda).

Anejo V. Fitosanitarios

- 4 (a). Dimetoato (por ultravioleta).
- 4 (b). Dimetoato (por infrarrojo).
14. Cobré total (por iodometría).

Anejo VI. Leche

19. Sustancias proteicas reductoras.

Anejo VII. Piensos

13. Nitrógeno amoniacal.
14. Carbonatos.
15. Aflatoxina B₁.

Anejo VIII. Productos orgánicos fertilizantes

1. Preparación de la muestra.
2. Humedad (pérdida de peso a 105° C).
- 3 (b). Materia orgánica total (por oxidación).
5. Cenizas.
13. Fósforo total.
16. Potasio soluble en agua (por fotometría de llama).

Anejo IX. Plantas

1. Preparación de la muestra.
2. Nitrógeno.

Anejo X. Suelos

9. Capacidad de cambio catiónico.
11. Acidez valorable de los suelos.
14. Sodio por fotometría de llama.

Anejo XII. Vinos

- 3 (a). Color.
51. Presión del anhídrido carbónico.
52. Antisépticos y antifermentos (método microbiológico).

Vinagre

17. Ácido acético de síntesis.

Alcoholes

2. Bases nitrogenadas.
3. Grado alcohólico (método areométrico).

Anejo XII. Toma de muestras

Toma de muestras de suelos.

Anejo A. Toma de muestras de fertilidad

Anejo B. Toma de muestras para prospecciones edafológicas
Anejo C. Toma de muestras de suelos afectados por salinidad

ANEXO I.—ACEITES Y GRASAS

36.—PRUEBA DE VIZERN

36.1.—Principio

Insolubilización de alcoholes grasos superiores a partir del insaponificable de aceites procedentes de aceituna que por su cuantía y en determinadas condiciones pueden precipitar.

36.2.—Material y aparatos

36.2.1.—Matraz de fondo plano, de 250 ml adaptable a refrigerante de reflujo.

36.2.2. Refrigerante de reflujo.

36.2.3. Embudos de separación de 500 ml.

36.2.4. Baño de arena.

36.2.5. Matraz erlenmeyer de 100 ml, con boca esmerilada, provista de refrigerante de reflujo de aire, constituido por un tubo de 80 a 100 centímetros de longitud aproximadamente.

36.2.6. Tubo de ensayo con grueso de pared de 1,5 mm y dimensiones aproximadas de 160 mm de altura y 30 mm de diámetro interior, provisto de tapón de caucho de silicona, llevando en el centro un termómetro graduado en grados comprendiendo la escala la gama de 20°C - 85°C, manteniéndose homogénea la temperatura en todo el recinto interior utilizable.

36.2.7. Estufa de cultivos, de capacidad adecuada, regulable a una temperatura de 23°C ± 0,5°C.

36.2.8. Evaporador rotatorio con vacío.

36.2.9. Baño de agua regulable de 26°C ± 0,5°C.

36.2.10.—Pipeta de 10 ml.

36.2.11.—Vasos de 150 ml de forma alta.

36.3.—Reactivos

36.3.1.—Solución de hidróxido potásico 2N, en etanol de 96° G.L., exento de aldehídos.

36.3.2.—Etanol de 50° G.L.

36.3.3.—Agua destilada.

36.3.4. Sulfato sódico anhídrido.

36.3.5.—Disolución indicadora de fenoltaleína. Disolver 1 gramo de fenoltaleína en 100 ml de etanol de 96° G.L.

36.3.6.—Etanol de 96° G.L., exento de aldehídos.

36.3.7.—Hexano.

36.3.8.—Etanol de 85° G.L. Diluir 885 ml de etanol de 96° G.L. hasta 1.000 ml con agua destilada. Ajustar exactamente. $D_{4}^{15} = 0,8520$.

36.4.—Procedimiento

Pesar con precisión de 0,01 g, 5 g de aceite en un matraz de 250 ml y añadir 50 ml de la disolución alcohólica de hidróxido potásico 2 N, colocar el refrigerante y hervir durante una hora. Transcurrido dicho tiempo, retirar el matraz del baño y esperar unos minutos hasta que baje su temperatura, retirar el refrigerante y verter el contenido del matraz en el embudo de separación de 500 ml, enjuagar el matraz con 50 ml de agua destilada en pequeñas porciones y a continuación proceder análogamente con 50 ml de hexano, recogiendo todo en el embudo de separación. Agitar enérgicamente durante un minuto. Dejar reposar y una vez que las fases estén completamente separadas, transvasar la solución hidroalcohólica al matraz de saponificación y la disolución de hexano a un segundo embudo de separación. Extraer de nuevo la disolución hidroalcohólica con otros 50 ml de hexano, reuniendo al extracto hexánico con el anterior. Realizar una tercera extracción con otros 50 ml de hexano y reunir con los extractos anteriores.

En el caso de que se formen emulsiones; añadir unas gotas de etanol absoluto para eliminarlas.

Lavar los extractos tres veces seguidas con porciones de 50 ml de etanol de 50° agitando durante treinta segundos, hasta que en el último lavado no se aprecie coloración rosa al adicionarle dos o tres gotas de disolución indicadora de fenoltaleína. En caso contrario, continuar con los lavados.

Pasar la disolución en hexano del insaponificable a un matraz de 250 ml con tapón esmerilado, enjuagándose dos veces el embudo de extracción con 5 ml de hexano cada vez. Agregar al matraz unos gramos de sulfato sódico seco, agitando y dejando en reposo unas dos horas con el tapón ajustado.

A continuación, y en porciones sucesivas, filtrar la solución hexánica a través de papel de filtro seco, recogiendo la solución filtrada en un matraz de 100 ml, evaporar el disolvente en un evaporador rotatorio con vacío, pudiéndose calentar a una temperatura que no exceda de 40°C.

Terminada la evaporación de la totalidad del disolvente, se agregan al matraz 10 ml de etanol de 85° medidos con pipeta, colocar el refrigerante e introducir en un baño de agua regulado a una temperatura de 80°C ± 5°C, en el que se mantiene, agitando de vez en cuando, hasta conseguir la fusión del producto o su disolución total, para lo que son suficientes, normalmente, unos 2 ó 3 minutos de permanencia en el baño, no debiéndose prolongar innecesariamente la calefacción.

Dejar enfriar el matraz sin quitar el refrigerante, hasta alcanzar una temperatura de unos 30°C y transvasar la disolución alcohólica del insaponificable al tubo de ensayo, enjuagándose el matraz con otros 10 ml de alcohol de 85° medidos, también, con pipeta, incorporándolos al contenido del tubo.

Colocar el tapón con el termómetro en el tubo, homogeneizar la mezcla e introducir el tubo en un vaso forma alta de 150 ml, y el vaso con el tubo se lleva a un baño de agua

regulado a 26°C ± 0,50C manteniéndose así el tiempo necesario para que el termómetro registre la misma temperatura del baño. Una vez alcanzada dicha temperatura, sacar el tubo, colocarlo en un soporte o introducirlo en una estufa que previamente está regulada a 23°C ± 0,5°C manteniéndolo en reposo en la estufa dos horas contadas a partir del momento en que alcance los 23°C.

La formación de un precipitado en forma de copos, se considere como positiva. Un precipitado más dividido o pulverulento, no resuelto en copos, no puede interpretarse como positivo.

36.5.—Referencias

1.—Una Norma Española, 55004.

2.—Una Norma Española, 55049, 1.ª Revisión 1977.

43.—RECONOCIMIENTO DE ESTERES NO GLICERIDOS EN GRASAS COMESTIBLES POR CROMATOGRAFIA EN CAPA FINA

43.1.—Principio

Disolución de la muestra en hexano y posterior separación de los triglicéridos por cromatografía en capa fina.

Es aplicable a todos los aceites vírgenes o refinados, utilizables directamente en la alimentación humana.

El método ha sido estudiado con ésteres de ácidos grasos y los alcoholes siguientes: metanol, 1,2 y 1,3 propilenglicol y etilenglicol.

Los límites detectados, según ensayo colaborativo en el que han intervenido cinco laboratorios, oscila entre 0,7 por 100 (p/p) y 1 por 100 (p/p).

43.2.—Material y aparatos

43.2.1.—Equipo de cromatografía en capa fina, compuesto de placas de gel de sílice G y un espesor de capa de 0,25 mm o de 0,40 mm en caso de ser necesaria una mayor resolución.

43.2.2.—Placa calefactora adecuada para quemar placas que permita alcanzar temperaturas de 360°C.

43.2.3.—Microjeringa de 10 μ l.

43.3.—Reactivos

43.3.1.—Hexano para cromatografía ($d_{20}^{20} = 0,694$).

43.3.2.—Eter etílico ($d_{20}^{20} = 0,715$).

43.3.3. Líquido de desarrollo.

Mezclar 92 volúmenes de hexano y 8 volúmenes de éter etílico.

43.3.4.—Ácido sulfúrico al 50 por 100.

43.4.—Procedimiento

Depositar con una jeringa 2 a 3 μ l de la disolución de la muestra en hexano al 10 por 100, aproximadamente sobre la placa de cromatografía a una distancia aproximada de 1 cm de borde inferior de la capa de sílice.

Introducir en la cubeta contenida el líquido de desarrollo hexano éter etílico, esperando hasta que el frente del disolvente se sitúa a unos 3 cm. aproximadamente del borde superior de la placa. Sacar la placa de la cubeta y dejar secar el aire, lo cual se consigue en unos minutos. Con el fin de facilitar el reconocimiento de los ésteres más difícilmente separables, es recomendable y necesario en algunos casos efectuar dos o tres desarrollos. Para ello, terminado el primer desarrollo y una vez seca la placa, volver a introducir en la cubeta, manteniéndola hasta que el frente de disolvente se haya situado a la misma altura anterior. Repetir el proceso una vez más si es necesario. En los casos de duda sobre el resultado positivo de la prueba, deberá repetirse la cromatografía, sometiéndola a dos o tres desarrollos.

Pulverizar la placa seca con una disolución de ácido sulfúrico al 50 por 100 y quemar sobre la placa calefactora a unos 300°C.

43.5.—Interpretación de resultados

A un tercio aproximadamente, del borde inferior de la placa aparece una mancha intensa correspondiente a los triglicéridos. En aceites puros no aparece por encima ninguna otra mancha próxima a la de los triglicéridos, a excepción de algunos componentes del insaponificable que marchan con el frente del disolvente. Una mancha, más o menos intensa, situada por encima, próxima a la de los triglicéridos, acusa la presencia de ésteres extraños al glicerol. La distancia relativa entre estas dos manchas depende, lógicamente, del alcohol de que se trate, los ésteres de monoalcoholes, tales como el metílico o etílico, se sitúan más distanciados de como lo hacen los ésteres de dialcoholes, tales como el etilenglicol o propilenglicol.

Una mancha de muy débil intensidad, en la posición correspondiente a los ésteres metílicos, no debe ser tomada en consideración.

43.6.—Referencias

1.—Instituto de Racionalización del Trabajo. Una Norma Española 55.085.

49. — ÁCIDOS DOCOSENOICOS

49.1. — Principio

Determinación cuantitativa, por cromatografía gaseosa, de los ácidos docosenoicos contenidos en aceites y grasas utilizadas en la alimentación humana. Cuando se trata de aceite de colza estos ácidos están constituidos exclusivamente por el ácido erúcido (cis 13,14 docosenoico).

El método se funda en obtener los ésteres metílicos de los ácidos grasos contenidos en la muestra problema por metanolisis con metóxido sódico, completada con una metanolisis ácida si fuera necesario, adicionando previamente a la muestra una cantidad determinada de tetracosato de metilo (lignocerato de metilo) o el ácido libre, que se utiliza como patrón interno.

49.2. — Material y aparatos

49.2.1. — Como en el método oficial n.º 41, apartados 2.1, y 3.1.

49.3. Reactivos

49.3.1. — Como en el método oficial n.º 41, apartados 2.2.1.; 2.2.2.; 2.2.3. y 2.2.5.

49.3.2. — Heptano normal, de pureza adecuada para cromatografía gaseosa.

49.3.3. — Disolución acuosa saturada de cloruro sódico.

49.3.4. — Erucato de metilo (docosenoato de metilo), patrón para cromatografía gaseosa, con una riqueza mínima del 99,5%.

49.3.5. — Lignocerato de metilo (tetracosenoato de metilo), patrón para cromatografía, con una riqueza mínima del 99% (Ver 49.6.1.).

49.3.6. — Solución patrón de erucato de metilo, en heptano, conteniendo 2 mg/ml.

49.3.7. — Solución patrón de lignocerato de metilo, en heptano, conteniendo 2 mg/ml.

49.4. — Procedimiento

49.4.1. — Preparación de la muestra.

La muestra utilizada deberá estar seca y libre de sedimentos constituidos por materias extrañas. Si no fuese así, se filtrará previamente por un papel filtro, agregando, si fuese necesario, una pequeña cantidad de sulfato sódico anhidro, para retener la humedad. Si los sedimentos estuviesen constituidos por materia grasa sólida, se fundirá, calentando suavemente la muestra, agitando lo necesario para conseguir su homogeneización.

49.4.2. — Determinación del factor de respuesta para el erucato de metilo en relación al lignocerato de metilo.

Tomar, exactamente medido, 1 ml de solución patrón de erucato de metilo (49.3.4.), depositar en un matraz cónico de 25 ml, agregando 3 ml de la solución patrón de lignocerato de metilo (49.3.5.). Agregar 4 ml de heptano y agitar suavemente para homogeneizar la mezcla.

Preparar otras dos soluciones tomando, respectivamente 2 y 3 ml de la solución de erucato, y añadiendo en cada caso 3 ml de la solución de lignocerato, completando con heptano hasta un volumen total de 8 ml.

El factor de respuesta se obtiene aplicando la siguiente fórmula:

$$R_p = \frac{A_g \times P_e}{A_e \times P_g}$$

siendo:

R_p = Factor de respuesta.

A_g = Respuesta del ácido lignocérico.

A_e = Respuesta del ácido erúcido, expresada en las mismas unidades del ácido lignocérico.

P_e = Peso, en mg, del erucato.

P_g = Peso, en mg, del lignocerato.

49.4.3. — Preparación de los ésteres metílicos.

En un matraz de metilación seco, pesar, con precisión de 0,1 mg, 50 mg de la muestra convenientemente preparada, agregando 3 ml de la solución patrón de lignocerato de metilo (Ver 49.6.1.) y 10 ml de la solución de metilato sódico. Agregar 2 ó 3 trocitos de plato poroso, colocar el refrigerante, calentar hasta ebullición suave, que se mantiene durante una hora. Al cabo de este tiempo y sin interrumpir la ebullición, agregar, por la boca superior del refrigerante, 10 ml de la solución metanólica de clorhídrico, continuando la ebullición durante 15 minutos (Ver 49.6.2.).

Al cabo de este tiempo, dejar enfriar el matraz y, una vez frío quitar el refrigerante, adicionando 5 ml de heptano; taponar el matraz, agitando fuertemente durante un minuto. Adicionar solución acuosa saturada de cloruro sódico hasta situar la capa de heptano en el cuello del matraz.

49.4.4. — Cromatografía gaseosa de los ésteres.

Injectar 2 μ l de la solución de heptano (Ver 49.6.3.).

Las condiciones operativas más adecuadas deben ser establecidas por el operador a la vista de los resultados obtenidos con las mezclas patrones de ésteres metílicos. Como orientación, y si se utiliza el relleno recomendado en el método oficial n.º 41, apartado 3., se pueden indicar las siguientes: Temperatura del inyector: 250°C; temperatura de la columna: 190°C; temperatura del detector: 250°C. El flujo de nitrógeno deberá ser regulado para obtener un tiempo de retención para el lignocerato de unos 17 minutos, obteniéndose normalmente esta retención con 30-40 ml/min.

Determinar la respuesta del detector para el pico de los ésteres de los ácidos docosenoicos y lignocérico y el lignocerato por cualquiera de los procedimientos que se utilizan con este fin.

49.5. — Cálculos

$$\% \text{ de ácidos docosenoicos en el aceite} = \frac{A_p \times P_p \times R_e \times 100}{A_e \times P_m}$$

siendo:

A_p = Respuesta de los ácidos docosenoicos.

A_e = Respuesta del patrón (lignocerato) expresado en las mismas unidades que los ácidos docosenoicos.

P_p = Peso, en mg, del patrón.

P_m = Peso, en mg, de la muestra de aceite.

R_e = Factor de respuesta del erucato de metilo en relación al lignocerato de metilo, determinado como se indica en 49.4.2.

49.6. — Notas

49.6.1. — En lugar del erucato y lignocerato de metilo se pueden utilizar como patrones los ácidos libres, siempre que tengan un mínimo de pureza del 99%.

En este caso, para determinar el factor de respuesta erucato/lignocerato, se deberán tomar los volúmenes de soluciones patrones que se indican en el apartado 49.4.2. teciéndolos en un matraz de metilación se elimina el disolvente con una corriente de nitrógeno puro y seco y se metila omitiendo la adición de metilato sódico adicionando 10 ml de solución clorhídrica de metanol e hirviendo a reflujo durante una hora. Se sigue como se indica en el apartado 49.4.3.

49.6.2. — Si la muestra analizada está constituida por una grasa neutra como es el caso normal al tratarse de aceites de semillas refinados, y el patrón utilizado es el lignocerato de metilo, bastará efectuar solamente la metilación alcalina, sin que sea necesario la utilización de la solución clorhídrica en metanol.

Según esto, transcurrido el período de ebullición de una hora, después de agregar la solución de metilato, se deja enfriar, se agregan 10 ml de solución acuosa de clorhídrico IN y 5 ml de heptano, continuando como se indica en el último párrafo del apartado 49.4.3.

Si fuese necesaria la metilación de ácidos libres provenientes bien de la muestra o del patrón por utilizar ácido lignocérico, se procederá como en 49.4.3.

49.6.3. Ajustándose estrictamente a las condiciones operativas indicadas en todo el curso de la metódica, la cantidad inyectada de erucato y lignocerato no debe sobrepasar, en cada caso, de 10 μ g. En cualquier caso, para obtener una respuesta cuantitativa correcta, este líquido no debe sobrepasarse, sirviendo los resultados obtenidos en la determinación del factor de respuesta, tal como se describe en el apartado 49.4.2., para apreciar los límites de linealidad en la respuesta del detector.

ANEXO II.—AGUAS

14.—FLUOR

14.1. — Principio

Determinación directa del fluor por potenciometría, utilizando un electrodo iónico selectivo.

14.2. — Material y aparatos

14.2.1. — Potenciómetro con escala expandida que permita apreciar 0,1 mV.

14.2.2. — Electrodo selectivo de fluoruro.

14.2.3. — Electrodo de referencia (preferentemente uno de doble unión cuyo departamento interno contenga solución saturada de ClK y el externo una solución IN respecto a NO₃K y ClNa).

14.2.4. — Recipientes de plástico de 50, 100 y 1.000 cm³ de capacidad.

14.2.5. — Pipetas de precisión.

14.2.6. — Agitador magnético.

14.3. — Reactivos

14.3.1. — Solución patrón de fluoruro conteniendo 1 g de F⁻ por litro. Pesar 2,210 g de FNa (desecado a 110°C durante cuatro horas) disolver y enrasar a 1 litro con agua desionizada.

14.3.2. — Solución amortiguadora (TISAB). Disolver en un litro de agua desionizada 50,5 g de ClNa; 15 cm³ de ácido acético glacial; 102,06 g de acetato sódico trihidratado (61,63 g si es anhidro); y 0,3 g de citrato sódico dihidratado (0,4 g si se tiene 11 moles de agua), comprobando que su pH queda comprendido entre 5,00 y 5,50. Ajustar si es necesario.

Esta solución puede sustituirse por otra constituida por 57 cm³ de ácido acético glacial; 50,5 g de ClNa; 4 g de CDTA (ácido hexileno 1,2-dinitrilo-tetracetato sódico) y NaOH en cantidad suficiente (unos 125 cm³) para obtener un pH 5,00-5,50, completando con agua desionizada hasta 1 litro.

14.3.3. — Solución exterior para el electrodo de referencia. Disolver 10,1 g de NO₃K y 5,85 g de ClNa en agua hasta 100 cm³.

14.4. — Procedimiento

14.4.1. — Obtención de la curva patrón. Puesto el potenciómetro en régimen de trabajo, introducir los electrodos selectivo y de referencia en una mezcla compuesta por 20 cm³ de

solución patrón de 1 mg de F^- por litro y 20 cm^3 de una de las soluciones TISAB. Agitar, esperar a que se establezca la lectura y anotarla.

Extraer los electrodos, lavarlos con agua desionizada, secarlos con papel de filtro y volver a introducirlos en una mezcla de 20 cm^3 de solución patrón de 10 mg de F^- por litro y 20 cm^3 de solución TISAB. Agitar, esperar la estabilización de la lectura y anotarla.

Si el electrodo funciona en condiciones óptimas, la diferencia entre ambas lecturas debe oscilar entre 56 y 59 mV dependiendo de la temperatura a que se efectuaron las medidas.

14.4.2.—Determinación. Operar con la muestra como se ha indicado anteriormente.

24.5.—Cálculos

Calcular el contenido en fluor expresado en mg/litro mediante comparación con la curva patrón, teniendo en cuenta que ésta puede ser extrapolada hasta 0,2 mg de F^- por litro, utilizando papel semilogarítmico.

14.6.—Observaciones

14.6.1.—Diferencias de lectura entre dos patrones (1 y 10 mg de F^- por litro) inferiores a 40-45 mV indican normalmente que el electrodo selectivo ha perdido sensibilidad y debe cambiarse. El período de vigencia del electrodo de fluor viene a ser de 12 a 18 meses con un uso diario normal.

14.6.2.—Habida cuenta que la temperatura de la solución afecta a las lecturas, tanto las medidas de las soluciones patrón como las de las muestras deben realizarse a la misma temperatura.

14.6.3.—Las interferencias producidas por los iones Si^{4-} ; Al^{3+} ; Fe^{3+} y H^+ (este último por debajo de pH5), al formar complejos con el ión F^- y el ión OH^- a pH superiores a 8, quedan eliminadas con el empleo de solución TISAB.

14.6.4.—Las muestras y soluciones a utilizar deben conservarse en recipientes de plástico.

14.6.5.—Para concentraciones inferiores a 0,2 mg/l F^- debe utilizarse el método de adición conocida.

15(a).—BORO (Curcumina)

15(a).1.—Principio

Acidificación y evaporación de la muestra en presencia de curcumina, formación de un compuesto de color rojo y posterior medida espectrofotométrica del color desarrollado previa disolución en etanol.

El método es aplicable en presencia del ión NO_3^- en concentraciones inferiores a 100 mg/l.

15(a).2.—Material y aparatos

15(a).2.1.—Espectrofotómetro capaz de efectuar lecturas a 546 nm, equipado con cubetas de 1 cm de paso de luz.

15(a).2.2.—Equipo normal de vidrio (exento de boro) cuarzo o platino.

15(a).2.3.—Baño de agua regulable a $55^\circ \pm 3^\circ C$.

15(a).3.—Reactivos

15(a).3.1.—Etanol al 95% (V/V).

15(a).3.2.—Acido clorhídrico concentrado.

15(a).3.3.—Solución de Boro: Disolver 571,6 mg de ácido bórico en agua desmineralizada y completar hasta un litro (1 ml \ll 100 microgramos de boro).

15(a).3.4.—Solución patrón de Boro: Diluir 10 ml de solución de boro (15(a).3.3.) hasta un litro con agua desmineralizada (1 ml \ll 1 microgramo de boro).

15(a).3.5.—Reactivo de curcumina: Disolver 40 mg de curcumina ($2 - CH_2O C_8 H_3 - 1 - OH - 4 CH = CHCO_2 CH_2$) y 5 g de ácido oxálico en 80 ml de etanol al 95% (15(a).3.1.). Añadir 4 ml de ácido clorhídrico concentrado y llevar a 100 ml de etanol de 95%, utilizando matraz aforado. (Esta solución es estable alrededor de 15 días si se guarda en frasco color topacio y se mantiene en refrigerador.)

15(a).4.—Procedimiento

15(a).4.1.—Obtención de la curva de calibrado. Introducir en cápsulas de evaporación del mismo tipo y tamaño 0, 0,25, 0,50, 0,75 y 1,0 ml de solución patrón de boro (15(a).3.4.). Añadir agua desmineralizada a cada cápsula para obtener un volumen total de 1 ml. Agregar 4,0 ml de reactivo de curcumina (15(a).3.5.) a todas ellas y mezclar cuidadosamente. Evaporar en baño de agua a $55^\circ \pm 3^\circ C$, manteniendo los residuos a esta tempe-

ratura durante 30 minutos en estufa. Dejar enfriar hasta temperatura ambiente. Añadir etanol al 95% (15(a).3.1.) y disolver triturando, llevar a matraz aforado completando a 25 ml. Filtrar las soluciones (si es preciso) por filtro de papel lento. (Whatman 30 o equivalente). Llevar una parte de los filtrados a la cubeta del instrumento de medida y leer a 546 nm dentro de la primera hora subsiguiente al secado.

Con los datos obtenidos construir la curva patrón.

15(a).4.2.—Determinación: Tomar 1 ml. de la muestra y operar exactamente igual que en 15(a).4.1. Si al efectuar el análisis apareciese una concentración excesiva de Boro, debe repetirse el ensayo diluyendo la muestra con agua desmineralizada, hasta un volumen conocido y tomando 1 ml del mismo para la valoración.

15(a).5.—Cálculos

Calcular el contenido en boro expresado en mg/litro mediante comparación con la curva de calibrado, teniendo en cuenta, si es necesario, la dilución de la muestra.

15(a).6.—Observaciones

15(a).6.1.—El método sigue la Ley de Lambert-Beer hasta 2 mg de boro por litro. La cantidad mínima detectable de Boro es de 0,2 mg/litro.

15(a).7.—Bibliografía

- 1.—Bunton N.6 y Tait B.H. — 1963—J. Amer. Water Works Ass. 61:357.
- 2.—Standard Methods (APHA — AWWA — WPCF) — 1975:287.

16.—MERCURIO

16.1.—Principio

Conversión de los compuestos organomercuriales en sales inorgánicas de mercurio, reducción de los iones mercurícos a mercurio metálico por la acción del Sn^{+2} , volatilización del mercurio metálico y arrastre del mismo hasta la célula de absorción mediante una corriente de gas y determinación de la absorbancia a 253,7 nm.

16.2.—Material y aparatos

16.2.1.—Espectrofotómetro de absorción atómica.

16.2.2.—Lámpara de mercurio de cátodo hueco.

16.2.3.—Cámara de absorción con ventanas de cuarzo, acoplable al espectrofotómetro.

16.2.4.—Equipo de reducción del ión mercuríco a mercurio metálico y de arrastre de éste con corriente de gas hasta la cámara de absorción, incluyendo un sistema de desecación.

16.2.5.—Equipo de suministro de gas con flujo regulable.

16.2.6.—Tubo flexible de tigon de 1/2 cm de diámetro interior para las conexiones necesarias.

16.2.7.—Registrador de las intensidades de absorción, de voltaje y velocidad variables.

16.3.—Reactivos

16.3.1.—Acido sulfúrico concentrado.

16.3.2.—Acido nítrico concentrado.

16.3.3.—Permanganato potásico al 5% P/V en agua desionizada.

16.3.4.—Persulfato potásico al 5% P/V en agua desionizada.

16.3.5.—Hidroxilamina—Cloruro sódico al 12% P/V en agua desionizada. Disolver 12 g de cloruro de hidroxilamina y 12 g de cloruro de sodio en agua desionizada y completar el volumen a 100 ml.

16.3.6.—Cloruro estannoso al 20% P/V en ácido clorhídrico al 20% V/V. Disolver 20 g de cloruro estannoso en 40 ml de ácido clorhídrico al 50% y completar el volumen a 100 ml con agua desionizada.

16.3.7.—Solución patrón de mercurio de 1.000 mg/l. Disolver 0,1354 g de cloruro mercuríco en 75 ml de agua desionizada, añadir 10 ml de ácido nítrico concentrado y ajustar el volumen a 100 ml. Esta solución mantenida en refrigerador puede conservarse un año.

16.3.8.—Solución patrón de mercurio de 0,1 mg/l. Se obtiene de la anterior por sucesi-

vas diluciones con agua desionizada, llevando la concentración final de ácido nítrico al 0,15% V/V. Debe prepararse, al igual que las soluciones intermedias, diariamente.

16.4.—Procedimiento

16.4.1.—Obtención de la curva de calibrado. Transferir alícuotas de 0; 0,5; 1,0; 2,0; 5,0 y 10 ml de la solución patrón de 0,1 ppm (16.3.8.) que contienen de 0 a 1 µg de mercurio a matraces erlenmeyer de 250 ml. Añadir agua destilada a cada matraz hasta un volumen total de 100 ml. Mezclar enérgicamente y añadir 5 ml de ácido sulfúrico concentrado (16.3.1.) y 2,5 ml de ácido nítrico concentrado (16.3.2.) a cada matraz. Añadir 15 ml de la solución de permanganato potásico (16.3.3.) a cada matraz y dejar en reposo, al menos 15 minutos. Añadir 8 ml de persulfato potásico (16.3.4.) a cada matraz y calentar en un baño de agua durante dos horas manteniendo la temperatura a 95°C. Enfríar y añadir 6 ml de cloruro sódico-cloruro de hidroxilamina (16.3.5.) para reducir el exceso de permanganato. Cuando la solución se ha decolorado transferir al matraz del equipo de reducción (16.2.4.) una alícuota o la totalidad de la misma, de acuerdo con el equipo de que se disponga, agregar 0,5 ml de cloruro estannoso (16.3.6.) por cada 10 ml de la solución decolorada transferida (5 ml si se transfiere la totalidad) y seguidamente, sin agitación conectar el matraz al sistema de aireación previamente ajustado al flujo deseado (1 litro/minuto en los equipos corrientes). Al iniciarse la aireación se producirá una absorbancia creciente que alcanzará un máximo dentro de los 30 segundos para iniciar un descenso progresivo hasta alcanzar nuevamente el valor cero, momento en el cual puede iniciarse la reducción y aireación del siguiente patrón.

Representando en abscisas las concentraciones de los distintos patrones y en ordenadas las alturas de los correspondientes máximos de absorción, se obtiene la curva de calibrado.

16.4.2.—Determinación. Transferir 100 ml del agua problema o una alícuota diluida a 100 ml que no contenga más de 1,0 µg de mercurio a un matraz erlenmeyer de 250 ml y continuar como en 16.4.1.

16.5.—Cálculos

Calcular el contenido de mercurio expresado en mg/litro mediante comparación con la curva de calibrado, teniendo en cuenta, si es necesario, la dilución de la muestra.

16.6.—Observaciones

16.6.1.—Para muestras de aguas residuales puede ser necesario más permanganato. Agitar y añadir porciones adicionales de permanganato, si fuese necesario, hasta que persista al menos durante 15 minutos el color púrpura.

16.7.—Bibliografía

- 1.—Standard Methods for the examination of Water and wastewater, 14 edition, 1975, págs. 156-159.
- 2.—Method for Chemical Analysis of Water and wastes. U.S. Environmental Protection Agency (E.P.A.).—525— 6/74-003) 1974 págs. 118-126. National Environmental Research Center Cincinnati, Ohio 45268— U.S.A.
- 3.—Global Environmental Monitoring System ETS 78.8 pág. 119.

ANEXO III.—CARNE Y PRODUCTOS CARNICOS

16.—TIURACILOS

16.1.—Principio

Extracción del antitiroideo con metanol, evaporación del disolvente, dilución con agua y purificación con éter. Evaporación del extracto acuoso a sequedad, posterior recogida de cloroformo-metanol, cromatografía en columna de óxido de aluminio y posterior desarrollo del color con dicloroquinona-clorimida en tampón adecuado.

Aplicable a muestras de tiroides.

16.2.—Material y aparatos

- 16.2.1.—Rotavapor con vacío.
- 16.2.2.—Centrífuga capaz de alcanzar 4.000 r.p.m.
- 16.2.3.—Espectrofotómetro o colorímetro capaz de efectuar lecturas a 435 nm.
- 16.2.4.—Trituradora.

16.3.—Reactivos

- 16.3.1.—Cloroformo.
- 16.3.2.—Metanol.
- 16.3.3.—Mezcla cloroformo-metanol (1-1).
- 16.3.4.—Mezcla de 75 por 100 de metanol-agua destilada (3-1).
- 16.3.5.—Solución tampón pH 7,6; Disolver 24,3 g de tris (hidroximetil) aminometano (tris) en 800 ml de agua destilada y ajustar a pH 7,6 con ácido clorhídrico 6N.
- 16.3.6.—Solución de dicloroquinona-clorimida. Disolver 20 mg de 2,6 dicloroquinoclorimida en 50 ml de isopropanol.
- 16.3.6.—Tiuracilo puro.
- 16.3.8.—Solución patrón de tiuracilo. Disolver 25 mg de tiuracilo en 250 ml de metanol. De esta solución se llevan 5 ml a un matraz aforado de 25 ml, enrasando con metanol.
- 16.3.9.—Óxido de aluminio neutro de grado de actividad 1 (secar durante 2 horas a 100°C al vacío, en presencia de P₂O₅, dejar enfriar y guardar el frasco de tapón esmerilado en desecador).
- 16.3.10.—Preparación de la columna cromatográfica. Introducir 6 g de óxido de aluminio en un erlenmeyer de 100 ml, de boca esmerilada. Agregar 0,6 ml de agua destilada y ca-

lentar en baño maría a 70°C durante 10 minutos agitando enérgicamente. Dejar enfriar manteniendo la agitación. Agregar, aproximadamente, 10 ml de la mezcla cloroformo-metanol al matraz y pasar a la columna cromatográfica (diámetro interior 16 mm y 30 cm de largo), cuya extremidad inferior está tapada con algodón. La actividad del óxido de aluminio debe ser controlada por un ensayo de recuperación con la solución patrón de tiuracilo. Tomar 10 ml de esta solución, cromatográfica y desarrollar el color. Medir la densidad óptica (D.O.) según el método que a continuación se describe. A la vez desarrollar color con 10 ml de la solución patrón de tiuracilo no cromatografiada. Las densidades ópticas en los dos casos deben ser idénticas.

16.4.—Procedimiento

16.4.1.—Determinación.

Pesar en el vaso de la trituradora 20 g de la muestra, preparada según el método n.º 1, o 5 g si se trata de tiroides. Agregar 100 ml de metanol y homogeneizar durante unos minutos. A continuación pasar el contenido del vaso a unos tubos de centrifuga y centrifugar durante 5 minutos a 2.000 r.p.m. Pasar el sobrenadante a un matraz de boca esmerilada, llevándolo al rotavapor a 60°C para reducir su volumen a un cuarto del inicial, con ayuda de vacío.

Trasladar el sobrenadante a una ampolla de decantación de 250 ml de capacidad, lavando el matraz con 25 ml de agua destilada e incorporándola también a la ampolla de decantación, agregar seguidamente 60 ml de éter etílico, agitar durante unos minutos, dejar decantar y recoger la parte acuosa en un matraz de boca esmerilada. Seguidamente se lava de nuevo el éter con 12 ml de agua destilada recogiendo también en el matraz. Llevar el matraz que contiene la fracción acuosa al rotavapor y evaporar a sequedad con ayuda de vacío y a una temperatura de 60°C.

El residuo así obtenido se recoge con 30 ml de la mezcla cloroformo-metanol y se trasvasa a la columna cromatográfica, dejando descender el líquido hasta 0,5 cm por encima de la capa de óxido de aluminio. Lavar la columna primero con 30 ml de la mezcla cloroformo-metanol y después con 30 ml de metanol. Dejar bajar el líquido, vigilando que la columna quede siempre sumergida. Lavar el matraz de evaporación con 35 ml de metanol al 75% para disolver eventualmente las últimas trazas del residuo y trasvasar el líquido a la columna. Descartar los 8 primeros ml de la mezcla y recoger el resto en un matraz de boca esmerilada. Lavar por última vez el matraz con 20 ml de metanol y pasarlo a la columna.

Evaporar a sequedad el contenido del matraz en rotavapor a 60°C, con ayuda de vacío, recoger el residuo de la evaporación en 20 ml de la solución tampón, pH 7,6, añadir 2 ml de la solución de dicloroquinona-clorimida, agitar 20 segundos y dejar reposar 20 minutos.

Trasvasar la solución a una ampolla de decantación de 250 ml, lavar el matraz con 4 ml de cloroformo pasándolo a la ampolla de decantación y agitar. Dejar reposar y recoger el extracto cloroformico en una probeta de 10 ml. Realizar un nuevo lavado con 5 ml de cloroformo, recogerlo en la probeta y enrasar a 10 ml.

Homogeneizar el extracto cloroformico y pasarlo a un tubo del colorímetro, el cual se lleva a la centrífuga a 4.000 r.p.m. hasta que el líquido queda completamente claro, leyendo la densidad óptica a 435 nm, con cloroformo como referencia.

16.4.2.—Obtención de la curva de calibrado.

Poner volúmenes de 1,2 y 4 ml de la solución patrón de tiuracilo en un erlenmeyer de 100 ml, evaporar a sequedad en rotavapor a 60°C y dejar enfriar. Recoger el residuo en 20 ml de la solución tampón pH 7,6; añadir 2 ml de la solución de dicloroquinona-clorimida y dejar reposar 20 minutos. Trasvasar el contenido a una ampolla de decantación y agitar. Dejar reposar y recoger el extracto cloroformico en probeta de 10 ml, hacer un segundo lavado con 5 ml de cloroformo, agitar, recoger en la probeta y enrasar a 10 ml. Homogeneizar, pasar al tubo del colorímetro, centrifugar y leer en el colorímetro a 435 nm.

Con los datos obtenidos construir la curva de calibrado.

16.5.—Cálculos

Calcular el contenido en tiuracilo expresado en ppm mediante comparación con la curva de calibrado, teniendo en cuenta, si es necesario, la dilución de la muestra.

16.6.—Referencias

- 1.—Dosage du Methylthiouracile (MTU) dans la viande. Van Waes H. Rev. Agric. 26; 435-439 (1973).
- 2.—Thiouracile and pollution alimentaires. Recherche et dosage du MTU dans la viande, les organes animaux et les excréments, Famerée, L., Van Waes H., Medecine/Biologie/Environnement, January-June 15, 20 (1975).

ANEXO IV.—FERTILIZANTES

6(a).—NITROGENO TOTAL

(Método de Kjeldahl modificado para muestras que no contengan nitratos)

6(a).1.—Principio

Transformar el nitrógeno orgánico en sulfato amónico, por ebullición con ácido sulfúrico concentrado y separar por destilación el conjunto de nitrógeno amoniacal así formado y el que eventualmente pudiera existir en la muestra, recogiendo en un exceso de ácido valorado. El exceso de ácido se determina por retorno con un álcali valorado en presencia de rojo de metilo.

Es aplicable a todos los abonos que no contengan nitrato.

6(a).2.—Material y aparatos

6(a).2.1.—Matraces Kjeldahl de 500 a 600 ml.

6(a).2.2.—Aparatos de destilación.

6(a).2.3.—Vásos de 300 ml.

6(a).2.4.—Buretas de 25 ml.

6(a).2.5.—Probetas de 25 y 200 ml.

6(a).3.—Reactivos

6(a).3.1.—Óxido de mercurio o mercurio metálico, exento de N.

6(a).3.2.—Sulfato potásico o sódico anhidro, exento de N.

6(a).3.3.—Ácido sulfúrico de 93 a 98 por 100, exento de N.

6(a).3.4.—Disolución de tiosulfato sódico o de sulfuro sódico: 80 g de $S_2O_3Na_2 \cdot 5H_2O$ en 1 litro de agua o 40 g de sulfuro sódico en 1 litro de agua.

6(a).3.5.—Hidróxido sódico o en disolución: 450 g de NaOH en agua, enfriar y enrasar a 1 litro. Debe tener de densidad 1,36 o más.

6(a).3.6.—Regulador de ebullición inerte.

6(a).3.7.—Rojo de metilo: Disolver 1 g en 2000 ml de alcohol.

6(a).3.8.—Disolución de ácido sulfúrico o clorhídrico N/2 o N/10 si la cantidad de N es pequeña.

6(a).3.9.—Disolución de sosa N/2 o N/10.

Métodos de Análisis de Fertilizantes

6(a).4.—Procedimiento

6(a).4.1.—Pesar de 0,7 a 2,2, g del abono y ponerlos en un matraz Kjeldahl. Añadir 0,7 g de óxido mercuríco o 0,65 g de mercurio metálico, 15 g de sulfato potásico o sódico anhidro y 25 ml de sulfúrico concentrado. Si fuera necesario pesar más de 2,2 g, añadir 10 ml de sulfúrico por cada gramo de muestra.

Colocar el matraz en posición inclinada y calentar suavemente hasta que cese la formación de espuma (para reducir ésta puede añadirse una pequeña cantidad de parafina). Hervir vivamente hasta que la solución se aclare y luego, por lo menos, otros treinta minutos más (dos horas para las muestras que contengan materia orgánica).

6(a).4.2.—Enfriar, añadir con precaución unos 200 ml de agua; volver a enfriar por debajo de 25°C, añadir 25 ml de disolución de tiosulfato y mezclar para precipitar el Hg. Añadir el regulador de ebullición inerte para evitar vaporación súbita. Inclinarse el matraz y añadir sin agitar la sosa (25 g sólidos o suficiente disolución para poner la reacción muy alcalina). La disolución de tiosulfato o sulfuro se puede mezclar con la disolución de sosa antes de añadirle al matraz.

6(a).4.3.—Inmediatamente conectar el matraz al bulbo teniendo sumergido el extremo de la alargadera en un vaso que contiene el ácido N/2 o N/10 exactamente medidos y cinco a siete gotas del indicador. Agitar el matraz para mezclar el contenido y calentar hasta que destile todo el amoníaco (al menos 150 ml de destilado).

6(a).4.4.—Valorar el exceso de ácido con sosa de la misma normalidad.

Hacer un ensayo en blanco.

6(a).5.—Cálculo

$$\%N = \frac{(B - A) \cdot 0,7}{P}$$

siendo:

P = Peso, en g. de la muestra.

A = volumen, en ml, de sosa N/2 consumido en el análisis.

B = Volumen, en ml, de sosa N/2 consumido en el ensayo en blanco.

6(a).6.—Observaciones

6(a).6.1.—El dispositivo de calentamiento se ajusta de tal forma que sea capaz de llevar 250 ml de agua a 25°C a ebullición fuerte en unos cinco minutos o el tiempo que especifique el método. Para probar los calentadores se precalentan diez minutos si son de gas o treinta minutos si son eléctricos. Agregar regulador de ebullición inerte para evitar sobrecalentamiento.

6(a).6.2.—Diluir el líquido que queda en los matraces Kjeldahl con agua 1+1, separando por filtración las sales de Hg insolubles que se reserva en un recipiente apropiado, para impedir la contaminación del medio.

6(a).6.3.—En ausencia de materia orgánica puede sustituirse la mezcla óxido de mercurio-sulfato potásico por la de selenio, sulfato de cobre, sulfato potásico (1:1:20) en la proporción de 1 g por cada 0,5 g de muestra, no siendo necesario en este caso utilizar la disolución de tiosulfato sódico o sulfuro sódico junto a la disolución de hidróxido sódico, en la etapa de destilación.

6(a).7.—Referencia

1.—Association of Official Analytical Chemists. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, Ed. 1975, pág. 15/2049.

6(b).—NITROGENO TOTAL

(Método Kjeldahl modificado para muestras que contienen nitratos)

6(b).1.—Principio

El nitrato nítro el ácido salicílico en presencia de ácido sulfúrico concentrado. Posteriormente el nitrato del derivado nitrado se reduce por el Zn o el tiosulfato y se prosigue como en el Kjeldahl para muestras que no contengan nitratos.

No es aplicable a abonos que tengan alta relación Cl^-/NO_3^- ni a los abonos líquidos en general.

6(b).2.—Material y aparatos

Como en 6(a).2.

6(b).3.—Reactivos

6(b).3.1.—Ácido salicílico.

6(b).3.2.—Polvo de zinc impalpable.

6(b).3.3.—El resto como en 6(a).3.

6(b).4.—Procedimiento

6(b).4.1.—Colocar de 0,7 a 2,2, g de muestra en el matraz de digestión y añadir 40 ml de ácido sulfúrico que contenga 2 g de ácido salicílico. Agitar hasta mezclarlo completamente y dejar en reposo agitando de cuando en cuando durante treinta minutos o más.

6(b).4.2.—Añadir 5 g de $S_2O_3Na_2 \cdot 5H_2O$ ó 2 g de Zn en polvo. Agitar y dejar en reposo cinco minutos. Calentar en llama pequeña hasta que cese la formación de espuma. Retirar del fuego, añadir 0,7 g de HgO ó 0,65 g de Hg metálico y 15 g de sulfato potásico o sódico anhidro. Hervir vivamente hasta que se aclare la disolución y luego treinta minutos más por lo menos (dos horas si la muestra contiene materia orgánica).

6(b).4.3.—Continuar hasta el final como en 6(a).4.2. y siguientes.

6(b).5.—Referencia

1.—Association of Official Analytical Chemist. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS, Ed. 1975, pág. 16/2.050.

6(c).—NITROGENO TOTAL

6(c).1.—Principio

La reducción del nitrógeno nítrico a amoniacal se hace por el cromo en polvo, prosiguiéndose como en el Kjeldahl para muestras sin nitratos.

6(c).2.—Material y aparatos

Como en 6(a).2.

6(c).3.—Reactivos

6(c).3.1.—Cromo metal en polvo que pase por un tamiz de 100 mallas (0,149 milímetros), exento de N.

6(c).3.2.—Ácido clorhídrico concentrado (d = 1,18).

6(c).3.3.—Ácido sulfúrico diluido. Se agregan lentamente 625 ml de ácido sulfúrico a 300 ml de agua. Diluir a casi un litro con agua y agitar. Enrasar cuando se enfria. Evitar presencia de amoníaco en la atmósfera.

6(c).3.4.—Disolución de tiosulfato sódico o de sulfato potásico: 160 g de $S_2O_3Na_2 \cdot 5H_2O$ disolver en agua y enrasar a un litro, o 30 g de SK_2 en un litro de agua.

6(c).3.5.—El resto como en 6(a).3.

6(c).4.—Procedimiento

6(c).4.1.—Pesar de 0,2 a 2 g de la muestra (que contenga una cantidad igual o menor de 60 mg de N nítrico), ponerlos en un Kjeldahl de 500 a 600 ml y agregar 1,2 g de polvo de cromo. Agregar 35 ml de agua, o si el problema es líquido, completar hasta formar un volumen total de 35 ml. Dejar en reposo durante diez minutos agitando en círculo de cuando en cuando suavemente para disolver todos los nitratos. Agregar 5 ml de ácido clorhídrico concentrado y dejar en reposo un tiempo que no debe ser inferior a treinta segundos ni superior a diez minutos.

6(c).4.2.—Poner el matraz en un dispositivo de calentamiento que cumpla 6(a).6.1. en siete o siete minutos y medio. Después de calentar tres minutos y medio, separar el calor y dejar enfriar. Agregar 22 g de sulfato potásico, 1 g de óxido de mercurio y el regulador de ebullición inerte. Añadir 40 ml de ácido sulfúrico diluido ó 25 ml de ácido sulfúrico concentrado. Si la materia orgánica que consume gran cantidad de ácido, excede de 1 g, agregar adicionalmente 1 ml de ácido sulfúrico concentrado por cada 0,1 g de materia orgánica en exceso.

6(c).4.3. — Colocar el matraz en el dispositivo de calentamiento que cumpla 6(a).6.1. en cinco minutos. Disminuir el calor si la espuma ocupa una zona igual o mayor de 2/3 del bulbo del matraz. Calentar durante cinco minutos hasta que desaparezcan los humos blancos. Para muestras que contengan materia orgánica, agitar suavemente, por rotación y proseguir la digestión durante sesenta minutos más.

6(c).4.4. — Continuar hasta el final como en 6(a).4.2. y siguientes.

6(c).5. — Referencias

1. — Association of Official Analytical Chemists. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. Ed. 1975, pág. 16/2.051.

7(a). — NITRÓGENO AMONIAICAL (Método del óxido de magnesio)

7(a).1. — Principio

Transformación del nitrógeno amoniacal en amoníaco por la acción de óxido de magnesio (no carbonatado). Destilar el amoníaco sobre un volumen conocido de ácido sulfúrico y valorar el exceso de ácido por retorno con hidróxido sódico en presencia de rojo de metilo.

Aplicable a todos los abonos, incluso los compuestos, en los cuales el nitrógeno se encuentre sólo como sal amónica o mezclada con nitratos.

No es aplicable a los abonos que contenga urea, cianamida y otros compuestos orgánicos nitrogenados.

7(A).2. — Material y aparatos

Como en 6(a).2., excepto matraz Kjeldahl.

7(a).3. — Reactivos

7(a).3.1. — Óxido de magnesio (libre de carbonato magnésico).

7(a).3.2. — Hidróxido sódico N/2.

7(a).3.3. — Ácido sulfúrico N/2.

7(a).3.4. — Indicador de rojo de metilo: Disolver 1 g en 100 ml de etanol.

7(a).4. — Procedimiento

Pesar, con precisión de un mg, de 0,7 a 3,5 g de la muestra, según el contenido de nitrógeno amoniacal. Introducir en un matraz de destilación, añadiendo unos 200 ml de agua y 2 g o más de óxido de magnesio. Conectar el matraz a un refrigerante mediante un bulbo de seguridad.

Destilar unos 100 ml de líquido y recoger en un vaso conteniendo unos 30 ml de ácido sulfúrico N/2 y unas gotas de rojo de metilo. Valorar el exceso de ácido sulfúrico N/2 mediante hidróxido sódico N/2. Hacer un ensayo en blanco.

7(a).5. — Cálculo

Como en 6(a).5.

7(a).6. — Referencia

1. — Association of Official Analytical Chemists. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. Ed. 1980, pág. 17/2.065.

7(b). — NITRÓGENO AMONIAICAL (Método de formaldehído)

7(b).1. — Principio

El catión amonio reacciona con el formol originando urotropina y dejando en libertad los ácidos de la sal, que se valoran.

Es necesario que la disolución de la muestra sea neutra respecto al rojo de metilo y que no existan materias sólidas que puedan reaccionar con los ácidos liberados.

Es aplicable al nitrato amónico y al sulfato amónico. Puede utilizarse en presencia de urea.

7(b).2. — Material y aparatos

7(b).2.1. — Matraces aforados de 250 a 500 ml.

7(b).2.2. — Vasos de 300 ml.

7(b).2.3. — Buretas de 25 ml.

7(b).2.4. — Probetas de 200 ml.

7(b).3. — Reactivos

7(b).3.1. — Formaldehído al 37 por 100.

7(b).3.2. — Hidróxido sódico N/2.

7(b).3.3. — Indicador de fenoltaleína: Disolver 1 g de fenoltaleína en 100 ml de etanol.

7(b).3.4. — Indicador de rojo de metilo: Disolver 1 g de rojo de metilo en 100 ml de etanol.

7(b).4. — Procedimiento

7(b).4.1. — Pesar con precisión de un mg, 7 ó 14 g de la muestra y diluir a 250 ml o a 500 ml. Tomar con pipeta 25 ó 50 ml introduciéndolos en un matraz Erlenmeyer y añadir 1 ml de formaldehído por cada 0,1 g de muestra en la porción. Diluir a unos 200 ml y dejar en reposo cinco minutos.

7(b).4.2. — Valorar con una solución de hidróxido sódico N/2 en presencia de cinco gotas de fenoltaleína.

7(b).4.3. — Hacer un ensayo en blanco utilizando formaldehído y fenoltaleína.

7(b).4.4. — Neutralizar una porción del problema con hidróxido sódico N/2 en presencia del rojo de metilo.

7(b).5. — Cálculo

$$\%N = \frac{M - (A + B) \cdot 0.7}{P}$$

M = volumen, en ml, de hidróxido sódico N/2 gastados en 7(b).4.2.

A = volumen, en ml, de hidróxido sódico N/2 gastados en 7(b).4.3.

B = volumen, en ml, de hidróxido sódico N/2 gastados en 7(b).4.4.

P = peso, en g, de la muestra contenida en la alícuota.

7(b).6. — Observaciones

Es necesario neutralizar el formaldehído y el problema en alícuotas distintas a las de la determinación, aunque iguales en volumen, para evitar la mezcla de indicadores.

7(b).7. — Referencias

1. — Association of Official Analytical Chemists. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. Ed. 1980, pág. 17/2.066.

8. — NITRÓGENO AMONIAICAL Y NÍTRICO CONJUNTAMENTE (Método de Devarda)

8.1. — Principio

El nitrógeno nítrico se reduce a amoniacal por el hidrógeno desprendido al reaccionar la aleación de Devarda en medio fuertemente alcalino. Destilar el amoníaco formado y el ya existente en la disolución, recogiendo en un exceso de ácido y valorando por retorno.

Es aplicable a los abonos en que se exija el nitrógeno nítrico y amoniacal, pero no es aplicable en presencia de materia orgánica, cianamida de calcio y urea.

8.2. — Material y aparatos

Como en 6(a).2., excepto el matraz Kjeldahl.

8.3. — Reactivos

8.3.1. — Aleación de Devarda (Al-Cu-Zn, 45/50/8).

8.3.2. — Disolución concentrada de hidróxido sódico (42 por 100 en peso).

8.3.3. — Disolución de ácido sulfúrico N/2.

8.3.4. — Disolución de hidróxido sódico N/2.

8.3.5. — Indicador de rojo de metilo: Disolver 1 g en 100 ml de etanol.

8.4. — Procedimiento

8.4.1. — Pesar, con precisión de 1 mg, de 0,35 a 0,5 de muestra y ponerlos en un matraz de 600 a 700 ml. Añadir 300 ml de agua, 3 g de aleación de Devarda y 5 ml de la disolución concentrada de sosa, despacio y por las paredes para que no se mezcle con el resto.

8.4.2. — Conectar con el aparato de destilación, teniendo introducido el extremo de la alargadera en un vaso que contiene 30 ml de ácido sulfúrico N/2. Agitar el matraz y calentar suavemente al principio y luego en una proporción que produzca 250 ml de destilado en una hora.

8.4.3. — Una vez destilado todo el amoníaco valorar el exceso de ácido sulfúrico N/2 con sosa N/2 en presencia de rojo de metilo. Hacer un ensayo en blanco.

8.5. — Cálculo

Como en 6(a).5.

8.6. — Observaciones

Si se desea conocer separadamente el nitrógeno nítrico una vez determinados los dos juntos, determinar el nitrógeno amoniacal por el método del óxido de magnesio y la diferencia será el nitrógeno nítrico.

8.7. — Referencia

1. — Association of Official Analytical Chemists. OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS. Ed. 1980, pág. 17/2.067.

ANEXO V.—FITOSANITARIOS

4(a). DIMETOATO (por ultravioleta)

4(a).1.—Principio

Mediante cromatografía en capa fina y visualización a la luz UV, se separa el dimetoato de sus impurezas y productos de degradación. Mecánicamente se recoge la zona del dimetoato y se determina su contenido por bromometría.

Aplicable tanto al Dimetoato técnico como a sus formulaciones en forma de líquidos emulsionables y polvos mojables.

4(a).2.—Material y aparatos

4(a).2.1.—Equipo para cromatografía en capa fina.

4(a).2.2.—Lámpara de luz ultravioleta capaz de efectuar lecturas a 254 nm.

4(a).2.3.—Rotavapor.

4(a).2.4.—Extractor Soxhlet de 260 ml de capacidad.

4(a).2.5.—Baño de agua.

4(a).3.—Reactivos

4(a).3.1.—Placas de silicagel 60F 254, de 0,25 mm de espesor. Las placas deben lavarse, antes de su uso, por desarrollo, en la misma dirección en que después se utilizarán, con la mezcla cloroformo metanol.

4(a).3.2.—Cloroformo/metanol 30/1 (V/V).

4(a).3.3.—Solución Bromuro/Bromato potásico 0,1N.

4(a).3.4.—Ácido sulfúrico 2,5N.

4(a).3.5.—Yoduro potásico.

4(a).3.6.—Solución de molibdato amónico al 5 por 100.

4(a).3.7.—Solución de tiosulfato sódico 0,1N.

4(a).3.8.—Cloroformo.

4(a).3.9.—Indicador de engrudo de almidón.

4(a).4.—Procedimiento

4(a).4.1.—Preparación de la muestra.

4(a).4.1.1.—Producto técnico.

Pesar, con aproximación de la décima de mg, 4 g de producto técnico, disolver en cloroformo en matraz aforado de 10 ml y llevar a volumen con el mismo disolvente.

4(a).4.1.2.—Líquidos emulsionables.

No necesitan preparación especial, aplicándose directamente sobre la placa la cantidad de muestra necesaria.

4(a).4.1.3.—Polvos mojables.

Pesar, con aproximación de la décima de mg, la cantidad de muestra necesaria para obtener 4 g de principio activo, introducirla en un cartucho de extracción y seguidamente extraer en soxhlet con cloroformo durante el tiempo necesario para lograr el agotamiento de la muestra (aproximadamente dos o tres horas). Terminada la extracción concentrar la solución en rotavapor (a una temperatura de 50-60°C) hasta que queden solamente 1 ó 2 ml, recoger el contenido del matraz de evaporación trasvasándolo a un matraz aforado de 10 ml, ayudándose para una recuperación cuantitativa con pequeñas porciones de cloroformo (realizar un mínimo de 3 lavados) y finalmente enrasar con el mismo disolvente.

4(a).4.2.—Separación cromatográfica.

Aplicar sobre la placa cromatográfica, a lo largo de una línea de 14 cm situada a 2 cm del borde inferior y a 3 cm de cada borde lateral, un volumen de solución que contenga unos 20 mg, de sustancia activa.

Evaporar el disolvente y desarrollar la placa, una vez, con la mezcla cloroformo/metanol 30/1 V/V. Evaporar el disolvente y examinar la placa a la luz U.V., marcando la zona correspondiente al dimetoato (normalmente la mancha principal).

Separar mecánicamente, con ayuda de una espátula, la zona de la capa de silicagel que contiene el dimetoato, así como la franja de 5 mm que la rodea, con el fin de asegurarse de que la separación es cuantitativa, pasándose a un frasco de lodo de 500 ml o en su defecto a un erlenmeyer del mismo volumen con tapón esmerilado.

4(a).4.3.—Valoración bromométrica.

Introducir en el frasco de lodo o matraz erlenmeyer un tubo conteniendo 0,5 g de yoduro potásico, añadir 25 ml de solución 0,1N de bromuro bromato y 25 ml de ácido sulfúrico 2,5N, TAPAR EL MATRAZ, MOJANDO PREVIAMENTE EL TAPÓN EN AGUA DESTILADA Y DEJAR 30 minutos a 20°C agitando de vez en cuando. Al cabo de este tiempo invertir el matraz para que el yoduro potásico entre en contacto con la solución y a continuación añadir 1 ml de solución de molibdato amónico al 5 por 100 y valorar la mezcla con la solución 0,1N de tiosulfato sódico, usando engrudo de almidón como indicador.

Hacer un ensayo en blanco, con las mismas cantidades de reactivos y tomando una cantidad de silicagel parecida a la del análisis y de la misma zona.

4(a).5.—Cálculos

$$\% \text{ dimetoato} = \frac{(b - a) \times 0,1 \times f \times 1,638}{P}$$

siendo:

a = volumen, en ml, de tiosulfato 0,1 N gastados en el análisis,

b = volumen, en ml, de tiosulfato 0,1 N gastados en blanco,

P = peso, en g, de la muestra.

f = factor de la solución de tiosulfato sódico.

4(b).—DIMETOATO (por infrarrojo)

4(b).1.—Principio

Mediante espectrofotometría infrarroja se determina el contenido en Dimetoato cuantificado la banda de absorción que presenta este compuesto entre 1.600 y 1.800 cm^{-1}

Aplicable a formulaciones en forma de polvos espolvoreables.

4(b).2.—Material y aparatos

4(b).2.1.—Espectrofotómetro de infrarrojos.

4(b).2.2.—Cubetas de BrK de 0,05 mm de espesor.

4(b).2.3.—Extractor Soxhlet de 250 ml de capacidad.

4(b).2.4.—Rotavapor.

4(b).2.5.—Baño de agua.

4(b).2.6.—Matraces aforados de 25 ml.

4(b).3.—Reactivos

4(b).3.1.—Cloruro de metileno.

4(b).3.2.—Dimetoato patrón de riqueza conocida.

4(b).4.—Procedimiento

4(b).4.1.—Preparación de la solución patrón:

Pesar con precisión de 0,1 mg, aproximadamente 200 mg de dimetoato patrón e introducirlos en el matraz aforado de 25 ml, disolviéndolos y enrasando posteriormente con cloruro de metileno.

4(b).4.2.—Preparación de la solución de la muestra a analizar.

Pesar con precisión de 0,1 mg, la cantidad de muestra necesaria para tener aproximadamente 200 mg de dimetoato, introducirla en un cartucho de extracción y seguidamente extraer en un soxhlet con cloruro de metileno durante el tiempo necesario para lograr el agotamiento de la muestra (aproximadamente una hora). Terminada la extracción concentrar la solución en rotavapor (a una temperatura de 30-40°C) hasta que queden aproximadamente 5 ml, recoger el contenido del matraz de evaporación trasvasándolo a un matraz aforado de 25 ml, ayudándose para una recuperación cuantitativa con pequeñas porciones de cloruro de metileno (realizar un mínimo de 3 lavados) y finalmente enrasar con el mismo disolvente.

4(b).4.3.—Determinación espectrofotométrica.

En un espectrofotómetro de infrarrojos y utilizando cubetas de BrK de 0,05 mm de espesor realizar un barrido entre 1.600 y 1.800 cm^{-1} de las soluciones del Dimetoato patrón y de la muestra preparadas como se describe en los apartados A(b).4.1. y 4(b).4.2.

4(b).5.—Cálculos

$$\% \text{ de dimetoato} = \frac{\text{Ab. muestra}}{\text{Ab. patrón}} \times \frac{\text{Peso patrón}}{\text{Peso muestra}} \times \text{Riqueza patrón}$$

14.—COBRE TOTAL (Por Iodometría)

14.1.—Principio

Los iones cúpricos, resultantes de la mineralización de la muestra con mezcla sulfo-nítrica, reaccionan con yoduro potásico, produciendo yoduro cuproso y yodo. Este último se valora con tiosulfato sódico.

Aplicable a productos técnicos, formulados y mezclas con ditiocarbamato.

14.2.—Material y aparatos

- 14.2.1.—Material de vidrio de uso corriente en el laboratorio.
14.2.2.—Placa calefactora.

14.3.—Reactivos

- 14.3.1.—Acido acético glacial.
14.3.2.—Acido nítrico, densidad 1,42.
14.3.3.—Acido sulfúrico, densidad 1,84.
14.3.4.—Engrudo de almidón. Triturar 2 g de almidón con unos 10 ml de agua fría, hasta formar una pasta homogénea, que se añadirá con agitación constante, a suficiente agua hirviendo para alcanzar 200 ml, continuar la ebullición durante unos minutos más, enfriar y filtrar si fuese necesario.

14.3.5.—Fluoruro sódico, disolución saturada, aproximadamente 48 g/l en frasco de polietileno.

- 14.3.6.—Papel indicador de pH.
14.3.7.—Piedra pómez (gránulos).
14.3.8.—Tiocianato potásico, disolución 400 g/l.

14.3.9.—Tiosulfato sódico 0,1N, disolución exactamente valorada. Pesar alrededor de 25 g de tiosulfato sódico cristalizado ($S_2O_3Na_2 \cdot 5H_2O$), disolver en una pequeña cantidad de agua fría recién hervida. Diluir a un litro y almacenar en frascos de vidrio. Dejar envejecer durante unos 15 días y sifonar o pasar a través de placa filtrante. Guardar en frascos de vidrio de color topaco. La normalidad exacta de la disolución deberá determinarse pasando con exactitud a la décima de mg, aproximadamente 0,15 g de cobre electrolítico de máxima pureza y siguiendo el procedimiento que se indica en 14.4. Los cálculos se harán teniendo presente la siguiente fórmula:

$$N = \frac{15,7306 \cdot P}{V}$$

siendo:

P = peso, en g, de la muestra de cobre electrolítico
V = volumen gastado, en ml, de tiosulfato sódico.

14.3.10.—Urea.

14.3.11.—Yoduro potásico, libre de yodato, disolución 400 g/l.

14.4.—Procedimiento

Pasar con precisión de la décima de miligramo una muestra que contenga aproximadamente 0,15 g de cobre metal e introducirla en un matraz erlenmeyer de 250 ml.

Añadir, con probeta, 10 ml de ácido nítrico y 10 ml de ácido sulfúrico y una pequeña cantidad de gránulos de piedra pómez. Calentar a ebullición el erlenmeyer sobre placa calefactora, hasta la desaparición de los gases de color pardo y el desprendimiento de vapores blancos densos. La solución resultante deberá ser de color verde-azulado con sedimento blanco.

Si fuese necesario repetir la adición de ácido nítrico, añadir 5 ml y continuar la calefacción.

Retirar el erlenmeyer de la placa calefactora y dejarlo enfriar a temperatura ambiente.

Añadir cuidadosamente poco a poco 50 ml de agua destilada y calentar a ebullición sobre la placa calefactora durante diez minutos, agregar 0,5 g de urea, prolongando la ebullición cinco minutos.

Retirar el erlenmeyer de la placa calefactora y dejarlo enfriar a temperatura ambiente.

Añadir, con pipeta, amoníaco agitando la disolución constantemente hasta que se forma precipitado, prosiguiendo la adición de amoníaco gota a gota hasta que el precipitado se disuelva y la disolución adquiera un color azul oscuro. Dejar enfriar a temperatura ambiente. Añadir con pipeta ácido acético hasta que la solución tome color azul o azul verdoso y tenga carácter ácido al papel indicador. Entonces añadir con pipeta 2 ml de ácido acético. Dejar enfriar a temperatura ambiente.

Añadir con pipeta 5 ml de fluoruro sódico y 10 ml de yoduro potásico. Tapar el matraz erlenmeyer con su tapón previamente humedecido con agua y agitar suavemente para favorecer la mezcla.

Valorar con tiosulfato sódico hasta que la solución adquiera un color amarillo pálido, añadir con pipeta 2 ml de engrudo de almidón y 5 ml de tiocianato potásico. Agitar suavemente y continuar la valoración hasta la desaparición del color azul.

14.5.—Cálculos

$$\% \text{ de cobre (P/P)} = \frac{6,355 \cdot V \cdot N}{P}$$

siendo:

V = volumen, en ml, de la solución de tiosulfato.
N = Normalidad exacta de la solución de tiosulfato.
P = peso, en g, de la muestra.

ANEXO VI.—LECHE

19.—SUSTANCIAS PROTEICAS PRODUCTORAS

19.1.—Principio

Determinación de las sustancias proteicas reductoras de la leche, mediante reacción con ferricianuro potásico y posterior valoración colorimétrica. Este método es aplicable a la detección de leche en polvo reconstituida en leche cruda o pasteurizada.

19.2.—Material y aparatos

- 19.2.1.—Espectrofotómetro que permite lecturas de 610 nm con cubetas de 1 cm.
19.2.2.—Centrífuga 1000-1500 r.p.m.
19.2.3.—Tubos de centrífuga graduados a 50 ml.
19.2.4.—Baño de agua de temperatura regulable hasta 80°C.

19.3.—Reactivos

19.3.1.—Solución de ácido acético al 5% diluir 50 ml de ácido acético glacial con agua destilada a 1 litro.

19.3.2.—Solución saturada de urea en agua destilada.

19.3.3.—Solución tampón. Disolver 2 g de NaOH en agua y diluir a 250 ml. Disolver 10,2 g de ftalato ácido de potasio en agua y diluir a 250 ml. Mezclar 159 ml de la solución de NaOH con 200 ml de la solución ftalato, diluirlo hasta 800 ml y ajustar la solución final a un pH 5,6 por adición de las soluciones de NaOH o ftalato.

19.3.4.—Solución de ferricianuro potásico al 1%. Disolver 10 g de ferricianuro potásico en agua destilada y diluir a 1 litro. Desechar la solución si presenta color verde o contiene precipitado azul. Esta solución debe utilizarse recién preparada.

19.3.5.—Solución de ácido tricloroacético al 10%. Disolver 100 g de ácido tricloroacético en agua destilada y diluir a 1 litro.

19.3.6.—Solución de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ al 0,1%. Disolver 0,1 g de $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ en agua destilada y diluir a 100 ml. Esta solución debe utilizarse recién preparada.

19.3.7.—Solución de ferrocianuro potásico 0,05 mg/ml. Pesar 0,1147 g de $K_4FeCN_6 \cdot 3H_2O$ y diluir a 1 litro de agua. Diluir 50 ml de esta solución a 100 ml en matraces aforados. Cada ml contiene 0,05 mg de ferrocianuro anhidro. Debido a que este reactivo se oxida fácilmente con el aire se debe utilizar inmediatamente después de su preparación.

19.4.—Procedimiento

19.4.1.—Preparación de la curva de referencia.

Pipetear 0; 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5; 4,0 ml de la solución de ferrocianuro potásico (0,05 mg/ml) en tubos de ensayo. Añadir agua hasta un volumen total de 5 ml. A todos los tubos se les añade 5 ml de la «solución blanco» preparada como se describe a continuación:

Diluir 3 ml de la solución de urea a 15 ml con agua en un tubo de centrífuga, añadir 5 ml de la solución tampón, 5 ml de la solución de ferricianuro y 5 ml de la solución de tricloroacético. Mezclar bien con una varilla de vidrio (La «solución blanco» no necesita ser calentada, ni filtrada para la curva de referencia. Sin embargo, cuando analizan las muestras, el blanco se calienta y se filtra igual que en las condiciones del ensayo).

A intervalos convenientes añadir 1 ml de la solución de $FeCl_3$ al 0,1%, para desarrollar el color, agitar y dejar en reposo exactamente durante 10 minutos. Ajustar el 100% de transmitancia con la solución control (0,0 ml de disolución $K_4Fe(CN)_6$) a 610 nm. Leer a continuación en transmitancia las distintas preparaciones de las soluciones patrones y representar los valores obtenidos frente a concentraciones en mg de ferrocianuro potásico en papel semilogarítmico.

Preparar la curva de referencia con cada serie de análisis.

19.4.2.—Determinación.

Mantener las muestras aproximadamente a 3°C. Las muestras congeladas o conservadas son inadecuadas para la determinación. Pipetear 15 ml de la muestra previamente homogeneizada en un tubo de centrífuga graduado de 50 ml, que contenga 15 ml de agua. Añadir 3 ml de la solución de ácido acético al 5%, agitar bien con una varilla de vidrio y centrifugar durante 5 minutos. Decantar el líquido sobrenadante. (Una pequeña parte del precipitado puede quedar flotando en la parte superior del tubo después de centrifugar; si la mayor parte del precipitado queda en el fondo del tubo, se puede despreciar. Sin embargo, si la muestra contiene excesiva nata, el precipitado flotará y no podrá separarse el sobrenadante. Desechar la determinación y volver a mezclar la muestra completamente. Lavar el precipitado dos veces con porciones de 15 ml de agua, mezclando cada vez el precipitado con una varilla de vidrio, centrifugar 15 minutos y decantar.

Al precipitado y a un tubo de centrífuga limpio que se llevará paralelamente como blanco, añadir 3 ml de solución de urea y entonces diluir a 15 ml con agua. Agitar, añadir 5 ml de la solución tampón y 5 ml de la solución de ferricianuro potásico al 1%, y agitar de nuevo. Colocar en un baño de agua a 70°C, exactamente 20 minutos y enfriar en hielo.

Una vez frío, añadir 5 ml de la solución de ácido tricloroacético al 10%, agitar y filtrar a través de un papel Whatman n.º 40 de 11 cm o similar. Usar los primeros 5 ml del filtrado para lavar las paredes y el fondo del recipiente, desechándolos. Verter el resto de la solución sobre el filtro y dejar que filtre completamente; filtrar de nuevo si el filtrado es turbio.

Introducir 5 ml de agua en un tubo de ensayo, añadir 5 ml del filtrado claro. Adicionar 1 ml de la solución de $FeCl_3$ al 0,1% para que se desarrolle el color, agitar y dejar en reposo exactamente 10 minutos. Ajustar el 100% de transmitancia a 610 nm con el blanco y efectuar la lectura. Con las series de muestras, añadir la solución de $FeCl_3$ a intervalos convenientes para permitir las lecturas después del período de 10 minutos.

19.5.—Cálculo

A partir de la curva de referencia, determinar la cantidad de sustancias reductoras como $\text{mg K}_2\text{Fe}(\text{CN})_6$ por 100 ml de leche, multiplicando el valor obtenido de la curva por 40.

19.6.—Observaciones

Los análisis deben terminarse el mismo día que se comiencen. Es importante que las muestras no permanezcan demasiado tiempo después de enfriamiento o después de la filtración. Durante la determinación el laboratorio debe estar libre de vapores oxidantes o reductores (H_2S , Cl_2 , NHO_3 , etc.).

19.7.—Referencias

- 1.—«Official Methods of Analysis of the AOAC». Ed. 1975. N.º 16.047-16.050.

ANEXO VII.—PIENSOS

13.—NITROGENO AMONICAL

13.1.—Principio

Desplazamiento del nitrógeno amoniacal en medio alcalino, mediante destilación al vacío y recogido en disolución ácida.

Aplicable a harinas de pescado y carne.

13.2.—Material y aparatos

- 13.2.1.—Aparato de destilación formado por:
- 13.2.1.1.—Matraz de tres bocas, de un litro de capacidad y boca esmerilada.
 - 13.2.1.2.—Embudo con llave de paso y junta esmerilada.
 - 13.2.1.3.—Alegadera con tres esmerilados.
 - 13.2.1.4.—Termómetro de mercurio graduado de 0 a 200°C, con esmerilado.
 - 13.2.1.5.—Refrigerante.
 - 13.2.1.6.—Gula para capilares con esmerilado.
 - 13.2.1.7.—Tres matraces kitasatos de 500 ml de capacidad.
 - 13.2.1.8.—Pieza con dos esmerilados, provista de oliva lateral para entrada de gases.
 - 13.2.1.9.—Erlenmeyer de 500 ml de capacidad.
 - 13.2.1.10.—Pizzas con oliva acodada y esmerilada.
- 13.2.2.—Búfeta de 50 ml, graduada en décimas.
- 13.2.3.—Embudo de vástago largo.
- 13.2.4.—Vasos de precipitados de 250 ml de capacidad.
- 13.2.5.—Baño de agua termostatzado.
- 13.2.6.—Bomba de vacío o similar.

13.3.—Reactivos

- 13.3.1.—Óxido de magnesio.
- 13.3.2.—Antiespumante tipo sílica.
- 13.3.3.—Ácido clorhídrico 0,1N.
- 13.3.4.—Solución de azul de metileno al 0,24% en etanol.
- 13.3.5.—Solución de rojo de metilo al 0,02% en etanol.
- 13.3.6.—Solución de ácido bórico al 4%.
- 13.3.7.—Solución de fenoltaleína al 0,5% en etanol.
- 13.3.8.—Solución de ácido sulfúrico al 50% v/v.
- 13.3.9.—Indicador: Mezclar a partes iguales, v/v la solución 13.3.4. con la solución 13.3.6.

13.4.—Procedimiento

Pesar con precisión de mg alrededor de 4 g de la muestra a analizar, previamente homogeneizada y molida, en partículas no superiores a 1 mm de diámetro. Introducir mediante el embudo 13.2.3. la muestra en el matraz 13.2.1.1. Añadir 150 ml de agua destilada, arrastrando con ella las partículas de muestra que se hubieran adherido a las paredes del embudo. Añadir 4 gotas de la solución 13.3.7. y 3 gotas de la solución 13.3.2. Añadir a cada uno de los kitasatos 13.2.1.7. y al erlenmeyer 13.2.1.9., 10 ml de la solución de ácido bórico 13.3.6. con 3-4 gotas del indicador 13.3.9. Colocar en el otro de los tres kitasatos 13.2.1.7. ácido sulfúrico diluido para absorber el amoníaco del aire, hasta asegurar un cierre hidráulico.

Montar el aparato de destilación, conectándolo a vacío abriendo la llave unida al kitasato donde se adicione el ácido sulfúrico diluido, procurando una succión suave, pero suficiente para obtener un barboteo del líquido obtenido en el matraz 13.2.1.1. y calentar en baño de agua. Seguidamente añadir sobre la muestra contenida en el matraz 13.2.1.1. 10 g de 13.3.1. en 100 ml de agua hasta que el indicador 13.3.9. vire de color, en caso de no virar añadir más cantidad hasta su viraje.

Es imprescindible evitar que durante las adiciones de óxido de magnesio el embudo 13.2.1.2. quede exento de líquido para evitar la pérdida de amoníaco.

El proceso de calentamiento en baño de agua y al vacío deben efectuarse de tal forma, que la temperatura de destilación esté comprendida entre 60°-70°C, sin que la temperatura del baño alcance los 90°C.

Destilar durante 30 minutos a partir de que comience la destilación. Transcurrido este tiempo, suprimir el vacío y el calor, desmontar los kitasatos 13.2.1.7., lavar el refrigerante con agua destilada sobre el matraz 13.2.1.9., transvasar los líquidos de los kitasatos al matraz anterior y los lavados de los mismos valorando a continuación con la solución de ácido clorhídrico 13.3.3. Realizar un ensayo en blanco operando de la misma forma.

13.5.—Cálculos

$$\% \text{ nitróg. amoniacal} = \frac{1,4 (A-B) F \cdot N}{P}$$

siendo:

1,4 = Factor de cálculo.

A = volumen, en ml, de ácido clorhídrico 0,1N empleados en la valoración de la muestra.

B = volumen, en ml, de ácido clorhídrico 0,1N empleados en el ensayo en blanco.

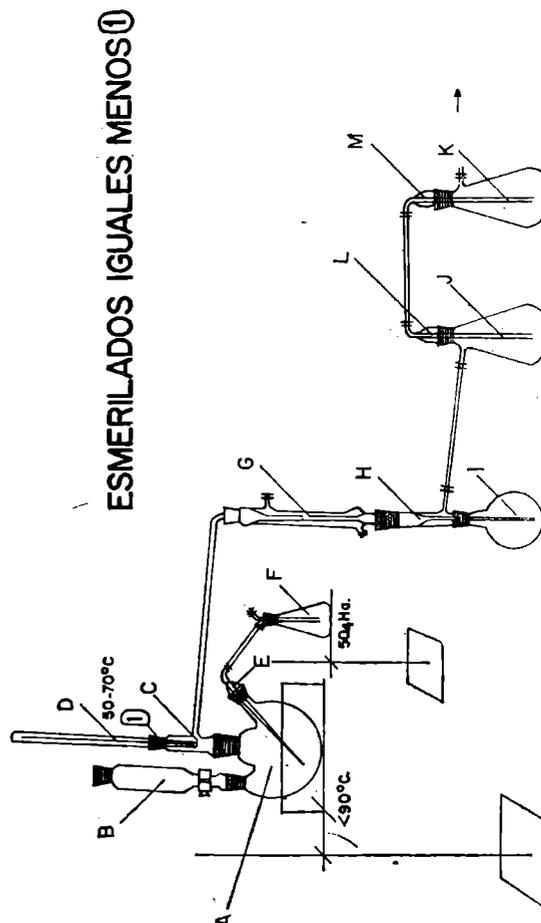
F = Factor de la solución de ácido clorhídrico 0,1N.

N = Normalidad de la solución de ácido clorhídrico 0,1N.

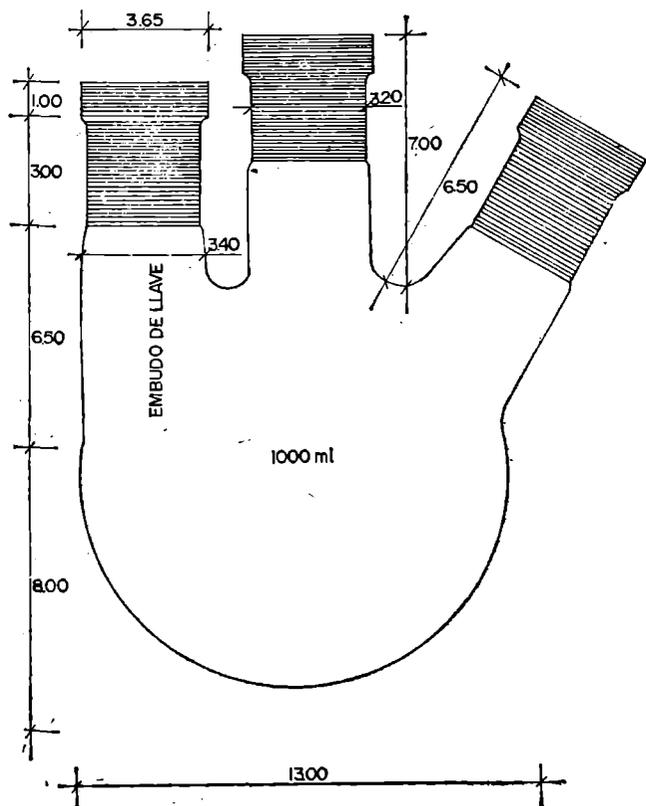
P = peso, en g, de la muestra.

13.6.—Referencias

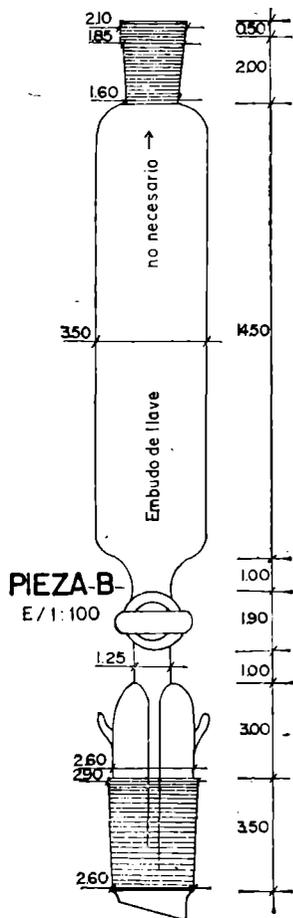
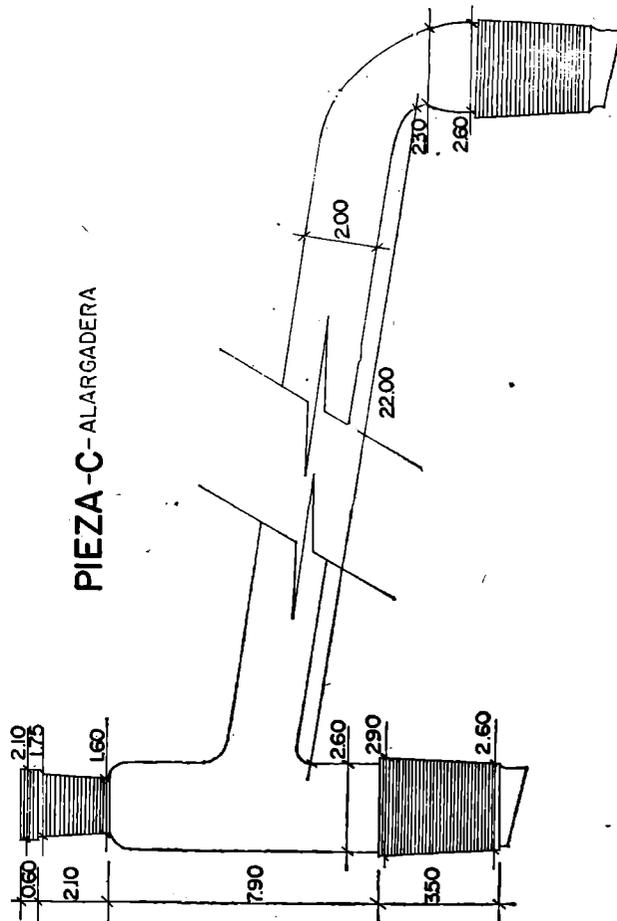
- 1.—Una Norma Española 64045/73 (proyecto).



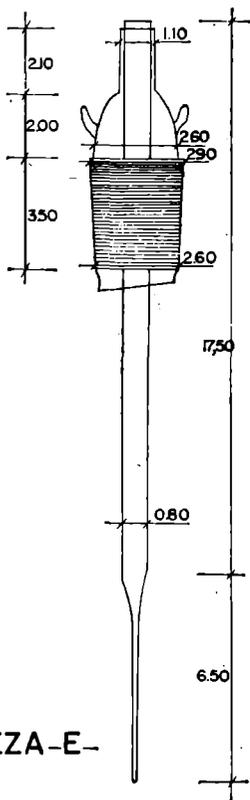
PIEZA -A-



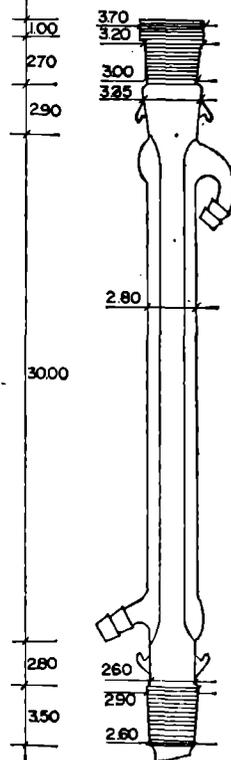
PIEZA -C- ALARGADERA



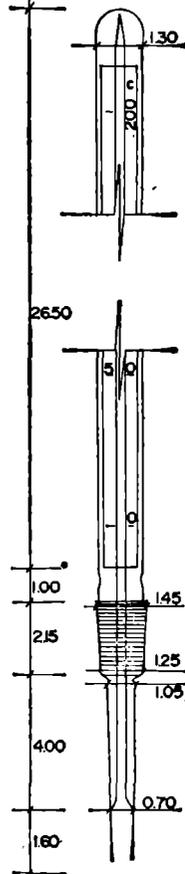
PIEZA -E-

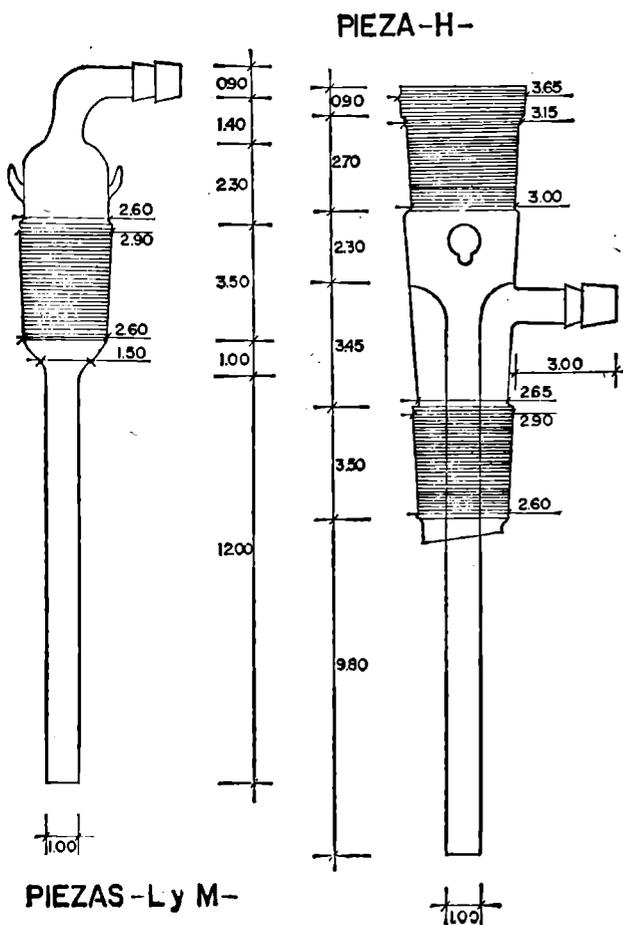
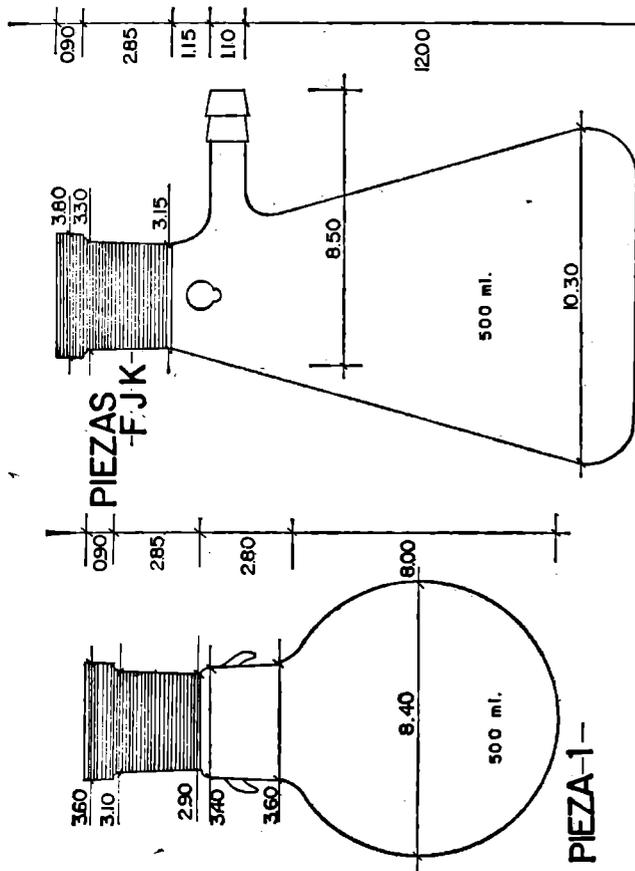


PIEZA -G-



PIEZA -D-





14.—CARBONATO

14.1.—Principio

Descomposición de los carbonatos mediante la acción del ácido clorhídrico y comparación del volumen de anhídrido carbónico desprendido frente a una cantidad conocida de carbonato cálcico medido en las mismas condiciones.

14.2.—Material y aparatos

14.2.1.—Aparato de Schreibles-Dietrich, según figura 14.1.

14.3.—Reactivos

14.3.1.—Ácido clorhídrico, $d \approx 1,10$.

14.3.2.—Carbonato de calcio.

14.3.3.—Solución de ácido sulfúrico 0,1N o aproximado, coloreada con rojo de metilo.

14.4.—Procedimiento

Según la concentración en carbonatos de la muestra pesar: 0,5 g cuando la riqueza esté comprendida entre el 50% y 100% expresado en carbonato cálcico.

1 g cuando la riqueza esté comprendida entre el 10% y el 50% expresado en carbonato cálcico.

1 g cuando la riqueza esté comprendida entre el 10% y el 50% expresado en carbonato cálcico.

2 g a 3 g cuando la riqueza sea inferior al 10% expresado en carbonato cálcico.

Una vez pesada la cantidad idónea de muestra a analizar introducirla en el frasco (4) del aparato de Schreibles-Dietrich, el cual estará provisto de un pequeño tubo de material irrompible conteniendo 10 ml de la solución 14.3.1. Conectar a continuación el frasco con el aparato. Girar la llave (5) tres veces de forma que el tubo (1) comunique con el exterior.

Por medio del tubo móvil (2), que está lleno de ácido sulfúrico coloreado (14.3.3.) y unido al tubo graduado (1), llevar el nivel del líquido a la graduación de cero. Girar la llave (5) de modo que haga comunicar los tubos (1) y (2) y comprobar el nivel a cero.

Previa inclinación del frasco (4), dejar pasar lentamente todo el ácido clorhídrico (14.3.1.) sobre la muestra. Igualar la presión bajando el tubo (2). Agitar el frasco (4) hasta que cese por completo el desprendimiento del gas carbónico.

Restablecer la presión reduciendo el líquido al mismo nivel en los tubos (1) y (2). Hacer la lectura pasados unos minutos, hasta que el volumen gaseoso permanezca constante.

Efectuar en las mismas condiciones un ensayo comparativo con 0,5 gramos de carbonato de calcio (14.3.2.).

14.5.—Cálculo

$$\% \text{CO}_2\text{Ca} = \frac{V \times 100}{T \times 2P}$$

siendo:

V = volumen, en ml, de CO_2 desprendido por la muestra.

T = volumen, en ml, de CO_2 desprendido por 0,5 gramos de CO_2Ca (14.3.2.).

P = peso, en gramos, de la muestra.

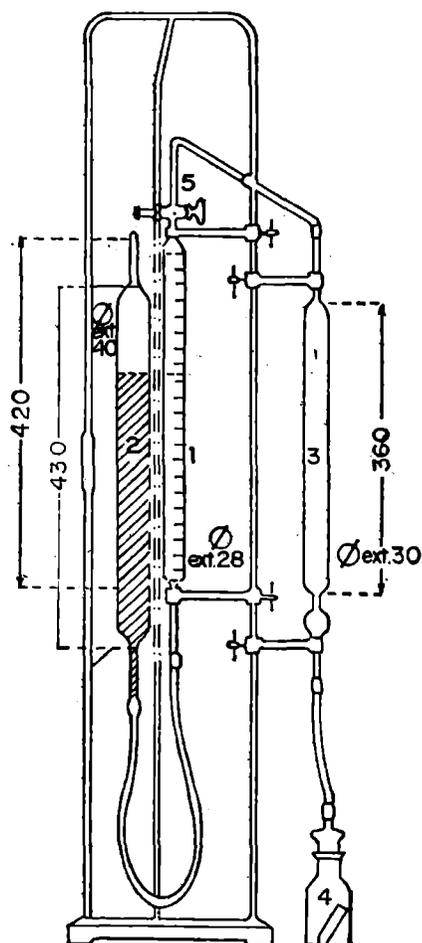
14.6.—Observaciones

14.6.1.—Cuando la muestra tomada es superior a 2 gramos introducir previamente 15 ml de agua destilada en el frasco (4) y mezclar antes de comenzar el análisis. Emplear el mismo volumen de agua para el análisis comparativo.

14.6.2.—Si se utiliza un aparato de un volumen diferente al de Scheibler Dietrich, es necesario adaptar la cantidad de muestra tomada de la ebullición y la sustancia a comparar, así como, el cálculo de resultados.

14.7.—Referencia

1.—Journal Officiel des Communautés Européennes. Núm. 155/18 de fecha de 12-7-1971.

15. — AFLATOXINA B₁**15.1. — Principio**

Extracción de la micotoxina con la mezcla acetonitrilo solución acuosa ClK 4 % (9 + 1), filtración y purificación de una parte alícuota con distintos solventes y cambios de pH. Evaporación del extracto limpio y redisolución en cloroformo. Separación de la toxina por cromatografía en capa fina y confirmación de la misma mediante reacción con ácido sulfúrico y ácido trifluoroacético y posterior cuantificación de la micotoxina por densitometría o por el método del límite de detección.

Este método permite detectar un mínimo de 5 µg/kg de aflatoxina B₁.

15.2. — Material y aparatos

- 15.2.1. — Balanza y microbalanza con precisión de 1 y 0,0001 mg respectivamente.
 15.2.2. — Molino.
 15.2.3. — Matraces erlenmeyer color ámbar, de 500 ml, cuello esmerilado 29/32 y tapón de vidrio color ámbar.
 15.2.4. — Agitador de vaivén o de muflaca.
 15.2.5. — Papel de filtro sin cenizas de 9 cm de diámetro, filtración rápida.
 15.2.6. — Embudos de filtración de aproximadamente 50 mm de diámetro interior y cuello corto.
 15.2.7. — Pipeta de 50 ml.
 15.2.8. — Pera de goma para succión adaptable a la pipeta anterior 15.2.7.
 15.2.9. — Embudo de decantación forma de pera color ámbar, de 150 ml, cuello esmerilado 14/23, con tapón de plástico inatacable por líquidos orgánicos y llave de teflón.
 15.2.10. — Jeringa hipodérmica de 50 ml con aguja formada por un tubo de teflón de 8-9 cm de largo y 2 mm diámetro interior o bien tubo de vidrio estrecho de 13-14 cm de largo y 5-6 mm de diámetro interior, este tubo tendrá un estrechamiento en uno de sus extremos de 2-3 cm de largo y 2 mm diámetro interior e irá conectado a una trompa de agua para vacío por medio de tubo de teflón.
 15.2.11. — Tubo de vidrio forma pera color ámbar, resistente al vacío (fig. 1).
 15.2.12. — Rotavapor.
 15.2.13. — Baño de agua regulable entre 20-100°C ± 1°C.
 15.2.14. — Bomba de vacío de membrana, con válvulas y membrana de teflón. La bomba llevará un medidor incorporado que permitirá regular una depresión entre 0-0,95 kg/cm².
 15.2.15. — Campana extractora de gases.

- 15.2.16. — Divisor de cromatoplasmas con 20 púas.
 15.2.17. — Bastidor de cromatoplasmas.
 15.2.18. — Estufa de desecación regulable entre 20-200°C ± 1°C.
 15.2.19. — Desecadores de vidrio y armarios desecadores con sílica gel como agente desecante.
 15.2.20. — Miniviales de 1 y 5 ml recubiertos con hoja de aluminio, tapón rosca y obturación de teflón.
 15.2.21. — Tubos de vidrio color ámbar de 7 ml capacidad útil, tapón rosca y obturación de teflón.
 15.2.22. — Microjeringas de 25 ó 50 µg con aguja fija cementada y punta cortada 90°, la punta del émbolo será de teflón.
 15.2.23. — Dispensador repetitivo adaptable a las microjeringas anteriores 15.2.22., el dispensador repetitivo permite descargar 1/50 de la capacidad total de la microjeringa al apretar el botón.
 15.2.24. — Secador de aire.
 15.2.25. — Cámara de separación cromatográfica de 210 × 88 × 210 mm aproximadamente, la cámara tendrá ranuras para inserción de cromatoplasmas de 20 × 20 cm y tapa botón esmerilada.
 15.2.26. — Pulverizador de reactivos con cámara de gas impulsor intercambiable.
 15.2.27. — Cámara de pulverización.
 15.2.28. — Lámpara ultravioleta con luz UV de longitud de onda larga 366 nm y luz-UV de longitud de onda corta 254 nm. La lámpara debe tener un filtro azul-violeta tipo UG-5 de SCHOTT Germany o equivalente a través del cual pasa la luz UV de 366 y 254 nm, este filtro azul-violeta tiene un paso de banda de 200-400 nm y un máximo de 330 nm. La lámpara debe tener una intensidad de luz a 366 nm de forma que puede verse claramente una mancha de Aflatoxina B₁ de 0,0004 µg por propia fluorescencia azul a la luz UV de 366 nm o bien de 0,0002 µg por fluorescencia amarilla a la luz UV de 366 nm después de haber pulverizado con solución acuosa de ácido sulfúrico al 25%, todo ello sobre una cromatoplasma después del desarrollo con el eluyente adecuado y situada la placa a una distancia de 10 cm de la lámpara.
 15.2.29. — Filtro amarillo claro para protección de los ojos en la observación de las cromatoplasmas a la luz UV, tipo CG-4 de Schott Germany o equivalente que deje pasar sólo la luz de 460 nm.
 15.2.30. — Espectrofotómetro de doble haz con rango de 180-800 nm.
 15.2.31. — Agitador para tubos.
 15.2.32. — Micropipetas de 2 y 250 µl.
 15.2.33. — Fluorodensitómetro.

15.3. — Reactivos

- 15.3.1. — Acetonitrilo.
 15.3.2. — Solución acuosa de Cloruro Potásico al 4% (p/v).
 15.3.3. — Isooctano.
 15.3.4. — Ácido clorhídrico 1N.
 15.3.5. — Cloroformo.
 15.3.6. — Cloroformo-Acetona (176 + 24).
 15.3.7. — Cloroformo-Eter Etilico-Ácido acético (170 + 30 + 10).
 15.3.8. — Tolueno-Cloroformo-Acetona (30 + 150 + 20).
 15.3.9. — Tolueno-Cloroformo-Acetona-Ac. fórmico 90% (30 + 150 + 20 + 0,5).
 15.3.10. — Cloroformo-Acetona-Propanol-2 (166 + 30 + 5).
 15.3.11. — Benceno-Cloroformo-Acetona (90 + 80 + 30).
 15.3.12. — Tolueno-Acetato de Etilo-Ac. fórmico 90% (100 + 90 + 10).
 15.3.13. — Tolueno-Acetato de Etilo-Cloroformo-Ac. fórmico 90% (70 + 50 + 50 + 20).
 15.3.14. — Benceno-Metanol-Ácido acético (180 + 10 + 10). (Mezclar Metanol-Ácido acético (10 + 10) con Benceno en la relación (180 + 10 + 10).
 15.3.15. — Cloroformo-Acetona (180 + 20).
 15.3.16. — Cloroformo-Acetona (186 + 14).
 15.3.17. — Solución de Ac. sulfúrico 98%-Agua destilada (1 + 3). Enfría antes de su uso.
 15.3.18. — Solución de ácido trifluoroacético 99%-Benceno o Cloroformo (1 + 1).
 15.3.19. — Eter etílico anhidro.
 15.3.20. — Patrón de Aflatoxina B₁, que debe estar guardado en frasco de vidrio color ámbar bien cerrado y a 4°C. Cuando vaya a emplearse debe estar a temperatura ambiente.
 15.3.21. — Solución de reserva patrón de aflatoxina B₁ en cloroformo. Preparar una solución que contenga 10 µg de Aflatoxina B₁/ml de Cloroformo. Medir el espectro de absorción entre 300-370 nm y medir la extinción (A) a 364 nm. Calcular la concentración de Aflatoxina B₁ en µg/ml según la fórmula siguiente:

$$\text{ug de Aflatoxina B}_1/\text{ml de solución} = \frac{312 \times A \times 1000}{20600}$$

Si se colocan en una cromatoplasma 5 µl de la solución anterior de patrón de Aflatoxina B₁, se desarrolla la cromatoplasma con uno de los solventes anteriores 15.3.6. - 15.3.16. y se examina una vez seca, a la luz UV de 366 nm: debe verse solamente una mancha y no será perceptible ninguna fluorescencia en el lugar donde inicialmente se ha colocado el volumen de 5 µl correspondiente a la solución patrón de Aflatoxina B₁.

15.3.22. — Solución de trabajo patrón de aflatoxina B₁ en Cloroformo. Preparar a partir de la solución 15.3.21., una solución de trabajo que contenga 5 µg de Aflatoxina B₁/ml de Cloroformo. Conservar como en 15.3.20., con un mínimo de superficie de evaporación.

15.3.23. — Solución patrón de Aflatoxina B₁ en Cloroformo, para ensayo del límite de detección. Preparar a partir de la solución 15.3.20., una solución que contenga 0,1 µg de Aflatoxina B₁/ml de cloroformo. Conservar como en 15.3.22.

15.3.24.—Cromatoplasmas tipo Macherey-Nagel Sil G-26HR con base de vidrio ya preparadas de 20 x 20 cm y 0,25 mm de espesor de capa formada por sílica gel con yeso (SO₄Ca) y una pequeña cantidad de material orgánico polímero o cromatoplasca equivalente.

Con un divisor de cromatoplasmas 15.2.16., dividir las placas en 20 franjas de 1 cm de ancho cada una. Eliminar el sílica gel sobrante y activarlas (colocadas en posición vertical), calentándolas a 110°C por espacio de 30 minutos. Guardarlas en desecador 15.2.19., hasta el momento de su uso en que deben estar a temperatura ambiente.

15.3.25.—Gas Nitrógeno puro.

15.4.—Procedimiento

15.4.1.—Pesar 60 g de muestra molida de forma que pase a través de un tamiz de 0,8 mm de luz de malla y homogeneizar y llevar el erlenmeyer 15.2.3. Añadir 180 ml de acetónitrilo y 20 ml de solución acuosa de cloruro potásico al 4%, tapar y agitar vigorosamente 30 minutos en agitador 15.2.4. Filtrar el extracto a través de papel de filtro 15.2.5. y recoger 50 ml de filtrado (cubrir el papel de filtro con vidrio de reloj durante la filtración). Tomar con pipeta 15.2.7., 50 ml de filtrado anterior y llevarlos al embudo de decantación 15.2.9. Añadir 50 ml de Isooctano, tapar y agitar 15-20 segundos, dejar separar capas y eliminar la capa superior de Isooctano con jeringa o tubo estrecho 15.2.10 (cuidando no aspirar la capa inferior de Acetonitrilo, aunque queda una pequeña cantidad de Isooctano). Repetir la operación anterior 3 veces con 50 ml de Isooctano cada vez y eliminar el Isooctano en cada lavado como anteriormente. Añadir a la capa de Acetonitrilo 12,5 ml de agua destilada y agitar. Añadir 25 ml de Cloroformo, tapar y agitar 15-20 segundos. Dejar separar capas. Filtrar la capa inferior de Cloroformo-Acetonitrilo a través de papel de filtro 15.2.5., lleno hasta el borde de Sulfato sódico anhidro. Recoger el filtrado en el tubo de forma de pera 15.2.11. Añadir a la capa acuosa que queda en el embudo de decantación 15.2.9., 1 ml de ácido clorhídrico 1N y agitar. Añadir 20 ml de Cloroformo, tapar y agitar 15-20 segundos, dejar separar capas y filtrar la capa inferior cloroformica pasándola a través del sulfato sódico anhidro anterior y reuniendo este filtrado con el que ya tenemos en el tubo 15.2.11. Repetir la extracción de la capa acuosa 3 veces con 10 ml de Cloroformo cada vez y filtrar cada extracción como anteriormente reuniendo todos los filtrados en el tubo 15.2.11.

15.4.2.—Llevar el tubo 15.2.11., a rotavapor 15.2.12., y evaporar hasta unos 2 ml con vacío (depresión = 0,6-0,7 kg/cm²) y a 50-55°C. Enfriar, lavar las paredes del tubo con 3 porciones de 1 ml de Cloroformo llevando el líquido a la parte estrecha graduada y continuar la evaporación en el rotavapor hasta 0,1-0,2 ml con vacío (depresión = 0,7-0,8 kg/cm² y a 50—55°C). Cada vez que se interrumpa el vacío hay que introducir nitrógeno.

Enfriar y añadir Cloroformo hasta la división 1 ml de la parte estrecha graduada del tubo 15.2.11. Tapar y llevar el agitador de tubos 15.2.31., redisolviendo y homogeneizando la solución.

El volumen final del extracto para la cromatografía en capa fina será de 1 ml y llamaremos a este extracto: Solución A.

Llevar el extracto solución A, a miniviales 15.2.20 ó tubos 15.2.21.

ANÁLISIS CUALITATIVO

15.5.—Desarrollos

15.5.1.—En una línea imaginaria situada a 4 cm de la base de la cromatoplasca 15.3.24., colocar con 15.2.22. y 15.2.23. (sin deteriorar la superficie del sílica gel) los siguientes volúmenes a intervalos de 1 cm; cada uno en una franja y a aproximadamente 0,5 cm de los lados de la misma: dos de 3 µl y dos de 5 µl de muestra extracto solución A (no emplear la franja de los extremos de la cromatoplasca).

En uno de los volúmenes correspondientes a 3 µl y a 5 µl superponer adecuadamente con 15.2.22., y 15.2.23., 3 µl de la solución de trabajo patrón de Aflatoxina B₁ 15.3.22. (patrón interno). En otro punto aparte colocar 3 µl de la solución de Aflatoxina B₁ 15.3.22. (patrón externo). Hay que cuidar de que el diámetro de las manchas una vez efectuada la deposición total, no será superior a 2-2,5 mm de diámetro por lo que con la microjeringa 15.2.22., adaptada al dispensador repetitivo 15.2.23 se colocarán los volúmenes totales en fracciones o porciones de volumen y secando cada fracción o porción con aire caliente (no más de 35-40°C) 15.2.24., antes de colocar la siguiente. No trabajar con luz natural ni con luz artificial directa.

15.5.2.—Trazar en la cromatoplasca (con lápiz de grafito) una línea transversal que indicará la altura hasta donde debe llegar el frente de solvente de desarrollo; dicha altura estará contada a partir de la línea imaginaria donde se han colocado los volúmenes de muestra extracto solución A y los patrones. La altura será en general de 11 cm.

15.5.3.—En las cámaras de separación cromatográfica 15.2.25. colocar 200 ml aproximados de solvente de desarrollo 15.3.6., que alcanzarán en la cámara unos 1,4 cm de altura, tapar y dejar en reposo 5-10 minutos. Introducir después la cromatoplasca (ésta estará a temperatura ambiente) en el interior de la cámara 15.2.25., en perfecta posición vertical y de forma que la cara con sílica gel esté enfrente a unos 3-4 cm de la pared de la cámara de desarrollo 15.2.25. Tapar y desarrollar en cámara insaturada hasta que el frente de solvente alcance la altura indicada en 15.5.2. La temperatura de trabajo en el desarrollo será de 23-24°C. No trabajar con luz natural ni con luz artificial directa.

15.5.4.—Sacar la cromatoplasca y llevar a vitrina de gases oscura 15.2.15. Dejar secar el aire. Forzar el secado final con una suave corriente de aire moderadamente caliente (no más de 35-40°C) 15.2.24. o con corriente de Nitrógeno.

15.6.—Detección

15.6.1.—Colocar la cromatoplasca sobre fondo negro, en habitación oscura y a 10 cm de distancia de la lámpara UV 15.2.28.

Examinar (con el filtro amarillo 15.2.29.) la cromatoplasca a la luz UV de 366 nm. A 366 nm la Aflatoxina B₁ aparece con una mancha azul brillante fluorescente y límite de detección de 0,0004 µg/mancha.

Pulverizar la cromatoplasca con solución de Ácido sulfúrico-Agua (1 + 3) 15.3.17., y examinarla de nuevo a la luz UV de 366 nm. A 366 nm y en estas condiciones la Aflatoxina B₁ aparece con una mancha amarillo brillante fluorescente y límite de detección de 0,0002 µg/mancha.

Comparar la mancha de extracto solución A problema con el standard interno de Aflatoxina B₁ correspondiente y por el mismo R_f, fluorescencia azul propia y fluorescencia amarilla

obtenida con la solución de Ácido sulfúrico 15.3.17 a 366 nm respectivamente, proceder a la inicial identificación.

Si la cromatoplasca se observa a la luz UV de 254 nm, la fluorescencia azul y amarillo brillante se convierte en azul y amarillo muy apagado y sin fluorescencia con un límite de detección mucho mayor y no interesante para el análisis.

15.7.—Conformación

15.7.1.—Confirmar la presencia de Aflatoxina B₁ en la muestra problema, por aplicación de la transformación de la Aflatoxina B₁ en Aflatoxina B_{2a} por medio del ácido trifluoroacético.

Tomar dos cromatoplasmas 15.3.24. y proceder en cada una de ellas según se indica a continuación:

Seleccionar dos zonas de la cromatoplasca (zona A y zona B). En la zona A colocar los volúmenes de muestra extracto solución igual como se menciona en la técnica (problema, problema + patrón interno de Aflatoxina B₁, patrón externo de Aflatoxina B₁). En la zona B proceder de igual manera con las mismas muestras que las de la zona A. Tapar protegiendo la zona A con placa de vidrio y en cada una de las manchas de la zona B superponer con micropipeta 15.2.32., 2 µl de solución de Ácido trifluoroacético 15.3.18., recién preparada. Dejar reaccionar 5 minutos (proteger la cromatoplasca de la luz). Secar la cromatoplasca (protegerla de la luz) con corriente de aire caliente (no más de 35-40°C) durante 10 minutos o bien con corriente de Nitrógeno durante 20 minutos. Proceder al desarrollo de las dos cromatoplasmas tal como se indica en 15.5.3., y con los solventes de desarrollo 15.3.6., y 15.3.7., respectivamente.

Proceder después como en 15.5.4.

Examinar (con el filtro amarillo 15.2.29.) la cromatoplasca a la luz UV de 366 nm previo haber colocado la cromatoplasca sobre fondo negro, en habitación oscura y a 10 cm de distancia de la lámpara UV 15.2.28.

Comparar la zona A con la zona B y los problemas y standards interno y externo correspondientes. En la zona A la Aflatoxina B₁ estará en la forma y el R_f habitual (mancha con fluorescencia azul brillante). En la zona B la Aflatoxina B₁ que ahora estará transformada en B_{2a} aparecerá con mancha de fluorescencia azul brillante pero muy cerca de la línea imaginaria donde se han colocado inicialmente los volúmenes, el R_f que tendrá ahora la Aflatoxina B_{2a} será de aproximadamente 1/4 del R_f como aparece la Aflatoxina B₁ en la zona A.

Proceder después al pulverizado de las cromatoplasmas con la solución acuosa de Ácido sulfúrico 15.3.17., y volver a comparar observando de nuevo a la luz UV de 366 nm. La Aflatoxina B₁ en la zona A y su derivado Aflatoxina B₂ en la zona B aparecerán con una mancha de fluorescencia amarillo brillante.

Si la mancha sospechosa en la muestra problema que ha cumplido las condiciones mencionadas en 15.6 cumple también las condiciones de 15.7 es que es Aflatoxina B₁.

ANÁLISIS CUANTITATIVO

15.8.—Método del límite de detección

15.8.1.—Tomar con micropipeta 15.2.32., 250 µl del extracto solución A y añadir 250 µl de Cloroformo. Llamaremos a esta nueva solución: extracto solución B.

15.8.2.—Preparar fresca la solución standard de Aflatoxina B₁ 15.3.23.

15.8.3.—En una línea imaginaria situada a 4 cm de la base de una cromatoplasca 15.3.24., depositar teniendo en cuenta lo que se indica en 15.5.1. de 1 a 10 µl de extracto solución B. A continuación depositar de la misma forma de 1 a 8 µl de solución patrón de Aflatoxina B₁ 15.2.23., recién preparada.

15.8.4.—Proceder al desarrollo tal como se indica en 15.5.3., y con el solvente de desarrollo que se haya empleado para el análisis cualitativo. Atender 15.5.4.

15.8.5.—Pulverizar la cromatoplasca con la solución acuosa de Ácido sulfúrico 15.3.17 y procediendo como en 15.6.1., examinar (con el filtro amarillo 15.2.29.) la cromatoplasca a la luz UV de 366 nm. Situar en la zona de la Aflatoxina B₁ que aparecerá con fluorescencia amarilla y buscar cuál es la última mancha de la Aflatoxina B₁ que se ve tanto en la muestra problema contaminada como en el patrón de Aflatoxina B₁ depositado (para el patrón la última mancha de micotoxina que se ve debe corresponder a 0,0002 µg aproximadamente). Efectuar interpolación entre dos volúmenes si es necesario. La última mancha de la Aflatoxina B₁ que se ve en la muestra contaminada corresponderá a los mismos µg de Aflatoxina B₁ de la última mancha que se ve en el standard depositado.

Cálculo

$$\text{Fórmula } 1 \mu\text{g de Aflatoxina B}_1/\text{kg de muestra} = \frac{L \times V \times 10^6 \times 4}{a \times 60 \times P}$$

L = límite de detección en µg correspondiente a la última mancha que se ve en el patrón depositado.

V = volumen en ml de la muestra extracto solución A (1 ml).

a = volumen en µl correspondiente a la última mancha que se ve de Aflatoxina B₁ en la muestra contaminada.

P = peso de la muestra en g.

15.8.6.—Si en la muestra contaminada la Aflatoxina B₁ se ve en todas las manchas proceder a tomar con micropipeta 15.2.32., 250 µl del extracto solución B y añadir 2250 µl de cloroformo. Llamaremos a esta nueva solución extracto solución C.

15.8.7.—Proceder como en 15.8.3. a 15.8.5., pero con el extracto solución C.

Cálculo

µg de Aflatoxina B₁/kg de muestra = aplicar la fórmula 1 y multiplicar el resultado por 10.

15.8.8.—Si en la muestra contaminada la Aflatoxina B₁ se ve en todas las manchas proceder a tomar con micropipeta 15.2.32., 250 µl del extracto solución C y añadir 2250 µl de Cloroformo. Llamaremos a esta nueva solución extracto solución D.

15.8.9.—Proceder como en 15.8.3. a 15.8.5., pero con el extracto solución D.

Cálculo

μg de Aflatoxina B₁/kg de muestra = aplicar la fórmula 1 y multiplicar el resultado por 100.

15.8.10.—Y así sucesivamente con la misma secuencia de dilución y la misma secuencia de factor de cálculo que se deduce de los pasos anteriores.

15.8.11.—Si hay duda en la última mancha de Aflatoxina B₁, que se ve correspondiente al volumen de 1 ó 2 μl ; efectuar la dilución correspondiente y repetir un nuevo desarrollo para fijar bien la última mancha de Aflatoxina B₁, que se ve asegurándose de que la anterior ya no se ve.

ANÁLISIS CUANTITATIVO**15.9.—Método fluorodensitométrico**

15.9.1.—Teniendo presente que la Aflatoxina B₁ tiene unas características espectrofotométricas propias sobre placa de longitud de onda de emisión de 430 nm y longitud de onda de excitación de 365 nm y teniendo en cuenta que la Aflatoxina B₂ tiene unas características espectrofotométricas del complejo procedente de la reacción química sobre placa de longitud de onda de emisión de 425 nm y longitud de onda de excitación de 365 nm; la intensidad de fluorescencia de las manchas de aflatoxina B₁ se medirá con un fluorodensitómetro y comparando la intensidad de fluorescencia de las manchas del extracto con las del patrón se buscará la cantidad de Aflatoxina B₁ que se encuentra en las manchas correspondientes al extracto. Después con el correspondiente factor de dilución se calculará la cantidad de Aflatoxina B₁ presente en la muestra, expresando el resultado en μg de Aflatoxina B₁/kg de muestra problema.

15.10.—Observaciones

15.10.1.—El análisis cuantitativo por el método del límite de detección también puede llevarse a cabo tomando el límite de detección de la Aflatoxina B₁ por observación de la fluorescencia azul de la luz U.V. de 366 nm, tanto para muestra contaminada como para patrón, sin embargo este límite es más alto que se sitúa en 0,0004 μg /mancha y por tanto disminuye la sensibilidad.

15.10.2.—Si en el patrón de Aflatoxina B₁ 15.3.23, depositado en el análisis cuantitativo por el método del límite de detección, se ven todas las manchas, proceder a diluirlo en una concentración de 0,07 $\mu\text{g}/\text{ml}$ por ejemplo y repetir de nuevo con esta solución.

15.10.3.—No demorar tiempo en los distintos pasos analíticos y en especial para la cuantificación por el método del límite de detección en donde las cantidades de Aflatoxina B₁ son bajas y puede haber pérdidas importantes.

15.10.4.—Con el método descrito, las identificaciones y confirmaciones de Aflatoxina B₁ son buenas; sin embargo, puede darse el caso de que según la naturaleza del producto y su estado de conservación, tipo de cultivo y tratamientos previos como primera materia o bien gran heterogeneidad como ocurre en un pienso compuesto; el analista puede encontrarse alguna vez con problemas de identificación por aparición de interferencias molestas en la zona de la Aflatoxina B₁; a continuación se describen algunas formas de subsanar este inconveniente esporádico:

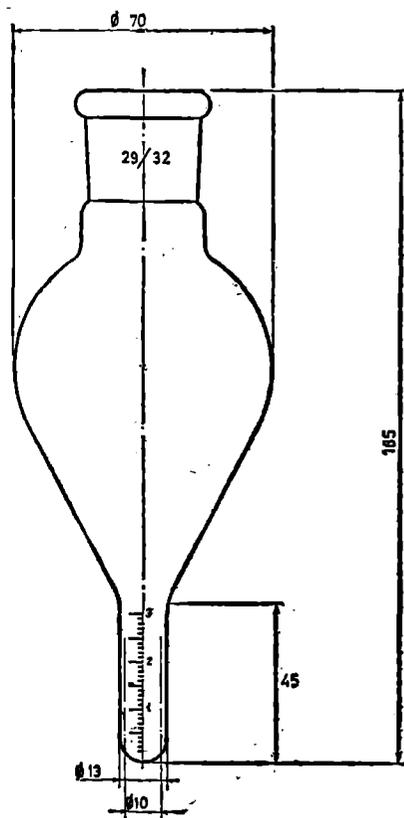
- 1) Emplear otros solventes de desarrollo 15.3.8. a 15.3.16.
- 2) Efectuar un doble desarrollo en la misma dirección y con el mismo solvente de desarrollo (previo secar la cromatoplaaca después del primer desarrollo).
- 3) Efectuar un doble desarrollo en la misma dirección pero con dos solventes de desarrollo distintos (previo secar la cromatoplaaca después del primer desarrollo).
- 4) Efectuar un primer desarrollo con éter etílico anhidro hasta una altura de 12 cm, secar la cromatoplaaca y desarrollar después en la misma dirección con uno de los solventes que desplaza adecuadamente la Aflatoxina B₁. Esta forma 4) sólo debe hacerse en caso muy necesario puesto que cuando las contaminaciones con Aflatoxina B₁ son bajas puede haber disminución de sensibilidad por falta de compatibilidad en la mancha de Aflatoxina B₁ desarrollada. Sin embargo esta forma 4) es muy útil cuando se analiza Manioc o Mandioca o productos similares que contienen una sustancia llamada Scopoletina, esta sustancia tiene una fluorescencia azul brillante muy intensa a la luz UV de 366 nm y en un desarrollo normal la Scopoletina se sitúa en la zona de la Aflatoxina B₁, enmascarando la presencia de ésta y pudiendo prestarse a confusión. Aunque la Scopoletina no aparece como mancha con fluorescencia amarillo brillante a la luz UV de 366 nm después de pulverizar la cromatoplaaca con la solución acuosa de Ácido sulfúrico 15.3.17., y por tanto se descarta la posibilidad de confundirla con Aflatoxina B₁, al aparecer la Scopoletina en la zona de la Aflatoxina B₁, irremediablemente la identificación de este caso de contaminación de la muestra. Por tanto el primer desarrollo con éter etílico anhidro desplaza a la Scopoletina significativamente y en cambio desplaza muy poco a la Aflatoxina B₁, una vez efectuado este primer desarrollo y después de secar la cromatoplaaca, se efectúa el desarrollo definitivo con uno de los solventes de desarrollo indicados anteriormente 15.3.6. a 15.3.16.: la Aflatoxina B₁ es desplazada adecuadamente y la Scopoletina también pero éste queda ya fuera de la zona correspondientes a la Aflatoxina B₁ después del desarrollo definitivo.

Esta forma 4) es útil también cuando hay problemas de análisis en productos conteniendo clorofilas, por ejemplo en piensos compuestos que contienen más de un 10% de harina de alfalfa, sin embargo, el analista debe efectuar primero un análisis normal tal como se indica en la técnica descrita y juzgar después si es necesario emplear esta forma 4).

5) Efectuar una mayor dilución de la muestra extracto solución A, llevando el volumen a 2-3 ml sin embargo, ello se traduce en una menor sensibilidad en cuanto a la mínima concentración detectable de Aflatoxina B₁, aumentando los valores de 4-6 $\mu\text{g}/\text{kg}$ indicados como mínimo detectable de esta micotoxina.

15.11.—Referencias

1. Alberto Gimeno (1979). J. Assoc. Off. Anal. Chem. 62, 579-585.
- 2.—Roberts, B. A., Patterson, D. S. P. (1975). J. Assoc. Off. Anal. Chem. 58, 1178-1181.
- 3.—Alberto Gimeno (1980). J. Assoc. Off. Anal. Chem. 63, 182-186.
- 4.—Stoloff, L., Neshomit, S., Yin, L., Rodricks, J. V., Stack, M., Campbell, A. D. (1971). J. Assoc. Off. Anal. Chem. 54, 91-97.



CAPACIDAD TOTAL 200 cc.

FIG. 1

ESCALA 1:1

ANEXO VIII.—PRODUCTOS ORGANICOS FERTILIZANTES**1.—PREPARACION DE LA MUESTRA****1.1.—Principio**

Este método establece las condiciones generales de preparación de la muestra; las de carácter particular están indicadas en los métodos correspondientes.

1.2.—Procedimiento

Abrió el recipiente y verter el contenido sobre un papel satinado.

Tomar mediante cuarteo, unos 20 g de muestra pesándola sobre un pesasustancias de unos 60 ml y determinando en el mismo su humedad según el método oficial n.º 2.

A continuación, previa desecación si es necesario, triturar el resto manualmente o por medio de un molinillo eléctrico, evitando calentamiento excesivo y usando la cantidad necesaria para que se realice una óptima molienda.

De esta muestra fina tomar las distintas porciones para el análisis.

2.—HUMEDAD (Pérdida de peso a 105°C)**2.1.—Principio**

El agua que contiene la muestra se determina por desecación en estufa.

El método no es aplicable a muestras que producen sustancias volátiles diferentes del agua a la temperatura de desecación.

2.2.—Material y aparatos

2.2.1.—Pesasustancias capaz para 60 cm³.

2.2.2.—Estufa con regulación de temperatura a 105°C.

2.2.3.—Desecador.

2.3.—Procedimiento

Inmediatamente después de abrir el recipiente, pesar con precisión de mg alrededor de 20 g de muestra en un pesasustancias previamente tarado.

Colocar en estufa a 105°C \pm 1°C hasta peso constante, procurando no introducir nuevas muestras en la estufa durante la última fase de secado.

Determinar la pérdida de peso para expresar el resultado en %.

5.—CENIZAS

2.4.—Expresión de los resultados

Expresar los resultados sobre materia seca o sobre producto total.

2.5.—Referencias

- 1.—Ministerio de Agricultura. Métodos Oficiales de Análisis de Fertilizantes. Madrid, 1974.
- 2.—AFNOR, 1976. Produits organiques Supports et Milieux de Culture. Norma U44-171.

3(b).—MATERIA ORGANICA TOTAL (por oxidación)

3(b).1.—Principio

Oxidar la materia orgánica en condiciones bien definidas por medio de una solución concentrada sulfo-crómica, valorando el exceso por retorno.

Aplicable a todos los abonos que no contengan más sustancias reductoras que la propia materia orgánica.

3(b).2.—Material y aparatos

- 3(b).2.1.—Estufa regulable a 105°C.
- 3(b).2.2.—Baño de agua.
- 3(b).2.3.—Agitador magnético.

3(b).3.—Reactivos

3(b).3.1.—Solución oxidante. Pesar exactamente 15 g. de anhídrido crómico cristalizado y disolverlos en un matraz con 34 cm³ de agua destilada. Añadir lentamente y agitando 166 cm³ de SO₄H₂ (d = 1,84), homogeneizar y guardar al abrigo de la humedad.

3(b).3.2.—Solución valorada de sulfato ferroso amónico N/5. Pesar 19,610 g de sulfato ferroso-amónico cristalizado, colocarlos en un matraz aforado de 250 cm³ y disolverlos con 150 cm³ de SO₄H₂ puro. Agitar y enrasar a 250 cm³ con agua destilada hervida y fría. Esta solución debe estar recientemente preparada y valorada para cada serie de muestras.

3(b).3.3.—Solución sulfúrica de difenilamina. Disolver 0,5 g de difenilamina en polvo, en 200 cm³ de agua destilada. Añadir lentamente 100 cm³ de SO₄H₂ (d = 1,84), homogeneizar y guardar en frasco tapado.

3(b).3.4.—Fluoruro de sodio pulverizado.

3(b).4.—Procedimiento

Pesar exactamente de 100 a 500 mg de muestra perfectamente triturada y homogeneizada según el contenido previsto en materia orgánica que se sospeche tiene el producto, de acuerdo con la tabla siguiente:

Contenido aproximado en materia orgánica (%)	10	20	30	40	50	60
Cantidad de muestra a pesar en miligramos	500	300	200	150	100	100

Introducir la muestra exactamente pesada en un tubo de ensayo de 25 cm³ ayudándose con una pipeta que contenga 10 cm³ de solución oxidante añadiendo poco a poco para evitar una ebullición violenta. Agitar suavemente el tubo así preparado, colocándolo en un baño de agua a ebullición.

Después de minuto y medio de inmersión, tiempo necesario para que los tubos estén a la temperatura del baño, agitar, y dejar en reposo cinco minutos y repetir esta operación tres veces más.

Sacar los tubos del baño y dejar enfriar a la temperatura ambiente durante 30 minutos.

Trasvasar cuantitativamente el contenido del tubo a un matraz aforado de 250 cm³ con ayuda de agua destilada, enfriar a temperatura ambiente, enrasar y homogeneizar.

Tomar con una pipeta 50 cm³ de la solución anterior y colocarlos en un matraz erlenmeyer de 250 cm³, añadiendo 160 cm³ de agua destilada, 2 g de fluoruro sódico y 8 gotas de solución de difenilamina.

Valorar con la solución de sulfato ferroso amónico agitando con agitador magnético. El color vira lentamente del marrón al azul violeta, a punto de equivalencia queda marcado por el paso brusco del azul violeta al verde.

Realizar simultáneamente un ensayo en blanco.

3(b).5.—Cálculo

$$\% \text{ de materia orgánica} = 1,034 (N-n) = \frac{250 \times 100}{50 \times m}$$

siendo:

m = peso, en mg, de la muestra a ensayar.

N = volumen, en ml, de sulfato ferroso 0,2 N gastados en el ensayo en blanco.

n = volumen, en ml, de sulfato ferroso 0,2 N gastados en la muestra ensayada.

3(b).6.—Referencias

- 1.—AFNOR, 1976. Produits organiques. Supports et Milieux de Culture. Norma U 44-161.

5.1.—Principio

Calcificación directa a 540°C.

5.2.—Material y aparatos

- 5.2.1.—Cápsula o crisol.
- 5.2.2.—Baño de arena.
- 5.2.3.—Varilla de vidrio de bordes redondeados.
- 5.2.4.—Mufia u horno eléctrico.
- 5.2.5.—Balanza de precisión.
- 5.2.6.—Desecador.

5.3.—Reactivos

Agua destilada y desionizada.

5.4.—Procedimiento

Pesar, con precisión de 0,1 mg, 3-4 gramos de la muestra preparada según el método oficial n.º 1, desecando a 100-105°C. Enfriar en desecador y pesar sobre crisol.

Introducir en la mufia u horno manteniéndolo durante 3-4 horas a 540°C. Enfriar hasta temperatura ambiente.

A continuación lavar el residuo con 2 ml de agua destilada y desionizada, disgregando con la varilla de cristal. Evaporar el agua en el baño de arena e introducir nuevamente en la mufia.

Esta operación se repetirá hasta conseguir cenizas blancas tras lo cual se enfría en desecador y se pesa.

En caso necesario utilizar un ml de ácido nítrico para facilitar la calcificación total.

5.5.—Cálculos

$$\% \text{ cenizas} = \frac{P - C}{m} \times 100$$

siendo:

P = peso, en gramos, de las cenizas más el crisol.

C = peso, en gramos, del crisol.

m = peso, en gramos, de la muestra desecada.

13.—FOSFORO TOTAL

13.1.—Principio

Tratar el producto orgánico fertilizante con un ácido fuerte para solubilizar el fosfórico y precipitar con ácido citromolítico y quinoleína, recogiendo y pesando el precipitado amarillo de fosfomolibdato de quinoleína, del que se deduce el contenido en P₂O₅.

Se puede precipitar con un reactivo único denominado quimociaco, que contiene los ácidos molibdico, cítrico y la quinoleína.

Es aplicable a todos los productos orgánicos fertilizantes en que se precisa determinar lo que se denomina fosfórico total.

13.2.—Material y aparatos

- 13.2.1.—Filtro G-4 con poros de 5 a 15 micras de diámetro.
- 13.2.2.—Trompa de vacío.
- 13.2.3.—Papel de fibra de vidrio.
- 13.2.4.—Reactor.

13.3.—Reactivos

- 13.3.1.—Ácido nítrico concentrado.
 - 13.3.2.—Ácido sulfúrico concentrado.
 - 13.3.3.—Nitrato sódico o potásico.
 - 13.3.4.—Reactivo quimociaco. Disolver 70 g de molibdato sódico dihidratado en 10 cm³ de agua. Disolver 60 g de ácido cítrico en una mezcla de 65 cm³ de HNO₃ y 150 cm³ de agua y enfriar. Añadir gradualmente la disolución molibdica a la cítrica-nítrica agitando.
- Disolver 5 g de quinoleína sintética en una mezcla de 35 cm³ de ácido nítrico y 100 cm³ de agua. Añadir gradualmente esta disolución a la molibdica cítrica-nítrica mezclando y dejando en reposo veinticuatro horas. Filtrar, añadir 280 cm³ de acetona, diluir a un litro con agua y mezclarlo. Guardar en frascos de polietileno.

13.4.—Procedimiento

Pesar 1 g de muestra en un matraz de 200 cm³ y añadirle primero unos 5 cm³ de ácido nítrico y después 20 a 30 cm³ de ácido sulfúrico. Dejar en digestión y calentar gradualmen-

te evitando la reacción violenta. Añadir 2 a 4 g de nitrato sódico o potásico en pequeñas porciones, hervir, y cuando la disolución esté casi incolora, añadir otra pequeña cantidad de nitrato.

Cuando la disolución esté decolorada, enfriar y añadir 150 cm³ de agua, hirviendo unos pocos minutos.

Dejar enfriar la disolución y transferir a un matraz aforado de 250 cm³. Enrasar, mezclar y filtrar a través de un filtro seco.

En un erlenmeyer de 500 cm³, pipetear una alícuota del Filtrado que no contenga más de 25 mg de P₂O₅, diluir a unos 100 cm³ con agua, añadir 50 cm³ del reactivo quimicoceco, cubrir con vidrio de reloj, colocar en placa caliente con vitrina bien ventilada y hervir durante un minuto, enfriar a temperatura ambiente, agitar cuidadosamente formando remolinos tres o cuatro veces durante el enfriamiento.

Filtrar por un gooch con papel de filtro de fibra de vidrio previamente desecado a 250°C y tarado, lavar cinco veces con porciones de 25 cm³ de agua.

Desecar el crisol con su contenido a 250°C durante treinta minutos, enfriar en desecador y pesar el fosfomolibdato de quinoleína (C₉H₇N₃ H₃ (PO₄ 12 MbO₃). Efectuar paralelamente un ensayo en blanco.

13.5.—Cálculos.

$$\% \text{ de P}_2\text{O}_5 = \frac{(M - B) \cdot 3'207}{P}$$

siendo:

P = peso, en g, de la muestra contenida en la alícuota.
M = peso, en g, del precipitado de fosfomolibdato de quinoleína.
B = peso, en g, del precipitado del ensayo en blanco.

13.6.—Observaciones

13.6.1.—En lugar de gooch y papel de fibra de vidrio puede utilizarse un crisol filtrante de 5-15 micras de diámetro de poros, tal como un G-4.

13.6.2.—En vez de desecar el precipitado a 250°C durante media hora puede desecarse a 150°C durante una noche.

13.6.2.—El tiempo de digestión puede reducirse utilizando un reactor.

13.7.—Referencias

- 1.—Métodos Oficiales de la A.O.A.C. Edición 1970, núms. 2.016 y 2.023 a 2.025.
- 2.—Lotti, G. y Galoppini, C. Guida alle analisi Chimico agraria, pág. 359 «Determinazione dell'anidride fosforica totale (método Oficial)». Bologna, 1967.

16.—POTASIO SOLUBLE EN AGUA (por fotometría de llama)

16.1.—Principio

Se funda en la comparación de la medida de intensidades de emisión de átomos excitados en una llama, de una disolución problema desconocida y de una disolución patrón de concentración conocida.

Para evitar interferencias, eliminar los metales pesados por precipitación con oxalato amónico y los aniones interferentes por retención mediante resinas cambiadoras.

Se aplica a todos los productos orgánicos fertilizantes.

16.2.—Material y aparatos

16.2.1.—Matraces aforados de 250 y 500 cm³ de capacidad.

16.2.2.—Columna de cambio iónico. Puede utilizarse columna de vidrio de cromatografía de 30,5 cm. y 1,9 cm. de diámetro interno, con llave o válvula en el fondo para controlar el caudal del líquido.

16.2.3.—Fotómetro de llama.

16.3.—Reactivos

16.3.1.—Disolución de oxalato amónico. Disolver 40 g. de C₂O₄ (NH₄)₂ en un litro de H₂O.

16.3.2.—Indicador rojo de metilo: Disolver 0,2 g. de rojo de metilo en 10 ml. de alcohol.

16.3.3.—Acido nítrico diluido (1 + 10).

16.3.4.—Utilizar una resina de cambio catiónico de basicidad intermedia o débil, tal como amberlita IR-4B, duolita A-7 o duolita A-41 de acídica o permuta 5 o equivalente, preparada como sigue: Colocar 450 g. de resina en vaso de cuatro litros y añadir dos litros de NaOH al 5 por 100. Agitar treinta minutos con agitador electrónico. Dejar sedimentar la resina y decantar la disolución de NaOH. Repetir el tratamiento con NaOH al 5 por 100 dos veces más y decantar la disolución de NaOH después del tratamiento final. Añadir dos litros de H₂O a la resina, agitar unos minutos, dejar la resina sedimentar y decantar al H₂O de lavado. Repetir tres-cuatro veces. La resina quedará ahora en la forma de base libre. Regenerar a la forma NO₃ tratando tres veces con NO₃H al 5 por 100 en la misma forma que como con la disolución de NaOH. Lavar la resina con H₂O hasta que el agua de lavado alcance pH 2 o superior mediante el lavado por retroceso en la columna o agitando y decantando en un vaso grande. Guardar la resina cubierta de H₂O en frasco tapado.

16.3.5.—Nitrato o cloruro potásico. Recristalizar dos veces a partir de H₂O la sal de grado reactivo y desecar cinco horas a 105°C.

16.3.6.—NO₃Li.

16.4.—Procedimiento

16.4.1.—Preparación de la columna: Colocar un taco de lana de vidrio en el fondo de la columna, cerrar la válvula y añadir H₂O asta 10 cm. de altura. Transferir una porción de resina a un vaso de 200 cm³ y suspender en H₂O. Transferir la suspensión a la columna y ajustar la altura de la resina compacta a 20 cm. Drenar el exceso de H₂O hasta que queda a 2,5 cm. de la parte superior. Regenerar la resina después de que se hayan pasado 10 alícuotas sucesivas, excepto con amberlita IR-4B con la que pueden utilizarse 20 alícuotas. Para el Na, regenerar después de hacer pasar cinco alícuotas.

16.4.2.—Preparación de la disolución problema: Pesar una cantidad de muestra que contenga unos 15 mg. de K₂O, añadir 125 cm³ de H₂O y 50 cm³ de disolución C₂O₄ (NH₄)₂ y hervir treinta minutos: Enfriar, diluir hasta volumen, mezclar y pasar por filtro seco.

16.4.3.—Preparación de la curva patrón: Disolver 1,2931 g. de NO₃K (o 0,9335 g. de ClK) en H₂O y diluir hasta 500 cm³ (1.000 p.p.m. de K). Preparar las disoluciones patrón por dilución cubriendo los límites 0-50 p.p.m. de K a intervalos no superiores a 10 p.p.m. y añadiendo la cantidad adecuada de NO₃Li si va a utilizarse un instrumento con patrón interno. Preparar la curva patrón de emisión frente a concentración ajustando el instrumento de forma que 50 p.p.m. de K dé lecturas próximas al centro de la escala. Atomizar porciones de disoluciones patrón hasta que las lecturas para las series sean reproducibles.

16.4.4.—Determinación. Transferir una alícuota de 10 cm³ de disolución de la muestra a un vaso de 250 cm³. Añadir una gota de rojo de metilo y neutralizar con NO₃H (1 + 10). Ajustar el nivel de H₂O en la columna hasta la parte superior de la resina y transferir cuantitativamente la alícuota a la columna, abrir la llave para obtener una proporción de flujo de dos gotas/seg., recoger el afluente en matraz aforado de 250 cm³. Lavar la alícuota dentro de la resina con dos-tres pequeñas porciones de H₂O. Recoger 50-75 de efluente, luego abrir la llave y recoger 100 cm³ adicionales vertiendo H₂O en la columna, procurando que el nivel de H₂O no quede por debajo de la parte superior de la columna de resina. Diluir hasta volumen y mezclar (si se utiliza instrumento con patrón interno, se necesita añadir la cantidad precisa de NO₃Li antes de diluir a volumen).

Atomizar porciones de muestra varias veces para obtener lecturas medias seguras para cada disolución. Determinar las p.p.m. de K a partir de la curva patrón. (La temperatura de las disoluciones patrón y de la muestra no deben diferir en más de 2°C).

Para comprobar, pesar 1,5058 g. de fátalo ácido de potasio (patrón primario) y transferir a un matraz aforado de 250 ml. Añadir 0,5 g. de PO₃H (NH₄)₂ y proceder como en 16.4.2. empezando en añadir 125 de H₂O... El K₂O calculado debe ser igual a 23,0.

16.5.—Cálculos

Calcular el contenido en K₂O utilizando la correspondiente curva patrón.

16.6.—Observaciones

Las sales de 16.3.5. no es necesario recristalizarlas si se dispone de una pureza de grados espectrográficos.

16.7.—Referencias

- 1.—Métodos de análisis. A.O.A.C. Edición de 1970, núm. 2.064.
- 2.—Métodos Oficiales de Análisis de Fertilizantes, M.º Agricultura.

ANEXO IX.—PLANTAS

1.—PREPARACION DE LA MUESTRA

1.1.—Principio

Las operaciones descritas a continuación, tienen por finalidad conseguir una muestra para el análisis lo más homogénea posible. Por ello, toda simplificación o tratamiento insuficiente en esta operación, puede conducir a unos resultados que no sean representativos.

1.2.—Material y aparatos

- 1.2.1.—Estufa con aire forzado.
- 1.2.2.—Bandeja de fondo pomo.
- 1.2.3.—Molinillo de ágata o aspas metálicas.
- 1.2.4.—Cepillo de cerda natural suave.

1.3.—Reactivos

- 1.3.1.—Solución al 1 por 100 de un detergente no iónico.

1.4.—Procedimiento

Lavar las hojas con solución 1.3.1. frotando ambas caras con 1.2.4. Lavar a continuación dos veces con agua corriente y por último otras dos con agua desionizada. Todo este proceso de lavado no debe ser superior a 20-30 segundos.

Este tratamiento no debe efectuarse en el caso de que la hoja esté destinada a la realización de determinaciones analíticas que permitan comprobar un tratamiento de contaminación.

A continuación desecar las hojas depositándolas en una bandeja de fondo pomo a 60°C con estufa con aire forzado durante el tiempo necesario para alcanzar peso constante (normalmente entre 16-24 horas).

La muestra desecada, y a ser posible en caliente, se muele en molinillo de ágata o en molinillo de aspas metálicas, comprobando previamente la posible contaminación. El tamaño de la muestra debe ser lo suficientemente grande para que sea representativa.

Una vez reducida convenientemente la hoja a polvo, introducirla en un recipiente de cierre hermético, desecándose unas horas sin tapón y cerrándose en caliente para su almacenamiento.

2.—NITROGENO

2.1.—Principio

Atacando el material vegetal con ácido sulfúrico concentrado, a ebullición, en presencia de un catalizador, el nitrógeno se transforma en sulfato amónico. Se destila en presencia de un exceso de hidróxido sódico y se valora el amoniaco destilado con ácido sulfúrico N/14.

2.2.—Material y aparatos

2.2.1.—Equipo normal de laboratorio necesario para efectuar una digestión tipo Kjeldhal y subsiguiente destilación y valoración.

2.3.—Reactivos

- 2.3.1.—Ácido sulfúrico concentrado ($d = 1,34$)
 2.3.2.—Ácido sulfúrico N/14,
 2.3.3.—Lejía de sosa cáustica 36 B \acute{e} (265g/l. de NaOH, aproximadamente).
 2.3.4.—Sulfato potásico.
 2.3.5.—Sulfato cúprico anhidro.
 2.3.6.—Selenio puro.
 2.3.7.—Rojo de metilo.
 2.3.8.—Verde de bromocresol.
 2.3.9.—Solución de ácido bórico al 2 por 100 en agua.
 2.3.10.—Catalizador: Mezclar 80 g. de 2.3.4.; 20 g. de 2.3.5. y 2 g. de 2.3.6.
 2.3.11.—Indicador: Mezclar volúmenes iguales de rojo de metilo (0,66 por 100) y verde de bromocresol (0,33 por 100) en alcohol etílico de 95°.

2.4.—Procedimiento

Introducir en un matraz de 150 ml. de capacidad, de 150 a 200 mg. de muestra vegetal, preparada según el método oficial n.º 1, evitando que se deposite en el cuello del matraz. A continuación agregar 5 ml. de ácido sulfúrico concentrado; dejar en contacto media hora.

Transcurrido este tiempo agregar unos 200 mg. de catalizador y después de haber puesto dos o tres bolitas de vidrio, calentar algunos instantes, suavemente al principio y después llevar a ebullición. La decoloración completa se obtiene generalmente en treinta minutos, siendo la duración total del calentamiento una hora.

Enfriar y añadir, de una sola vez, 30 ml. de agua. En el momento de destilar, añadir de una sola vez 25 ml. de la lejía de sosa y fijar el matraz al aparato de arrastre de vapor.

Recibir el destilado en un vaso de 250 ml. conteniendo 0,5 ml. de indicador y 10 ml. de ácido bórico, tocando la extremidad inferior del refrigerante el fondo del vaso. Mantener la destilación durante dos minutos y medio a tres minutos, siendo el volumen recibido de 100 a 125 ml. Valorar con ácido sulfúrico M/14 (viraje de verde a rojo).

2.5.—Cálculos

Calcular el % de nitrógeno mediante la expresión

$$\%N = \frac{n}{10 \cdot P}$$

siendo:

n = volumen, en ml., de solución gastados en la valoración

p = peso, en g., de la muestra

1 ml. de solución N/14 corresponde a 1 mg. de N.

2.6.—Referencias

1.—Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux. Comité Inter-Instituts.

Communication présentée 4.º colloque International sur le Contrôle de l'Alimentation des Plantes Cultivées.

ANEXO X.—SUELOS

9.—CAPACIDAD DE CAMBIO CATIONICO

9.1.—Principio

El suelo se satura de sodio mediante cuatro lavados sucesivos con acetato sódico IN a pH 8,2. El exceso de sal se elimina del suelo y el sodio absorbido se desplaza con acetato amónico 1N, en cuya solución se determina el sodio.

9.2.—Material y aparatos

- 9.2.1.—Fotómetro de llama o espectrofotómetro con accesorios para fotometría de llama.
 9.2.2.—Agitador mecánico de tubos de centrifuga.
 9.2.3.—Centrifuga y tubos de 50 ml.

9.3.—Reactivos

9.3.1.—Solución de acetato sódico, 1N. Disolver 136 g. de acetato sódico trihidrato en agua y diluir a un litro. El pH de la solución debe ser, aproximadamente, 8,2.

9.3.2.—Etanos al 95 por 100 (V/V).

9.3.3.—Solución de acetato 1N, ajustada a pH 7,0. Añadir, por cada litro de solución que se prepare, 57 ml. de ácido glacial a unos 600 ml. de agua y entonces añadir 68 ml. de hidróxido amónico concentrado, de peso específico 0,90. El hidróxido debe añadirse en una vitrina de gases a través de un embudo de cuello largo de tal manera que llegue al fondo de la solución del ácido. Dejar enfriar y ajustar a pH 7,0 con ácido acético o NH_4OH , usando un pH-metro o indicador azul de bromotimol y llevar la solución al volumen convenido.

9.4.—Procedimiento

Pesar, con precisión de 0,01 g., una muestra de 4-6 gramos según textura. Colocar en un tubo de centrífuga y añadir 33 ml. de acetato sódico (9.3.1). Agitar el tubo tapado durante cinco minutos en el agitador mecánico. Destapar y centrifugar hasta que el líquido sobrenadante esté claro. Decantar el líquido sobrenadante y desecharlo. Repetir el tratamiento otras tres veces más resuspendiendo el suelo antes de cada agitación. A continuación suspender la muestra en 33 ml. de etanol (9.3.2.) y agitar el tubo tapado durante cinco minutos; destapar, centrifugar y decantar el líquido claro que sobrenada. Repetir el tratamiento hasta que la conductividad eléctrica del último líquido sobrenadante sea inferior a 40 micromhos/cm. (tres lavados suelen ser suficientes).

Desplazar el sodio absorbido por la muestra tratándola del mismo modo, con tres porciones de 33 ml. de acetato amónico (9.3.3.) decantando cada porción del líquido sobrenadante en un matraz aforado de 100 ml., completando el volumen con acetato amónico (9.3.3.) y homogeneizando.

Determinar la concentración de sodio en el extracto contenido en el matraz de acuerdo con el método 14(a) para extractos de acetato amónico.

9.5.—Cálculo

$$\text{Capacidad de cambio (meq./100 g.)} = \frac{10 \cdot C}{P}$$

siendo:

C = concentración, en meq/l, de Na en el extracto.

P = peso, en g., de la muestra seca.

9.6.—Referencias

1.—Bower, C. A.; Reitemier, R. F. y Fireman, M.: «Exchangeable cation analysis of saline and alkali soils». Soil Ss, 73: 251-261, 1952.

11.—ACIDEZ VALORABLE DE LOS SUELOS

11.1.—Principio

Percolación del suelo con una solución 0,5N de cloruro bórico y 0,055 N de trietanolamina llevada a pH 8 con ácido clorhídrico y posterior valoración con ácido clorhídrico hasta pH 5,1, comparando la cantidad consumida con la utilizada en un ensayo en blanco.

11.2.—Material y aparatos

- 11.2.1.—Matraces erlenmeyer de 125 y 500 ml.
 11.2.2.—Matraz aforado de 250 ml.
 11.2.3.—Filtro Büchner núm. 40.
 11.2.4.—Recipiente resistente al calor de 10 litros.

11.3.—Reactivos

11.3.1.—Solución de ácido clorhídrico 0,2N.

11.3.2.—Solución indicadora: Disolver 0,22 g. de verde de bromocresol y 0,075 g. de rojo de metilo en 3,5 ml. de NaOH 0,1N, completando a 100 ml. con etanol del 95 por ciento (v/v).

11.3.3.—Solución 2N de trietanolamina (TEA). Diluir TEA comercial $IN (CH_2CH_2OH)_3$ - peso específico 1,126, aproximadamente 8N) y normalizar con la solución ácida (11.3.1.) y indicador (11.3.2.).

11.3.4.—Solución extractora tamponada: Disolver 550 g. de $Cl_2Ba \cdot 2H_2O$ en agua destilada y hervida en un recipiente de 10 litros. Añadir 250 ml. de trietanolamina 2N y 36 ml. de ácido clorhídrico 6N y diluir la solución en un total de 9 litros con agua destilada y hervida. Mezclar bien la solución y ajustar a pH $8,00 \pm 0,02$ con ácido clorhídrico o ETA. Impedir la disolución de CO_2 en la solución instalando un sifón y un tubo con cal sodada conectados a la toma de aire.

11.4.—Procedimiento

Colocar 10 g. de suelo en un matraz erlenmeyer de 125 ml. y añadir 100 ml. de la solución extractora (11.3.4.), remover el contenido para mezclar bien, tapar el matraz y dejar en reposo un mínimo de 8 h. Transferir el contenido a un filtro Büchner núm. 40, con papel de filtro Whatman núm. 32 o similar (4,25 cm.), enjuagar el erlenmeyer con la solución extractora y continuar percolando esta solución a través del suelo que se tenga un total de per-

colado de 225 ml. Dejar drenar cada fracción de la solución extractante antes de añadir la fracción siguiente, pero evitar que el suelo se agriete debido a secado excesivo. Transferir completamente la solución percolante a un matraz aforado de 250 ml. y enrasar con el reactivo 11.3.4. A continuación verter el contenido del matraz en un erlenmeyer de 500 ml. añadir 5 gotas de solución indicadora (11.3.2.) y valorar con ácido clorhídrico (11.3.1.) hasta el viraje de color a rosa (pH = 5,1). Enjuagar el matraz con la solución que se esté valorando y completar la valoración. Valorar 250 ml. de la solución extractora original hasta el mismo punto de viraje utilizando la misma cantidad de solución indicadora.

11.5.—Cálculos

Acidez valorable (meq/100 g) = $(V-V')$ 10N

siendo:

V = volumen, en ml., de ácido clorhídrico utilizado para valorar 250 ml., de la solución extractora.

V' = volumen, en ml., de ácido clorhídrico utilizado para valorar 250 ml. de la solución extractora que ha estado en contacto con el suelo.

N = Normalidad del ácido clorhídrico.

11.6.—Referencias

1.—Peech, M.: «Methods of Soil Analysis». Part 2: 910-912. American Society of Agronomy, 1965.

2.—Coleman, N. T. y Thomas, G. W.: «Soil Acidity and Liming»: 1-36. Agronomy Mon. núm. 12. American Society of Agronomy, 1967.

14.—SODIO POR FOTOMETRIA DE LLAMA

14.1.—Principio

Excitación del sodio de soluciones pulverizadas sobre una llama y medida de la radiación emitida, utilizando litio como patrón interno.

14.2.—Material y aparatos

14.2.1.—Matraces aforados de 50 ml.

14.2.2.—Fotómetro de llama

14.3.—Reactivos

14.3.1.—Solución de acetato amónico 1N, ajustada a pH 7,0: Por cada litro de solución que se prepare añadir 57 ml. de ácido acético glacial a unos 600 ml. de agua y entonces añadir 69 ml. de hidróxido amónico concentrado de peso específico 0,90. El hidróxido debe añadirse en vitrina de gases a través de un embudo de cuello largo de tal manera que llegue al fondo de la solución del ácido. Dejar enfriar y ajustar a pH 7,0 con ácido acético o hidróxido amónico, usando un pH-metro o indicador azul de bromotimol. Diluir la solución al volumen convenido.

14.3.2.—Solución de cloruro sódico 0,04N. Disolver en agua 2,338 g. de cloruro sódico y completar a 1 litro.

14.3.3.—Solución de cloruro sódico 0,04N en acetato amónico 1N. Disolver en el reactivo 14.3.1. 2,338 g. de cloruro sódico completar a un litro.

14.3.4.—Solución de cloruro de litio 0,05N. Disolver en agua 2,12 g. de cloruro de litio y completar a 1 litro.

14.4.—Procedimiento

Preparar una serie de patrones de cloruro sódico usando los reactivos 14.3.2 y 14.3.4. añadiendo a cada uno la misma alícuota de la solución 14.3.4. Preparar una serie similar de patrones de cloruro sódico con los reactivos 14.3.3 y 14.3.4 usando el reactivo 14.3.1. en vez de agua para diluir. Las concentraciones de cloruro sódico que se recomiendan son 0; 0,2; 0,6; 0,8; 1; 2; 3 y 4 meq/l. La concentración óptima de cloruro de litio varía con el tipo de fotómetro de llama pero generalmente es de 5 a 10 meq/l. Los patrones de cloruro sódico en agua se usan para análisis del sodio en aguas y en extractos acuosos de suelos. Los patrones de cloruro sódico en acetato amónico se usan para análisis del sodio en el extracto de acetato amónico del suelo. Calibrar el fotómetro para un intervalo de concentraciones entre 0 y 1 meq/l de sodio, usando las cinco primeras soluciones patrones. usar la primera y las cuatro últimas soluciones patrones cuando se vaya a trabajar en el intervalo de 0 a 4 meq/l de sodio.

Medir con pipeta una alícuota de la solución que se va a analizar en un matraz aforado de 50 ml.; la alícuota debe de contener menos de 0,2 meq/l de sodio. Añadir el volumen apropiado del reactivo 14.3.4. de modo que cuando se diluya a un volumen de 50 ml. la concentración de litio sea exactamente igual a la de las soluciones patrón de cloruro sódico.

Enrasar añadiendo agua o reactivo 14.3.1. si van a analizarse extractos de acetato amónico. Mezclar y determinar la concentración de sodio con el fotómetro de llama usando la curva de calibración apropiada.

14.5.—Cálculo

Calcular el contenido en sodio en agua o extracto del suelo expresado en meq/l aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Sodio (meq/l)} = \frac{C}{V} \times 50$$

siendo:

C = concentración, en meq/l, de sodio hallada en la curva de calibración.

V = volumen, en ml, de la alícuota de la solución a analizar.

14.6.—Referencias

1.—Diagnóstico y Rehabilitación de Suelos Salinos y Sódicos. Personal del laboratorio de Salinas de los EE.UU. 1973. Ed. Limusa. México.

ANEXO XI.—VINOS

3(a).—COLOR

3(a).1.—Principio

El color de los vinos se determina por transparencia como se percibe por la vista, pero por un procedimiento independiente de la apreciación personal, valiéndose de métodos espectrofotométricos triestimulares de ordenadas seleccionadas de Hardy, fundado en el sistema de la Comisión Internationale de l'Eclairage (C.I.E.), con relación a la luz producida por un cielo nublado (fuente C).

3(a).2.—Material y aparatos

3(a).2.1.—Espectrofotómetro para medida en el espectro visible. Los valores de transmitancia correspondientes a una misma muestra, no deben acusar diferencias superiores a 0,005 y cuando la escala del aparato esté graduada en valores de transmitancia multiplicados por 100, no debe haber diferencia superiores a 0,5.

Las cubetas serán de cuarzo o de vidrio de índice de refracción máximo 1,5, de paredes paralelas y espesor interno b que se expresa en centímetros y con una aproximación de $\pm 0,002$ b.

Conviene disponer de cuatro pares de cubetas en las que los espesores b, sean de 0,1 cm.; 0,2 cm.; 0,5 cm. y 1 cm.

Según la intensidad del color se escogerán un par de cubetas de tal forma que la absorbancia A quede comprendida entre 0,3-0,7 (transmitancia 0,5-0,2).

3(a).3.—Procedimiento

Si el vino no está limpio centrifugar previamente. Eliminar el gas carbónico, si es necesario, por agitación con vacío parcial.

Medir directamente con el espectrofotómetro las transmitancias del vino a las cuatro longitudes de onda = 625, 550, 495 y 445 nm., empleando la cubeta de espesor conveniente, según intensidad del color del vino.

3(a).4.—Cálculos

Utilizar agua destilada como liquido de referencia.

3(a).4.1.—Calcular las coordenadas (x,y) del punto representativo del color del vino en el diagrama tricromático de la C.I.E.

$$X = \frac{X}{X + Y + Z} \quad Y = \frac{Y}{X + Y + Z}$$

$$X = 0,42 T_{625} + 0,35 T_{550} + 0,21 T_{445}$$

$$Y = 0,20 T_{625} + 0,63 T_{550} + 0,17 T_{495}$$

$$Z = 0,24 T_{495} + 0,94 T_{445}$$

Los valores triestimulares X, Y, Z expresan las proporciones de colores rojos, verdes y azul que dan por mezcla el color del vino.

cuando el espesor b de la cubeta sea inferior a 1 cm. referir la transmitancia a 1 cm. en la siguiente forma $T = T'^{1/b}$ y si la transmitancia viene expresada en porcentaje.

$$T = \frac{T'^{1/b}}{100^{1/b}}$$

T = transmitancia referida a 1 cm. de espesor de cubeta.

T' = transmitancia obtenida para b cm. de espesor de cubeta

b = espesor en cm. de la cubeta utilizada.

Como los espectrofotómetros están generalmente graduados tanto en transmitancia T como en absorbancias A, se puede también calcular la transmitancia en 1 cm. de espesor del vino a partir de la absorbancia observada en el espesor b, si la medida se ha hecho en cubeta de espesor inferior a 1 cm., teniendo en cuenta que:

$$A = \log \frac{1}{T}$$

Con este fin, se calculan las absorbancias A en un cm. de espesor multiplicando respectivamente por 2, 5 y 10 las absorbancias leídas en un espesor b de 0,5, 0,2 y 0,1 cm. Se obtienen después los valores correspondientes de transmitancia bien por aplicación de la relación anterior, bien refiriéndose a la tabla calculada a partir de esa misma relación.

3(a).4.2.—Luminosidad relativa.—Es el valor de Y, expresado en porcentaje (siendo el negro y = 0 y el incoloro y = 100).

3(a).4.3.—Cromaticidad.—Para expresar al cromaticidad (longitud de onda dominante y pureza) se recurre al diagrama de cromaticidad, que representa el «locus» de todos los colores del espectro, considerando que a 400 nm. corresponde el azul, a 520 nm. corresponde el verde y a 700 nm. el rojo. El punto O corresponde a la fuente luminosa utilizada, que, en este caso, es el iluminante standard Q, que representa la luz de un día medianamente claro y cuyas coordenadas son:

$$x_0 = 0,3101 \quad y_0 = 0,3163$$

3(a).4.4.—Longitud de onda dominante.—Conocidas las coordenadas x e y del color, se une el punto de esas coordenadas C al punto O. En el punto en el que esta recta corta al «Spectrum Locus» se encuentra la longitud de onda dominante que corresponde al matiz de este color. Así en el caso de vinos de tono teja, la longitud de onda dominante se sitúa entre 585 y 596 nm. aproximadamente. Para los vinos de un color tinto franco, se sitúa entre 599 y 650 nm., mientras que para los vinos de tono rojo púrpura está caracterizada por la longitud de onda dominante del color complementario. Se obtiene el valor de esta longitud de onda prolongando la recta en la dirección de C hacia O para que ella corte el «Spectrum Locus» como hemos visto antes.

Este color complementario en el caso de vinos de tono rojo púrpura se sitúa en el verde. Se anota el valor de esta longitud de onda seguida de c (complementario), por ejemplo 495 c.

3(a).4.5.—Pureza.—La pureza se calcula determinando la distancia relativa del punto C que representa el color del vino examinado y del punto S que corresponde al «Spectrum Locus» al punto O que representa al iluminante.

Se expresa la pureza en porcentaje por la relación:

$$100 \times \frac{\text{Distancia del punto C al punto O}}{\text{Distancia del punto O al punto S}}$$

3(a).5.—Observa.

3(a).5.1.—El color de un vino queda completamente definido por la luminosidad relativa Y en porcentaje y las coordenadas tricromáticas x e y.

Se pueden prever las características cromáticas de una mezcla de varios vinos cuando se conocen las características cromáticas de las mismas. Los valores triestimulares X, Y, Z de la mezcla se obtienen por la suma de esos valores multiplicados por su proporción para cada constituyente.

TABLA DE TRANSFORMACION DE ABSORBIENCIAS EN TRANSMITANCIAS

T _{trans.}	.0	.1	.2	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9
0		3.00	2.70	2.52	2.40	2.30	2.22	2.15	2.10	2.05
1	2.00	1.96	1.92	1.89	1.85	1.82	1.80	1.77	1.74	1.72
2	1.70	1.68	1.66	1.64	1.62	1.60	1.59	1.57	1.55	1.54
3	1.52	1.51	1.50	1.48	1.47	1.46	1.44	1.43	1.42	1.41
4	1.40	1.39	1.38	1.37	1.36	1.35	1.34	1.33	1.32	1.31
5	1.30	1.29	1.28	1.28	1.27	1.26	1.25	1.24	1.24	1.23
6	1.22	1.21	1.21	1.20	1.19	1.19	1.18	1.17	1.17	1.16
7	1.15	1.15	1.14	1.14	1.13	1.13	1.12	1.11	1.11	1.10
8	1.10	1.09	1.09	1.08	1.08	1.07	1.07	1.06	1.06	1.05
9	1.05	1.04	1.04	1.03	1.03	1.02	1.01	1.01	1.00	0.99
10	1.00	1.00	0.99	0.99	0.98	0.98	0.97	0.97	0.97	0.96
11	0.96	0.95	0.95	0.95	0.94	0.94	0.93	0.93	0.93	0.92
12	0.92	0.92	0.91	0.91	0.91	0.90	0.90	0.89	0.89	0.89
13	0.89	0.88	0.88	0.88	0.87	0.87	0.87	0.86	0.86	0.86
14	0.85	0.85	0.85	0.85	0.84	0.84	0.84	0.83	0.83	0.83
15	0.82	0.82	0.82	0.82	0.81	0.81	0.81	0.80	0.80	0.80
16	0.80	0.79	0.79	0.79	0.78	0.78	0.78	0.77	0.77	0.77
17	0.77	0.77	0.76	0.76	0.76	0.76	0.75	0.75	0.75	0.75
18	0.74	0.74	0.74	0.74	0.73	0.73	0.73	0.73	0.73	0.72
19	0.72	0.72	0.72	0.71	0.71	0.71	0.71	0.71	0.70	0.70
20	0.70	0.70	0.69	0.69	0.69	0.69	0.69	0.68	0.68	0.68
21	0.68	0.68	0.67	0.67	0.67	0.67	0.67	0.66	0.66	0.66
22	0.66	0.66	0.65	0.65	0.65	0.65	0.65	0.64	0.64	0.64
23	0.64	0.64	0.63	0.63	0.63	0.63	0.63	0.62	0.62	0.62
24	0.62	0.62	0.62	0.61	0.61	0.61	0.61	0.61	0.60	0.60
25	0.60	0.60	0.60	0.60	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59	0.59
26	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.58	0.57	0.57	0.57	0.57
27	0.57	0.57	0.57	0.57	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56	0.56
28	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55	0.55
29	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54	0.54
30	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.52	0.51	0.51	0.51
31	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51	0.51
32	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.49	0.48	0.48
33	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.48	0.47	0.47
34	0.47	0.47	0.47	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46	0.46
35	0.46	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45	0.45
36	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44	0.44
37	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43	0.42	0.42	0.42
38	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.42	0.41	0.41
39	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41	0.41
40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40	0.40
41	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39	0.39
42	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38	0.38
43	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37	0.37
44	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36	0.36
45	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35	0.35
46	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34	0.34
47	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33	0.33
48	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32	0.32
49	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31	0.31
50	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30	0.30

T _{trans.}	.0	.1	.2	.3	.4	.5	.6	.7	.8	.9
51	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.29	0.28
52	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28	0.28
53	0.28	0.28	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27	0.27
54	0.27	0.27	0.27	0.27	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26
55	0.26	0.26	0.26	0.26	0.26	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
56	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25	0.25
57	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
58	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24	0.24
59	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23	0.23
60	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22	0.22
61	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
62	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21	0.21
63	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20	0.20
64	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
65	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19	0.19
66	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18	0.18
67	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
68	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
69	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16	0.16
70	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
71	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15	0.15
72	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
73	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14	0.14
74	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13	0.13
75	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
76	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12	0.12
77	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
78	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11	0.11
79	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
80	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10	0.10
81	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
82	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09	0.09
83	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08	0.08
84	0.08	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
85	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07	0.07
86	0.07	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
87	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06	0.06
88	0.06	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
89	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05	0.05
90	0.05	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
91	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
92	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04	0.04
93	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
94	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03	0.03
95	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
96	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02	0.02
97	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
98	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01	0.01
99	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
100	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

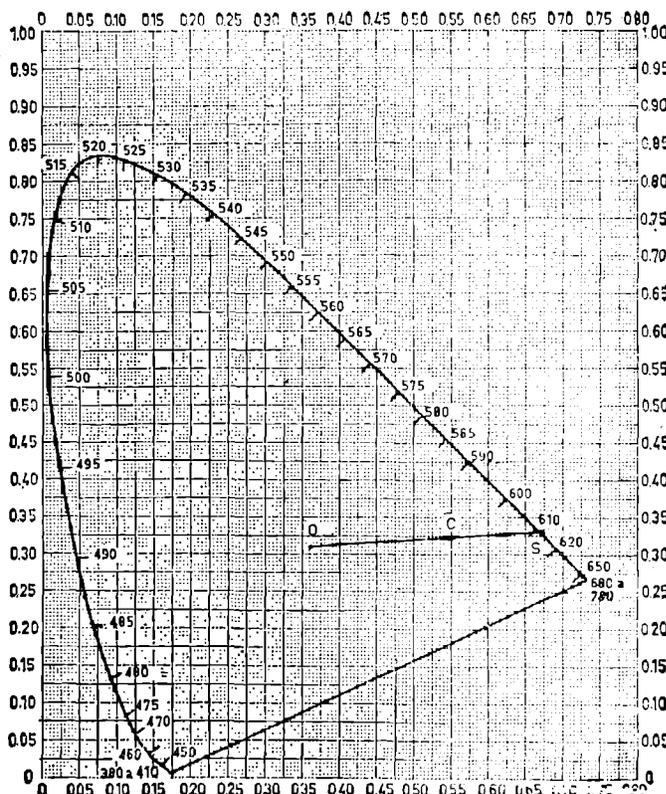


FIGURA 3(a).1.—Diagrama de cromaticidad de la C.I.E.

51. — PRESION DEL ANHIDRIDO CARBONICO

51.1. — Principio

Medida de la presión gaseosa de un recipiente cerrado herméticamente mediante un aparato adecuado que disponga de un manómetro.

51.2. — Material y aparatos

51.2.1. — Equipo manométrico que conste de las siguientes partes:

51.2.1.1. — Aguja perforadora del tapón o del recipiente, hueca, con válvula que obture el orificio de entrada de gas a la misma y sistema estanco de adaptación al tapón o recipiente.

51.2.1.2. — Conducto que ponga en comunicación la aguja con el manómetro.

51.2.1.3. — Manómetro que permita lecturas de hasta 10 Kg./cm.²

51.3. — Procedimiento

Mantener la muestra en reposo durante dos horas al menos. Llevar la temperatura aproximadamente a 20°C y perforar el tapón o el recipiente según el caso. Abrir la válvula con lo que el gas pasa al manómetro. Leer la presión que indica el manómetro.

51.4. — Expresión de los resultados

La presión se expresará en atmósferas a 20°C.

1 atm. = 760 mm. de Hg. = 1,034 Kg./cm.².

52. — ANTISEPTICOS Y ANTIFERMENTOS
(Método microbiológico)

52.1. — Principio

Comparación del desarrollo, en vino problema y testigo, de las levaduras contenidas en láminas de agar-extracto de levadura glucosado, tras permanecer sumergidas 48 horas en ellos.

52.2. — Material y aparatos

52.2.1. — Hematímetro.

52.2.2. — Cajas Petri.

52.2.3. — Portaobjetos rayados en zig-zag.

52.2.4. — Varilla en forma de U de unos 0,5 cm. de diámetro.

52.2.5. — Tubos de ensayo aforados a 10 ml.

52.2.6. — Tubos capaces de contener portaobjetos normales de microscopía.

52.2.7. — Autoclave.

52.2.8. — Microscopio.

52.2.9. — Estufa de cultivo

52.3. — Reactivos y medios de cultivo

52.3.1. — Solución acuosa de etanol de 6,9 g./l. (un ml. de esta solución combina 10 mg. de SO₂).

52.3.2. — Mosto de 10° Bé peptonado al 1 por 1.000. Esterilizar en autoclave a 112°C durante 20 minutos.

52.3.3. — Agar-extracto de levadura glucosado:

Extracto de levadura	5 g.
Glucosa	20 g.
Agar	17,5g
Agua destilada	1.000 g.

Una vez fundido en baño de agua, distribuir a razón de 10 ml. por tubo y esterilizar a 120°C durante 20 minutos.

52.3.4. — Cepa de levadura: *Saccharomyces bayanus*.

52.4. — Procedimiento

52.4.1. — Preparación del vino problema: Si la dosis de SO₂ libre es superior a 15mg./l., proceder a combinación del exceso mediante la solución acuosa de etanol, dejando transcurrir 24 horas, desde su edición. Comprobar de nuevo que el contenido de SO₂ libre es inferior a 15 mg./l.

52.4.2. — Preparación del vino testigo: Utilizar un vino de características lo más parecidas posibles al vino problema, especialmente en grado alcohólico. Respecto al SO₂ libre se procederá como en 52.4.1.

52.4.3. — Siembra del agar y formación de la película: Una vez fundidos en baño de agua los tubos con 10 ml. de agar-extracto de levadura glucosado y cuando la temperatura baja a 45-50°C, sembrar, tras conteo con hematímetro, 5 millones de levaduras/ml. (50 millones por tubo) de un cultivo de 72 horas en mosto peptonado de 10° Bé.

Tras homogeneizar rápidamente los tubos sembrados, verter su contenido sobre los portaobjetos rayados, situados en posición inclinada, apoyados sobre un brazo de la varilla en U colocada dentro de la caja Petri; el agar fundido deslizará uniformemente sobre la superficie de cada portaobjeto, formando una lámina de agar. Acto seguido colocar horizontalmente los portaobjetos apoyando sobre los dos brazos de la varilla en U y dejar en reposo durante un par de horas.

52.4.4. — Formación de colonias: Asegurada la solidificación del medio sembrado, sumergir completamente los portaobjetos en los tubos que contienen el vino problema y el vino testigo. Tapar no herméticamente los tubos y mantener en la estufa de cultivo a 25°C durante 48 horas.

Finalizado este período eliminar el vino de los tubos, dejando los portaobjetos en el interior de ellos en contacto con el aire y a 25°C.

52.4.5. — Observación microscópica: Observar las láminas inmediatamente después de sacadas del vino. Si no se aprecia desarrollo de colonias incubar en estufa a 25°C y repetir la observación microscópica a las 24, 48 y 72 horas si es necesario.

En los vinos de alto grado alcohólico puede retrasarse aún más el desarrollo de las colonias, como se comprueba en el vino testigo.

52.5. — Interpretación de los resultados

La presencia franca de colonias indica la ausencia de antisépticos y antifermentos.

52.6. — Referencias

1. — Método biológico español-argentino para la investigación de la presencia de antisépticos en los vinos. E. Feduchy An. INIA. Serv. Tecnol. agr. N 2, 1975.

VINAGRE

17. — ACIDO ACETICO DE SINTESIS

17.1. — Principio

Separación del ácido acético mediante extracción con éter isopropílico y medida de su contenido en C₁₄ mediante espectrofotometría de centelleo líquido.

17.2. — Material y aparatos

17.2.1. — Pipeta automática de 100 µl.

17.2.2. — Pipeta aforada de 10 ml.

17.2.3. — Viales para conteo, de vidrio con bajo contenido en potasio, dotados de un sistema de cierre de material plástico para evitar el ataque del ácido acético.

17.2.4. — Extractor líquido-líquido en continuo, con capacidad para 2 litros de muestra y 3,5 litros de disolvente orgánico.

17.2.5. — Columna rectificadora de 1 cm. de longitud y 3 cm. de diámetro interno, rellena de anillos rasching (0,7 × 0,4 cm.) con camisa aislante cerrada al vacío.

17.2.6. — Columna de destilación fraccionada de 40 cm. de longitud y 3 cm. de diámetro interno, rellena de anillos rasching (0,7 × 0,4 cm.) con camisa aislante cerrada al vacío y llave de salida a los 20 cm.

17.2.7. — Espectrofotómetro de centelleo líquido.

17.3. — Reactivos

17.3.1. — Eter isopropílico.

17.3.2. — Acido acético de síntesis con riqueza superior al 96 por 100.

17.3.3. — Tolueno marcado con C₁₄.

17.3.4. — Solución de 8 g./l. de butil PBD en tolueno para centelleo.

17.4. — Procedimiento

17.4.1. — Extracción y purificación del ácido acético.

Extraer 2 litros de vinagre de 5 grados acéticos (o la cantidad correspondiente si se trata de vinagres de otra graduación) en continuo con 3,5 litros de éter isopropílico durante 24 horas al menos con lo que se obtiene un extracto que debe contener aproximadamente el 70 por 100 de ácido acético presente en el vinagre.

Eliminar el disolvente por destilación en la columna 17.2.5. y rectificar el residuo en la columna 17.2.5. Recoger, por la salida situada en el centro de la columna, la fracción que destila a 114° despreciando las primeras gotas del destilado. El destilado debe tener una riqueza de ácido acético mayor del 95 por 100 en peso.

17.4.2. — Medida espectrofotométrica.

17.4.2.1. — Fondo: En un vial se introducen 10,5 g. de ácido acético de síntesis y 10 ml. de líquido de centelleo (17.3.4.).

17.4.2.2. — Muestra problema: Introducir, en los viales de conteo, 10,5 g. de cada destilado y 10 ml. de líquido de centelleo (17.3.4.). Preparar al menos 2 viales por cada muestra problema y uno para el fondo de acético de síntesis. Cada vial se lee 300 minutos como mínimo.

Una vez efectuado el conteo añadir a cada vial un volumen de patrón interno (17.3.3.) que dé aproximadamente 40.000 dpm. y contar durante 4 minutos.

17.5.— Cálculos

$$\text{Actividad específica (dpm. C14/g. de C)} = A_1 - A_2$$

siendo:

$$A_1 = \frac{\text{cpm (M)}}{0,4 \times E_1 \times g \times c}$$

$$A_2 = \frac{\text{cpm (F)}}{0,4 \times E_2 \times g \times c}$$

$$E_1 \text{ (Eficacia de la muestra)} = \frac{\text{cpm (M + P)} - \text{cpm (M)}}{\text{dpm (P)}}$$

$$E_2 \text{ (Eficacia del fondo)} = \frac{\text{cpm (F + P)} - \text{cpm (F)}}{\text{dpm (P)}}$$

g = gramos de la muestra o fondo en el vial.

c = gramos de ácido acético por gramo de muestra o de fondo.

cpm (M + P) = cuentas por minutos de la muestra más el patrón.

cpm (F + P) = cuentas por minuto del fondo más el patrón.

cpm (M) = cuentas por minuto de la muestra.

cpm (F) = cuentas por minuto del fondo.

dpm (P) = desintegraciones por minuto del patrón.

ALCOHOLES

2.— BASES NITROGENADAS

2.1.— Principio

Fijación del amoniaco y las bases nitrogenadas mediante ácido fosfórico, seguida de una primera destilación. Liberación del amoniaco y las bases nitrogenadas con hidróxido sódico, segunda destilación y posterior valoración con ácido clorhídrico del segundo destilado.

2.2.— Material y aparatos

2.2.1.— Matraz de 200 ml de capacidad.

2.3.— Reactivos

2.3.1.— Acido fosfórico d = 1,34.

2.3.2.— Solución de hidróxido sódico al 10 por 100.

2.3.3.— Solución de ácido clorhídrico 0,01N.

2.3.4.— Solución de rojo de metilo.

2.4.— Procedimiento

En un matraz de 200 ml. introducir 50 ml de alcohol, adicionar 40 ml de agua y dos gotas de ácido fosfórico; destilar y desechar los primeros 80 ml. Enfriar el matraz y al residuo frío adicionar 2 ml de solución de hidróxido sódico al 10 por 100 (ó 20 ml de solución de hidróxido sódico al 1 por 100 si hay proyecciones). Destilar de nuevo recogiendo alrededor de 7 ml de destilado en un tubo de ensayo, en el que previamente se han introducido 2 ml de agua y una gota de solución de rojo de metilo, procurando que el destilado caiga en el fondo del tubo con la ayuda de una alargadera. Valorar a continuación con solución de ácido clorhídrico 0,01N hasta que el indicador vire a rojo.

2.5.— Cálculos

$$\text{Nitrógeno (mg de nitrógeno/litro de etanol)} = 290 n/A$$

siendo:

A = grado alcohólico de alcohol.

n = volumen, en ml, de solución de ácido clorhídrico 0,01N gastados en la valoración.

2.6.— Referencias

1.— CODEX OENOLOGIQUE INTERNATIONAL, O.I.V., 1978, pág. 17.

3.— GRADO ALCOHOLICO (método areométrico)

3.1.— Principio

Medida directa del grado mediante la utilización de un alcoholómetro.

3.2.— Material y aparatos

3.2.1.— Probeta cilíndrica cuyas dimensiones mínimas serán de 30 mm de diámetro interior y 320 mm de altura.

3.2.2.— Termómetro contrastado, graduado por lo menos en 0,1 grados.

3.2.3.— Dispositivo que permita mantener vertical la probeta.

3.2.4.— Alcoholómetro graduado en décimas, con una distancia mínima entre dos grados consecutivos de 8 mm (masa del areómetro mayor de 60 g). El coeficiente de dilatación cúbica del vidrio empleado debe estar comprendido entre 0,000020 y 0,000025.

3.3.— Procedimiento

Colocar en la probeta la cantidad necesaria de alcohol. Agitar para uniformar la temperatura (que deberá ser lo más próxima posible a la del calibrado del alcoholómetro). Un minuto después de hacer la lectura del termómetro. Retirar el termómetro, introducir el alcoholómetro (que deberá estar bien limpio y desengrasado) y después de un minuto de reposo hacer la lectura del grado aparente sobre el vástago del alcoholómetro. Hacer al menos tres lecturas del grado alcohólico aparente, sirviéndose si es preciso de una lupa.

3.4.— Cálculo

3.4.1.— En el caso de utilizar alcoholómetros de 15°C.

Calcular el grado alcohólico a 15°C, utilizando la tabla I.

Calcular el grado alcohólico a 20°C, utilizando la tabla II, añadiendo al grado alcohólico aparente a 15°C la corrección correspondiente.

TABLA PRIMERA DE FUERZA REAL

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
0.....	1,3 1,000	2,4 1,000	3,4 1,000	4,4 1,000	5,4 1,000	6,5 1,001	7,5 1,001	8,6 1,001	9,7 1,001	10,9 1,001
1.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
2.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
3.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
4.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
5.....	1,4 1,001	2,5 1,001	3,5 1,001	4,5 1,001	5,5 1,001	6,6 1,001	7,7 1,001	8,7 1,001	9,8 1,001	10,9 1,001
6.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
7.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
8.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
9.....	»	»	»	»	»	»	»	»	»	»
10.....	1,4 1,000	2,4 1,000	3,4 1,001	4,5 1,001	5,5 1,001	6,5 1,001	7,5 1,001	8,5 1,001	9,5 1,001	10,6 1,001
11.....	1,3 1,000	2,4 1,000	3,4 1,001	4,4 1,001	5,4 1,001	6,4 1,001	7,4 1,001	8,4 1,001	9,4 1,001	10,5 1,001
12.....	1,2 1,000	2,3 1,000	3,3 1,000	4,3 1,000	5,3 1,000	6,3 1,000	7,3 1,000	8,3 1,000	9,3 1,000	10,4 1,000
13.....	1,2 1,000	2,2 1,000	3,2 1,000	4,2 1,000	5,2 1,000	6,2 1,000	7,2 1,000	8,2 1,000	9,2 1,000	10,3 1,000
14.....	1,1 1,000	2,1 1,000	3,1 1,000	4,1 1,000	5,1 1,000	6,1 1,000	7,1 1,000	8,1 1,000	9,1 1,000	10,2 1,000

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
15.....	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
16.....	0,9	1,9	2,9	3,9	4,9	5,9	6,9	7,9	8,9	9,9
17.....	0,8	1,8	2,8	3,8	4,8	5,8	6,8	7,8	8,8	9,8
18.....	0,7	1,7	2,7	3,7	4,7	5,7	6,7	7,7	8,7	9,7
19.....	0,6	1,6	2,6	3,6	4,5	5,5	6,5	7,5	8,5	9,5
20.....	0,5	1,5	2,4	3,4	4,4	5,4	6,4	7,3	8,3	9,3
21.....	0,4	1,4	2,3	3,3	4,3	5,2	6,2	7,1	8,1	9,1
22.....	0,3	1,3	2,2	3,2	4,1	5,1	6,1	7,0	7,9	8,9
23.....	0,1	1,1	2,1	3,1	4,0	4,9	5,9	6,8	7,8	8,7
24.....	»	1	1,9	2,9	3,8	4,8	5,8	6,7	7,6	8,5
25.....	»	0,8	1,7	2,7	3,6	4,6	5,5	6,5	7,4	8,3
26.....	»	0,7	1,6	2,6	3,5	4,4	5,4	6,3	7,2	8,1
27.....	»	0,5	1,5	2,4	3,3	4,3	5,2	6,1	7,0	7,9
28.....	»	0,3	1,3	2,2	3,1	4,1	5,0	5,9	6,8	7,7
29.....	»	0,1	1,1	2,0	2,9	3,9	4,8	5,7	6,6	7,5
30.....	»	0,0	0,9	1,9	2,8	3,7	4,6	5,5	6,4	7,3

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
15.....	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000	1.000
16.....	10,9	11,9	12,9	13,9	14,9	15,9	16,9	17,8	18,7	19,7
17.....	10,8	11,7	12,7	13,7	14,7	15,6	16,6	17,5	18,4	19,4
18.....	10,7	11,6	12,5	13,5	14,5	15,4	16,3	17,3	18,2	19,1
19.....	10,5	11,4	12,4	13,3	14,3	15,2	16,1	17,0	17,9	18,8
20.....	10,3	11,2	12,2	13,1	14,0	14,9	15,8	16,7	17,6	18,5
21.....	10,1	11,0	11,9	12,8	13,7	14,6	15,5	16,4	17,3	18,2
22.....	9,9	10,8	11,7	12,6	13,5	14,4	15,3	16,2	17,1	18,0
23.....	9,7	10,6	11,5	12,4	13,3	14,1	15,0	15,9	16,7	17,6
24.....	9,5	10,4	11,3	12,2	13,1	13,9	14,8	15,7	16,5	17,4
25.....	9,3	10,2	11,1	12,0	12,8	13,6	14,5	15,4	16,2	17,1
26.....	9,1	9,9	10,8	11,7	12,6	13,4	14,2	15,1	15,9	16,8
27.....	8,8	9,7	10,6	11,5	12,3	13,1	14,0	14,8	15,6	16,5
28.....	8,6	9,5	10,3	11,2	12,0	12,8	13,6	14,5	15,3	16,1
29.....	8,4	9,2	10,1	11,0	11,8	12,6	13,4	14,2	15,0	15,8
30.....	8,1	9,0	9,8	10,7	11,5	12,3	13,1	13,9	14,7	15,5

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20
0.....	12,2	13,4	14,7	16,1	17,5	18,9	20,3	21,6	22,9	24,2
1.....	»	13,4	14,7	16,1	17,5	18,9	20,3	21,6	22,9	24,2
2.....	»	13,4	14,7	16,1	17,2	18,5	19,8	21,1	22,3	23,6
3.....	»	13,3	14,6	15,9	17,1	18,3	19,6	20,8	22,0	23,3
4.....	»	13,3	14,5	15,8	16,9	18,1	19,2	20,6	21,8	23,0
5.....	12,1	13,2	14,4	15,5	16,8	18,0	19,2	20,4	21,5	22,7
6.....	»	13,1	14,3	15,6	16,7	17,8	18,9	20,2	21,3	22,4
7.....	»	13,0	14,2	15,4	16,6	17,7	18,8	19,9	21,0	22,1
8.....	»	13,0	14,1	15,3	16,4	17,5	18,6	19,7	20,7	21,8
9.....	»	12,9	14,0	15,1	16,2	17,3	18,4	19,5	20,5	21,6
10.....	11,7	12,7	13,8	14,9	16,0	17,1	18,1	19,2	20,2	21,3
11.....	11,6	12,6	13,6	14,7	15,8	16,9	17,9	18,9	19,9	21,0
12.....	11,5	12,5	13,5	14,6	15,6	16,6	17,6	18,7	19,7	20,7
13.....	11,4	12,4	13,4	14,4	15,4	16,4	17,4	18,5	19,5	20,5
14.....	11,2	12,2	13,2	14,2	15,2	16,2	17,2	18,2	19,2	20,2

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
0.....	25,6	27,0	28,4	29,7	30,9	32,1	33,2	34,3	35,3	36,3
1.....	25,3	26,7	28,0	29,2	30,4	31,6	32,7	33,8	34,8	35,8
2.....	24,9	26,3	27,5	28,8	30,0	31,2	32,3	33,3	34,4	35,4
3.....	24,6	25,9	27,1	28,4	29,6	30,8	31,9	32,9	33,9	34,9
4.....	24,3	25,6	26,8	28,0	29,2	30,4	31,4	32,5	33,5	34,5
5.....	24,0	25,2	26,4	27,6	28,8	30,0	31,0	32,1	33,1	34,1
6.....	23,6	24,9	26,1	27,2	28,4	29,6	30,6	31,6	32,6	33,6
7.....	23,3	24,6	25,7	26,9	28,0	29,2	30,2	31,2	32,2	33,2
8.....	23,0	24,2	25,3	26,5	27,6	28,8	29,8	30,8	31,8	32,8
9.....	22,7	23,9	25,0	26,1	27,2	28,4	29,4	30,4	31,4	32,4
10.....	22,4	23,5	24,6	25,7	26,8	27,9	28,9	29,9	30,9	31,9
11.....	22,1	23,2	24,3	25,4	26,5	27,6	28,6	29,6	30,6	31,6
12.....	21,8	22,9	24,0	25,1	26,1	27,2	28,2	29,2	30,2	31,2
13.....	21,5	22,6	23,6	24,7	25,7	26,8	27,8	28,8	29,8	30,8
14.....	21,2	22,3	23,3	24,3	25,3	26,4	27,4	28,4	29,4	30,4

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	21	22	23	24	25	26	27	28	29	30
15.....	21 1.000	22 1.000	23 1.000	24 1.000	25 1.000	26 1.000	27 1.000	28 1.000	29 1.000	30 1.000
16.....	20,7 1.000	21,7 1.000	22,7 1.000	23,7 1.000	24,7 1.000	25,7 1.000	26,6 1.000	27,6 1.000	28,6 1.000	29,6 1.000
17.....	20,4 999	21,4 999	22,4 999	23,4 999	24,4 999	25,4 999	26,3 999	27,3 999	28,2 999	29,2 999
18.....	20,1 999	21,1 999	22 999	23 999	24 999	25 999	25,9 999	26,9 999	27,8 999	28,8 999
19.....	19,8 999	20,8 999	21,7 999	22,7 999	23,6 998	24,6 998	25,5 998	26,5 998	27,4 998	28,4 998
20.....	19,5 999	20,5 998	21,4 998	22,4 998	23,3 998	24,3 998	25,2 998	26,1 998	27,1 998	28 998
21.....	19,1 998	20,1 998	21,1 998	22,1 998	23 998	23,9 998	24,8 998	25,7 998	26,7 997	27,6 997
22.....	18,8 998	19,8 998	20,7 997	21,7 997	22,6 997	23,6 997	24,4 997	25,3 997	26,3 997	27,2 997
23.....	18,5 998	19,5 997	20,4 997	21,4 997	22,3 997	23,2 997	24,1 997	25 997	25,9 997	26,8 997
24.....	18,3 997	19,2 997	20,1 997	21,1 997	21,9 997	22,8 997	23,7 997	24,6 996	25,5 996	26,4 996
25.....	18 997	18,9 997	19,8 997	20,7 997	21,6 996	22,5 996	23,3 996	24,3 996	25,2 996	26,1 996
26.....	17,7 997	18,6 996	19,5 996	20,4 996	21,3 996	22,2 996	23 996	23,9 996	24,8 996	25,7 996
27.....	17,4 996	18,3 996	19,2 996	20,1 996	20,9 996	21,8 996	22,7 996	23,6 996	24,4 995	25,3 995
28.....	17 996	18 996	18,9 996	19,7 995	20,6 995	21,5 995	22,3 995	23,2 995	24 995	24,9 994
29.....	16,7 996	17,6 996	18,5 995	19,4 995	20,3 995	21,1 995	21,9 994	22,8 994	23,7 994	24,5 994
30.....	16,4 995	17,3 995	18,2 995	19,1 995	19,9 995	20,8 994	21,6 994	22,5 994	23,3 994	24,2 994

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
15.....	31 1.000	32 1.000	33 1.000	34 1.000	35 1.000	36 1.000	37 1.000	38 1.000	39 1.000	40 1.000
16.....	30,6 1.000	31,6 1.000	32,5 999	33,5 999	34,5 999	35,5 999	36,5 999	37,5 999	38,5 999	39,5 999
17.....	30,2 999	31,2 999	32,1 999	33,1 999	34,1 999	35,1 999	36,1 999	37,1 999	38,1 999	39,1 999
18.....	29,8 999	30,8 999	31,7 998	32,7 998	33,7 998	34,7 998	35,7 998	36,7 998	37,7 998	38,7 998
19.....	29,4 998	30,4 998	31,3 998	32,3 998	33,3 998	34,3 998	35,3 998	36,3 998	37,3 997	38,3 997
20.....	29 998	30 998	30,9 997	31,9 997	32,9 997	33,9 997	34,9 997	35,9 997	36,9 997	37,9 997
21.....	28,6 997	29,6 997	30,5 997	31,5 997	32,5 997	33,5 997	34,5 997	35,5 996	36,5 996	37,5 996
22.....	28,2 997	29,2 997	30,1 996	31,1 996	32,1 996	33,1 996	34,1 996	35,1 996	36,1 996	37,1 996
23.....	27,8 996	28,8 996	29,7 996	30,7 996	31,7 996	32,7 996	33,7 996	34,7 995	35,7 995	36,7 995
24.....	27,4 996	28,4 996	29,3 995	30,3 995	31,3 995	32,3 995	33,3 995	34,3 995	35,3 995	36,3 994
25.....	27 995	28 995	28,9 995	29,9 995	30,9 995	31,9 994	32,9 994	33,9 994	34,9 994	35,9 994
26.....	26,6 995	27,6 995	28,5 995	29,5 994	30,5 994	31,5 994	32,5 994	33,5 994	34,5 993	35,5 993
27.....	26,2 995	27,2 994	28,1 994	29,1 994	30,1 994	31,1 993	32,1 993	33,1 993	34,1 993	35,1 993
28.....	25,8 994	26,8 994	27,7 994	28,7 993	29,7 993	30,7 993	31,7 993	32,7 993	33,7 992	34,7 992
29.....	25,4 994	26,4 993	27,3 993	28,3 993	29,3 993	30,3 992	31,3 992	32,3 992	33,3 992	34,3 992
30.....	25,1 993	26 993	26,9 993	27,9 993	28,9 992	29,9 992	30,9 992	31,9 991	32,9 991	33,9 991

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	31	32	33	34	35	36	37	38	39	40
0.....	37,3 1.009	38,3 1.009	39,2 1.009	40,2 1.009	41,1 1.009	42,1 1.010	43,1 1.010	44 1.010	45 1.010	45,9 1.011
1.....	36,8 1.008	37,8 1.008	38,8 1.008	39,8 1.008	40,8 1.009	41,8 1.009	42,7 1.009	43,7 1.010	44,6 1.010	45,5 1.010
2.....	36,4 1.007	37,4 1.007	38,4 1.008	39,4 1.008	40,4 1.008	41,4 1.008	42,3 1.008	43,3 1.009	44,2 1.009	45,1 1.009
3.....	36 1.007	37 1.007	38 1.007	39 1.007	40 1.007	41 1.008	42 1.008	42,9 1.008	43,9 1.008	44,8 1.008
4.....	35,5 1.006	36,5 1.006	37,5 1.006	38,5 1.007	39,5 1.007	40,5 1.007	41,5 1.007	42,5 1.007	43,5 1.007	44,4 1.008
5.....	35,1 1.005	36,1 1.006	37,1 1.006	38,1 1.006	39,1 1.006	40,1 1.006	41,1 1.007	42,1 1.007	43,1 1.007	44 1.007
6.....	34,7 1.005	35,7 1.005	36,7 1.005	37,7 1.005	38,7 1.005	39,7 1.006	40,7 1.006	41,6 1.006	42,6 1.006	43,6 1.006
7.....	34,2 1.004	35,2 1.004	36,2 1.004	37,2 1.005	38,2 1.005	39,2 1.005	40,2 1.005	41,2 1.005	42,2 1.005	43,2 1.005
8.....	33,8 1.004	34,8 1.004	35,8 1.004	36,8 1.004	37,8 1.004	38,8 1.004	39,8 1.004	40,8 1.004	41,8 1.004	42,8 1.005
9.....	33,4 1.003	34,4 1.003	35,4 1.003	36,4 1.003	37,4 1.004	38,4 1.004	39,4 1.004	40,4 1.004	41,4 1.004	42,4 1.004
10.....	33 1.002	34 1.002	35 1.003	36 1.003	37 1.003	38 1.003	39 1.003	40 1.003	41 1.003	42 1.003
11.....	32,6 1.002	33,6 1.002	34,6 1.002	35,6 1.002	36,6 1.002	37,6 1.002	38,6 1.002	39,6 1.002	40,6 1.003	41,6 1.003
12.....	32,2 1.001	33,2 1.001	34,2 1.002	35,2 1.002	36,2 1.002	37,2 1.002	38,2 1.002	39,2 1.002	40,2 1.002	41,2 1.002
13.....	31,8 1.001	32,8 1.001	33,8 1.001	34,8 1.001	35,8 1.001	36,8 1.001	37,8 1.001	38,8 1.001	39,8 1.001	40,8 1.001
14.....	31,4 1.000	32,4 1.000	33,4 1.001	34,4 1.001	35,4 1.001	36,4 1.001	37,4 1.001	38,4 1.001	39,4 1.001	40,4 1.001

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
0.....	46,9 1.011	47,9 1.011	48,8 1.011	49,8 1.011	50,7 1.011	51,7 1.011	52,6 1.012	53,5 1.012	54,5 1.012	55,4 1.012
1.....	46,5 1.010	47,5 1.010	48,4 1.010	49,4 1.010	50,3 1.010	51,3 1.011	52,2 1.011	53,2 1.011	54,2 1.011	55,1 1.011
2.....	46,1 1.009	47,1 1.009	48,1 1.009	49 1.009	49,9 1.010	50,9 1.010	51,8 1.010	52,8 1.010	53,8 1.010	54,7 1.010
3.....	45,8 1.008	46,7 1.009	47,7 1.009	48,6 1.009	49,6 1.009	50,5 1.009	51,5 1.009	52,4 1.009	53,4 1.009	54,3 1.009
4.....	45,4 1.008	46,4 1.008	47,4 1.008	48,3 1.008	49,2 1.008	50,2 1.008	51,1 1.008	52,1 1.008	53 1.008	54 1.009
5.....	45 1.007	45,9 1.007	46,9 1.007	47,9 1.007	48,8 1.007	49,8 1.007	50,7 1.007	51,7 1.008	52,7 1.008	53,6 1.008
6.....	44,6 1.006	45,5 1.006	46,5 1.006	47,5 1.007	48,4 1.007	49,4 1.007	50,4 1.007	51,4 1.007	52,4 1.007	53,3 1.007
7.....	44,2 1.005	45,1 1.006	46,1 1.006	47,1 1.006	48,1 1.006	49,1 1.006	50,1 1.006	51 1.006	52 1.006	52,9 1.006
8.....	43,8 1.005	44,8 1.005	45,8 1.005	46,8 1.005	47,7 1.005	48,7 1.005	49,7 1.005	50,6 1.005	51,6 1.005	52,6 1.005
9.....	43,4 1.004	44,4 1.004	45,4 1.004	46,4 1.004	47,3 1.004	48,3 1.004	49,3 1.005	50,2 1.005	51,2 1.005	52,2 1.005
10.....	43 1.003	44 1.004	45 1.004	46 1.004	46,9 1.004	47,9 1.004	48,9 1.004	49,9 1.004	50,9 1.004	51,8 1.004
11.....	42,6 1.003	43,6 1.003	44,6 1.003	45,6 1.003	46,6 1.003	47,6 1.003	48,6 1.003	49,5 1.003	50,5 1.003	51,5 1.003
12.....	42,2 1.002	43,2 1.002	44,2 1.002	45,2 1.002	46,2 1.002	47,2 1.002	48,2 1.002	49,2 1.002	50,2 1.002	51,1 1.002
13.....	41,8 1.001	42,8 1.001	43,8 1.001	44,8 1.002	45,8 1.002	46,8 1.002	47,8 1.002	48,8 1.002	49,8 1.002	50,8 1.002
14.....	41,4 1.001	42,4 1.001	43,4 1.001	44,4 1.001	45,4 1.001	46,4 1.001	47,4 1.001	48,4 1.001	49,4 1.001	50,4 1.001

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50
15.....	41 1.000	42 1.000	43 1.000	44 1.000	45 1.000	46 1.000	47 1.000	48 1.000	49 1.000	50 1.000
16.....	40,6 999	41,6 999	42,6 999	43,6 999	44,6 999	45,6 999	46,6 999	47,6 999	48,6 999	49,6 999
17.....	40,2 999	41,2 999	42,2 999	43,2 998	44,2 998	45,2 998	46,2 998	47,2 998	48,3 998	49,3 998
18.....	39,8 998	40,8 998	41,8 998	42,8 998	43,8 998	44,9 998	45,9 998	46,9 998	47,9 998	48,9 998
19.....	39,4 997	40,4 997	41,4 997	42,5 997	43,5 997	44,5 997	45,5 997	46,5 997	47,5 997	48,5 997
20.....	39 997	40 997	41 997	42,1 997	43,1 996	44,1 996	45,1 996	46,1 996	47,2 996	48,2 996
21.....	38,6 996	39,6 996	40,6 996	41,7 996	42,7 996	43,7 996	44,8 996	45,8 996	46,8 995	47,8 995
22.....	38,2 996	39,2 995	40,2 995	41,3 995	42,3 995	43,3 995	44,3 995	45,3 995	46,4 995	47,4 995
23.....	37,8 995	38,8 995	39,8 995	40,9 994	41,9 994	42,9 994	43,9 994	44,9 994	46 994	47 994
24.....	37,4 994	38,4 994	39,4 994	40,5 994	41,5 994	42,5 994	43,6 994	44,6 994	45,6 993	46,6 993
25.....	37 994	38 994	39 993	40,1 993	41,1 993	42,2 993	43,2 993	44,2 993	45,2 993	46,3 993
26.....	36,5 993	37,6 993	38,6 993	39,7 993	40,7 992	41,8 992	42,8 992	43,8 992	44,9 992	45,9 992
27.....	36,1 992	37,2 992	38,2 992	39,3 992	40,3 992	41,4 992	42,4 992	43,4 991	44,5 991	45,5 991
28.....	35,7 992	36,8 992	37,8 991	38,9 991	39,9 991	41 991	42 991	43 991	44,1 991	45,1 990
29.....	35,3 991	36,3 991	37,4 991	38,5 991	39,5 991	40,6 990	41,6 990	42,6 990	43,7 990	44,7 990
30.....	34,9 991	35,9 991	37 990	38,1 990	39,1 990	40,2 990	41,2 990	42,3 990	43,3 990	44,3 990

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
15.....	51 1.000	52 1.000	53 1.000	54 1.000	55 1.000	56 1.000	57 1.000	58 1.000	59 1.000	60 1.000
16.....	50,6 999	51,6 999	52,6 999	53,6 999	54,6 999	55,6 999	56,6 999	57,6 999	58,6 999	59,6 999
17.....	50,3 998	51,3 998	52,3 998	53,3 998	54,3 998	55,3 998	56,3 998	57,3 998	58,3 998	59,3 998
18.....	49,9 998	50,9 998	51,9 998	52,9 998	53,9 998	54,9 998	55,9 997	56,9 997	57,9 997	58,9 997
19.....	49,5 997	50,6 997	51,6 997	52,6 997	53,6 997	54,6 997	55,6 997	56,6 997	57,6 997	58,6 997
20.....	49,2 996	50,2 996	51,2 996	52,2 996	53,2 996	54,2 996	55,2 996	56,2 996	57,2 996	58,2 996
21.....	48,8 995	49,8 995	50,8 995	51,8 995	52,9 995	53,9 995	54,9 995	55,9 995	56,9 995	57,9 995
22.....	48,4 995	49,4 995	50,4 995	51,4 994	52,5 994	53,5 994	54,5 994	55,5 994	56,5 994	57,5 994
23.....	48 994	49,1 994	50,1 994	51,1 994	52,1 994	53,1 994	54,1 993	55,1 993	56,1 993	57,1 993
24.....	47,6 993	48,7 993	49,7 993	50,7 993	51,8 993	52,8 993	53,8 993	54,8 993	55,8 993	56,8 993
25.....	47,3 993	48,3 993	49,3 993	50,3 992	51,4 992	52,4 992	53,4 992	54,4 992	55,5 992	56,5 992
26.....	46,9 992	47,9 992	49 992	50 991	51 991	52 991	53 991	54 991	55,1 991	56,1 991
27.....	46,5 991	47,6 991	48,6 991	49,6 991	50,7 991	51,7 990	52,7 990	53,7 990	54,8 990	55,8 990
28.....	46,1 990	47,2 990	48,2 990	49,2 990	50,3 990	51,3 990	52,3 990	53,3 990	54,4 990	55,4 990
29.....	45,7 990	46,8 990	47,8 990	48,9 990	49,9 990	51 989	52 989	53 989	54 989	55 989
30.....	45,4 989	46,4 989	47,5 989	48,5 988	49,6 988	50,6 988	51,6 988	52,6 988	53,6 988	54,7 988

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	51	52	53	54	55	56	57	58	59	60
0.....	56,4 1.012	57,3 1.012	58,3 1.012	59,2 1.012	60,2 1.012	61,2 1.012	62,1 1.012	63,1 1.013	64,1 1.013	65 1.013
1.....	56 1.011	57 1.011	57,9 1.011	58,9 1.011	59,9 1.011	60,9 1.011	61,8 1.011	62,0 1.012	63,8 1.012	64,7 1.012
2.....	55,7 1.010	56,6 1.010	57,6 1.010	58,5 1.010	59,5 1.010	60,5 1.011	61,5 1.011	62,4 1.011	63,4 1.011	64,4 1.011
3.....	55,3 1.009	56,3 1.009	57,2 1.009	58,2 1.010	59,2 1.010	60,2 1.010	61,1 1.010	62,1 1.010	63,1 1.010	64,1 1.010
4.....	55 1.009	56 1.009	56,9 1.009	57,9 1.009	58,9 1.009	59,8 1.009	60,8 1.009	61,7 1.009	62,7 1.009	63,7 1.009
5.....	54,6 1.008	55,6 1.008	56,6 1.008	57,5 1.008	58,5 1.008	59,5 1.008	60,4 1.008	61,4 1.008	62,4 1.008	63,4 1.008
6.....	54,3 1.007	55,2 1.007	56,2 1.007	57,1 1.007	58,1 1.007	59,1 1.007	60,1 1.007	61 1.008	62 1.008	63 1.008
7.....	53,9 1.006	54,9 1.006	55,9 1.006	56,8 1.006	57,8 1.006	58,8 1.006	59,8 1.007	60,7 1.007	61,7 1.007	62,7 1.007
8.....	53,6 1.005	54,6 1.005	55,5 1.005	56,5 1.006	57,5 1.006	58,5 1.006	59,5 1.006	60,4 1.006	61,4 1.006	62,4 1.006
9.....	53,2 1.005	54,2 1.005	55,1 1.005	56,1 1.005	57,1 1.005	58,1 1.005	59,1 1.005	60 1.005	61 1.005	62 1.005
10.....	52,8 1.004	53,8 1.004	54,8 1.004	55,8 1.004	56,8 1.004	57,8 1.004	58,8 1.004	59,7 1.004	60,7 1.004	61,7 1.004
11.....	52,5 1.003	53,5 1.003	54,4 1.003	55,4 1.003	56,4 1.003	57,4 1.003	58,4 1.003	59,4 1.003	60,4 1.003	61,4 1.003
12.....	52,1 1.002	53,1 1.002	54,1 1.002	55 1.002	56 1.002	57 1.002	58 1.002	59 1.002	60 1.002	61 1.002
13.....	51,8 1.002	52,7 1.002	53,7 1.002	54,7 1.002	55,7 1.002	56,7 1.002	57,7 1.002	58,7 1.002	59,7 1.002	60,7 1.002
14.....	51,4 1.001	52,3 1.001	53,3 1.001	54,3 1.001	55,3 1.001	56,3 1.001	57,3 1.001	58,3 1.001	59,3 1.001	60,3 1.001

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
0.....	66 1.013	67 1.013	68 1.013	68,9 1.013	69,9 1.013	70,8 1.013	71,8 1.013	72,7 1.013	73,7 1.014	74,7 1.014
1.....	65,7 1.012	66,7 1.012	67,7 1.012	68,6 1.012	69,6 1.012	70,5 1.012	71,5 1.012	72,4 1.012	73,4 1.013	74,3 1.013
2.....	65,3 1.011	66,3 1.011	67,3 1.011	68,3 1.011	69,3 1.011	70,2 1.011	71,2 1.011	72,1 1.012	73,1 1.012	74 1.012
3.....	65 1.010	66 1.010	67 1.010	68 1.010	68,9 1.010	69,9 1.011	70,8 1.011	71,8 1.011	72,8 1.011	73,7 1.011
4.....	64,7 1.009	65,7 1.009	66,6 1.009	67,6 1.010	68,6 1.010	69,5 1.010	70,5 1.010	71,5 1.010	72,5 1.010	73,4 1.010
5.....	64,3 1.009	65,3 1.009	66,3 1.009	67,3 1.009	68,3 1.009	69,2 1.009	70,2 1.009	71,2 1.009	72,2 1.009	73,1 1.009
6.....	64 1.008	65 1.008	66 1.008	67 1.008	68 1.008	68,9 1.008	69,9 1.008	70,9 1.008	71,9 1.008	72,8 1.008
7.....	63,7 1.007	64,7 1.007	65,7 1.007	66,7 1.007	67,6 1.007	68,6 1.007	69,6 1.007	70,6 1.007	71,5 1.007	72,5 1.007
8.....	63,4 1.006	64,4 1.006	65,4 1.006	66,4 1.006	67,3 1.006	68,3 1.006	69,3 1.006	70,2 1.006	71,2 1.006	72,2 1.006
9.....	63 1.005	64 1.005	65 1.005	66 1.005	67 1.005	67,9 1.005	68,9 1.005	69,9 1.005	70,9 1.005	71,9 1.005
10.....	62,7 1.004	63,7 1.004	64,7 1.004	65,7 1.004	66,7 1.004	67,6 1.004	68,6 1.004	69,6 1.004	70,6 1.004	71,6 1.004
11.....	62,4 1.003	63,4 1.003	64,4 1.003	65,4 1.003	66,4 1.003	67,3 1.003	68,3 1.003	69,3 1.004	70,3 1.004	71,3 1.004
12.....	62 1.002	63 1.002	64 1.002	65 1.002	66 1.002	67 1.002	68 1.003	69 1.003	70 1.003	71 1.003
13.....	61,7 1.002	62,7 1.002	63,7 1.002	64,7 1.002	65,7 1.002	66,7 1.002	67,7 1.002	68,7 1.002	69,6 1.002	70,6 1.002
14.....	61,3 1.001	62,3 1.001	63,3 1.001	64,3 1.001	65,3 1.001	66,3 1.001	67,3 1.001	68,3 1.001	69,3 1.001	70,3 1.001

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	61	62	63	64	65	66	67	68	69	70
15.....	61 1.000	62 1.000	63 1.000	64 1.000	65 1.000	66 1.000	67 1.000	68 1.000	69 1.000	70 1.000
16.....	60,6 999	61,7 999	62,7 999	63,7 999	64,7 999	65,7 999	66,7 999	67,7 999	68,7 999	69,7 999
17.....	60,3 998	61,3 998	62,3 998	63,3 998	64,3 998	65,3 998	66,3 998	67,3 998	68,3 998	69,3 998
18.....	59,9 997	61 997	62 997	63 997	64 997	65 997	66 997	67 997	68 997	69 997
19.....	59,6 997	60,6 997	61,6 997	62,7 997	63,7 997	64,7 997	65,7 997	66,7 997	67,7 996	68,7 996
20.....	59,2 996	60,3 996	61,3 996	62,3 996	63,3 996	64,3 996	65,4 996	66,4 996	67,4 996	68,4 996
21.....	58,9 995	59,9 995	61 995	62 995	63 995	64 995	65 995	66 995	67 995	68,1 995
22.....	58,5 994	59,5 994	60,6 994	61,6 994	62,7 994	63,7 994	64,7 994	65,7 994	66,7 994	67,8 994
23.....	58,1 993	59,2 993	60,2 993	61,3 993	62,3 993	63,3 993	64,3 993	65,4 993	66,4 993	67,4 992
24.....	57,8 992	58,9 992	59,9 992	61 992	62 992	63 992	64 992	65 992	66 992	67,1 992
25.....	57,5 992	58,5 992	59,5 992	60,6 991	61,6 991	62,6 991	63,7 991	64,7 991	65,7 991	66,7 991
26.....	57,1 991	58,1 991	59,2 991	60,2 991	61,3 990	62,3 990	63,3 990	64,3 990	65,3 990	66,4 990
27.....	56,8 990	57,8 990	58,9 990	59,9 990	60,9 990	61,9 990	63 989	64 989	65 989	66 989
28.....	56,4 989	57,5 989	58,5 989	59,5 989	60,6 989	61,6 989	62,6 989	63,7 989	64,7 989	65,7 988
29.....	56 988	57,1 988	58,1 988	59,2 988	60,2 988	61,2 988	62,3 988	63,3 988	64,3 988	65,4 988
30.....	55,7 988	56,7 987	57,8 987	58,8 987	59,9 987	60,9 987	61,9 987	63 987	64 987	65 987

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
15.....	71 1.000	72 1.000	73 1.000	74 1.000	75 1.000	76 1.000	77 1.000	78 1.000	79 1.000	80 1.000
16.....	70,7 999	71,7 999	72,7 999	73,7 999	74,7 999	75,7 999	76,7 999	77,7 999	78,7 999	79,7 999
17.....	70,3 998	71,3 998	72,3 998	73,3 998	74,3 998	75,4 998	76,4 998	77,4 998	78,4 998	79,4 998
18.....	70 997	71 997	72 997	73 997	74 997	75,1 997	76,1 997	77,1 997	78,1 997	79,1 997
19.....	69,7 996	70,7 996	71,7 996	72,7 996	73,7 996	74,7 996	75,8 996	76,8 996	77,8 996	78,8 996
20.....	69,4 996	70,4 996	71,4 995	72,4 995	73,4 995	74,4 995	75,5 995	76,5 995	77,5 995	78,5 995
21.....	69,1 995	70,1 995	71,1 995	72,1 994	73,1 994	74,1 994	75,2 994	76,2 994	77,2 994	78,2 994
22.....	68,8 994	69,8 994	70,8 994	71,8 993	72,8 993	73,8 993	74,8 993	75,9 993	76,9 993	77,9 993
23.....	68,4 993	69,4 993	70,5 993	71,5 992	72,5 992	73,5 992	74,5 992	75,5 992	76,6 992	77,6 992
24.....	68,1 992	69,1 992	70,1 992	71,2 992	72,2 992	73,2 992	74,2 992	75,2 991	76,3 991	77,3 991
25.....	67,8 991	68,8 991	69,8 991	70,8 991	71,8 991	72,8 991	73,9 991	74,9 991	76 991	77 991
26.....	67,4 990	68,4 990	69,5 990	70,5 990	71,5 990	72,5 990	73,6 990	74,6 990	75,6 990	76,7 990
27.....	67,1 989	68,1 989	69,2 989	70,2 989	71,2 989	72,2 989	73,3 989	74,3 989	75,3 989	76,3 989
28.....	66,8 988	67,8 988	68,8 988	69,9 988	70,9 988	71,9 988	73 988	74 988	75 988	76 988
29.....	66,4 988	67,4 987	68,5 987	69,5 987	70,6 987	71,6 987	72,6 987	73,7 987	74,7 987	75,7 987
30.....	66,1 987	67,1 987	68,2 986	69,2 986	70,3 986	71,3 986	72,3 986	73,3 986	74,4 986	75,4 986

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	71	72	73	74	75	76	77	78	79	80
0.....	75,6 1.014	76,6 1.014	77,6 1.014	78,6 1.014	79,5 1.014	80,5 1.014	81,5 1.014	82,4 1.014	83,3 1.014	84,3 1.014
1.....	75,3 1.013	76,3 1.013	77,3 1.013	78,3 1.013	79,2 1.013	80,2 1.013	81,2 1.013	82,1 1.013	83,1 1.013	84 1.013
2.....	75 1.013	76 1.012	77 1.012	78 1.012	78,9 1.012	79,9 1.012	80,9 1.012	81,9 1.012	82,8 1.012	83,7 1.012
3.....	74,7 1.011	75,7 1.011	76,7 1.011	77,7 1.011	78,6 1.011	79,6 1.011	80,6 1.011	81,6 1.011	82,5 1.011	83,5 1.011
4.....	74,4 1.010	75,3 1.010	76,3 1.010	77,3 1.010	78,3 1.010	79,3 1.010	80,3 1.010	81,3 1.010	82,2 1.010	83,2 1.010
5.....	74,1 1.009	75 1.009	76 1.009	77 1.009	78 1.009	79 1.009	80 1.009	81 1.010	81,9 1.010	82,9 1.010
6.....	73,8 1.008	74,7 1.008	75,7 1.008	76,7 1.008	77,7 1.008	78,7 1.008	79,7 1.008	80,7 1.008	81,6 1.008	82,6 1.009
7.....	73,5 1.007	74,4 1.007	75,4 1.007	76,4 1.007	77,4 1.007	78,4 1.007	79,4 1.007	80,4 1.007	81,4 1.007	82,3 1.008
8.....	73,2 1.006	74,1 1.006	75,1 1.006	76,1 1.006	77,1 1.006	78,1 1.006	79,1 1.007	80,1 1.007	81,1 1.007	82 1.007
9.....	72,9 1.005	73,8 1.005	74,8 1.005	75,8 1.005	76,8 1.005	77,8 1.005	78,8 1.006	79,8 1.006	80,8 1.006	81,7 1.006
10.....	72,6 1.004	73,5 1.004	74,5 1.005	75,5 1.005	76,5 1.005	77,5 1.005	78,5 1.005	79,5 1.005	80,5 1.005	81,5 1.005
11.....	72,3 1.004	73,2 1.004	74,2 1.004	75,2 1.004	76,2 1.004	77,2 1.004	78,2 1.004	79,2 1.004	80,2 1.004	81,2 1.004
12.....	72 1.003	72,9 1.003	73,9 1.003	74,9 1.003	75,9 1.003	76,9 1.003	77,9 1.003	78,9 1.003	79,9 1.003	80,9 1.003
13.....	71,6 1.002	72,6 1.002	73,6 1.002	74,6 1.002	75,6 1.002	76,6 1.002	77,6 1.002	78,6 1.002	79,6 1.002	80,6 1.002
14.....	71,3 1.001	72,3 1.001	73,3 1.001	74,3 1.001	75,3 1.001	76,3 1.001	77,3 1.001	78,3 1.001	79,3 1.001	80,3 1.001

GRADOS DEL TERMÓMETRO	GRADOS MARCADOS POR EL ALCOHOLIMETRO									
	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90
0.....	85,2 1.014	86,2 1.014	87,1 1.014	88 1.014	88,9 1.014	89,9 1.015	90,8 1.015	91,7 1.015	92,6 1.015	93,6 1.015
1.....	85 1.013	85,9 1.013	86,8 1.013	87,8 1.013	88,7 1.013	89,6 1.014	90,5 1.014	91,5 1.014	92,4 1.014	93,3 1.014
2.....	84,7 1.013	85,6 1.012	86,6 1.012	87,5 1.012	88,5 1.013	89,4 1.013	90,3 1.013	91,2 1.013	92,2 1.013	93,1 1.013
3.....	84,4 1.011	85,4 1.011	86,3 1.011	87,3 1.011	88,2 1.011	89,2 1.012	90,1 1.012	91 1.012	91,9 1.012	92,9 1.012
4.....	84,2 1.011	85,1 1.011	86,1 1.011	87 1.011	87,9 1.011	88,9 1.011	89,8 1.011	90,8 1.011	91,7 1.011	92,7 1.011
5.....	83,9 1.010	84,8 1.010	85,8 1.010	86,7 1.010	87,7 1.010	88,6 1.010	89,6 1.010	90,5 1.010	91,5 1.010	92,4 1.010
6.....	83,6 1.009	84,5 1.009	85,5 1.009	86,5 1.009	87,4 1.009	88,4 1.009	89,3 1.009	90,2 1.009	91,2 1.009	92,2 1.009
7.....	83,3 1.008	84,2 1.008	85,2 1.008	86,2 1.008	87,2 1.008	88,1 1.008	89,1 1.008	90 1.008	91 1.008	91,9 1.008
8.....	83 1.007	84 1.007	85 1.007	85,9 1.007	86,9 1.007	87,9 1.007	88,8 1.007	89,8 1.007	90,7 1.007	91,7 1.007
9.....	82,7 1.006	83,7 1.006	84,7 1.006	85,7 1.006	86,6 1.006	87,6 1.006	88,6 1.006	89,5 1.006	90,5 1.006	91,5 1.006
10.....	82,4 1.005	83,4 1.005	84,4 1.005	85,4 1.005	86,4 1.005	87,4 1.005	88,3 1.005	89,3 1.005	90,2 1.005	91,2 1.005
11.....	82,2 1.004	83,1 1.004	84,1 1.004	85,1 1.004	86,1 1.004	87,1 1.004	88 1.004	89 1.004	90 1.004	91 1.004
12.....	81,9 1.003	82,9 1.003	83,9 1.003	84,8 1.003	85,8 1.003	86,8 1.003	87,8 1.003	88,7 1.003	89,7 1.003	90,7 1.003
13.....	81,6 1.002	82,6 1.002	83,6 1.002	84,6 1.002	85,5 1.002	86,5 1.002	87,5 1.002	88,5 1.002	89,5 1.002	90,5 1.002
14.....	81,3 1.001	82,3 1.001	83,3 1.001	84,3 1.001	85,3 1.001	86,3 1.001	87,3 1.001	88,2 1.001	89,2 1.001	90,2 1.001

Tabla de las riquezas alcohólicas correspondientes a 15° de temperatura desde 51 a 75°.

Table with 26 columns (51-75) and 26 rows (0-25). It contains numerical data for alcohol content at 15 degrees temperature. The table is oriented vertically with the column headers on the left and row headers on the top.

Tabla de las riquezas alcohólicas correspondientes a 15° de temperatura desde 76 a 100°.

Table with 25 columns (76-100) and 25 rows (0-24). It contains numerical data for alcohol content at 15 degrees temperature. The table is oriented vertically with the column headers on the left and row headers on the top.

Table with 26 columns (950-975) and 26 rows (0-25). It contains numerical data for alcohol content. The table is oriented vertically with the column headers on the left and row headers on the top.

TABLA DE DENSIDADES DE LOS ALCOHOLES

Tabla de las riquezas alcohólicas correspondientes a 15° de temperatura desde 76 a 100°.

Table with 25 columns (76-100) and 25 rows (0-24). It contains numerical data for alcohol content at 15 degrees temperature. The table is oriented vertically with the column headers on the left and row headers on the top.

Grados Centígr.	Grados Farenh.										
78,1	869	82,7	856	87,1	615	91,1	830	94,8	817	97,9	804
78,4		83		87,3		91,3		94,9		98,2	
78,5	868	83,1	855	87,4	842	91,4	829	95	816	98,1	803
78,7		83,3		87,6		91,6		95,2		98,2	
78,8	867	83,4	854	87,7	841	91,7	828	95,3	815	98,4	802
79,1		83,7		88		91,9		95,4		98,4	
79,2	866	83,8	853	88,1	840	92	827	95,5	814	98,5	801
79,4		84		88,3		92,2		95,7		98,5	
79,5	865	84,1	852	88,4	839	92,3	826	95,8	813	98,7	800
79,8		84,3		88,6		92,5		95,9		98,8	
79,9	864	84,4	851	88,7	838	92,6	825	96	812	98,9	799
80,2		84,7		88,9		92,8		96,2		99	
80,3	863	84,8	850	89	837	92,9	824	96,3	811	99,1	798
80,5		85		89,2		93		96,4		99,2	
80,6	862	85,1	849	89,3	836	93,1	823	96,5	810	99,3	797
80,9		85,3		89,5		93,3		96,7		99,4	
81	861	85,4	848	89,6	835	93,4	822	96,8	809	99,5	796
81,2		85,7		89,8		93,6		96,9		99,6	
81,3	860	85,8	847	89,9	834	93,7	821	97	808	99,7	795
81,6		86		90,1		93,9		97,1		99,8	
81,7	859	86,1	846	90,2	833	94	820	97,2	807	99,9	794
81,9		86,3		90,4		94,2		97,4		100	
82	858	86,4	845	90,5	832	94,3	819	97,5	806		
82,3		86,7		90,7		94,4		97,6			
82,4	857	86,8	844	90,8	831	94,5	818	97,7	805		
82,6		87		91		94,7		97,8			

$A_{UV} = A_2 + e$

A_2	e								
30,0	0,12	35,0	0,14	40,0	0,13	45,0	0,18	50,0	0,17
30,1	0,12	35,1	0,13	40,1	0,13	45,1	0,18	50,1	0,17
30,2	0,12	35,2	0,13	40,2	0,13	45,2	0,18	50,2	0,17
30,3	0,13	35,3	0,13	40,3	0,13	45,3	0,18	50,3	0,17
30,4	0,13	35,4	0,13	40,4	0,14	45,4	0,18	50,4	0,17
30,5	0,13	35,5	0,13	40,5	0,14	45,5	0,18	50,5	0,17
30,6	0,13	35,6	0,13	40,6	0,14	45,6	0,18	50,6	0,17
30,7	0,13	35,7	0,13	40,7	0,14	45,7	0,18	50,7	0,17
30,8	0,14	35,8	0,13	40,8	0,14	45,8	0,18	50,8	0,17
30,9	0,14	35,9	0,13	40,9	0,14	45,9	0,18	50,9	0,17
31,0	0,14	36,0	0,13	41,0	0,14	46,0	0,18	51,0	0,17
31,1	0,14	36,1	0,13	41,1	0,14	46,1	0,18	51,1	0,17
31,2	0,15	36,2	0,13	41,2	0,14	46,2	0,18	51,2	0,17
31,3	0,15	36,3	0,13	41,3	0,14	46,3	0,18	51,3	0,17
31,4	0,15	36,4	0,13	41,4	0,14	46,4	0,18	51,4	0,17
31,5	0,15	36,5	0,13	41,5	0,14	46,5	0,18	51,5	0,17
31,6	0,15	36,6	0,13	41,6	0,14	46,6	0,18	51,6	0,17
31,7	0,15	36,7	0,13	41,7	0,14	46,7	0,18	51,7	0,17
31,8	0,16	36,8	0,13	41,8	0,14	46,8	0,18	51,8	0,17
31,9	0,16	36,9	0,13	41,9	0,14	46,9	0,18	51,9	0,17
32,0	0,16	37,0	0,13	42,0	0,14	47,0	0,18	52,0	0,18
32,1	0,16	37,1	0,13	42,1	0,14	47,1	0,18	52,1	0,18
32,2	0,16	37,2	0,13	42,2	0,14	47,2	0,18	52,2	0,18
32,3	0,16	37,3	0,13	42,3	0,14	47,3	0,18	52,3	0,18
32,4	0,16	37,4	0,13	42,4	0,14	47,4	0,18	52,4	0,18
32,5	0,16	37,5	0,13	42,5	0,14	47,5	0,18	52,5	0,18
32,6	0,16	37,6	0,13	42,6	0,14	47,6	0,18	52,6	0,18
32,7	0,16	37,7	0,13	42,7	0,14	47,7	0,18	52,7	0,18
32,8	0,16	37,8	0,13	42,8	0,14	47,8	0,18	52,8	0,18
32,9	0,16	37,9	0,13	42,9	0,14	47,9	0,18	52,9	0,18
33,0	0,16	38,0	0,13	43,0	0,14	48,0	0,18	53,0	0,18
33,1	0,16	38,1	0,13	43,1	0,14	48,1	0,18	53,1	0,18
33,2	0,16	38,2	0,13	43,2	0,14	48,2	0,18	53,2	0,18
33,3	0,16	38,3	0,13	43,3	0,14	48,3	0,18	53,3	0,18
33,4	0,16	38,4	0,13	43,4	0,14	48,4	0,18	53,4	0,18
33,5	0,16	38,5	0,13	43,5	0,14	48,5	0,18	53,5	0,18
33,6	0,16	38,6	0,13	43,6	0,14	48,6	0,18	53,6	0,18
33,7	0,16	38,7	0,13	43,7	0,14	48,7	0,18	53,7	0,18
33,8	0,16	38,8	0,13	43,8	0,14	48,8	0,18	53,8	0,18
33,9	0,16	38,9	0,13	43,9	0,14	48,9	0,18	53,9	0,18
34,0	0,16	39,0	0,13	44,0	0,14	49,0	0,18	54,0	0,18
34,1	0,16	39,1	0,13	44,1	0,14	49,1	0,18	54,1	0,18
34,2	0,16	39,2	0,13	44,2	0,14	49,2	0,18	54,2	0,18
34,3	0,16	39,3	0,13	44,3	0,14	49,3	0,18	54,3	0,18
34,4	0,16	39,4	0,13	44,4	0,14	49,4	0,18	54,4	0,18
34,5	0,16	39,5	0,13	44,5	0,14	49,5	0,18	54,5	0,18
34,6	0,16	39,6	0,13	44,6	0,14	49,6	0,18	54,6	0,18
34,7	0,16	39,7	0,13	44,7	0,14	49,7	0,18	54,7	0,18
34,8	0,16	39,8	0,13	44,8	0,14	49,8	0,18	54,8	0,18
34,9	0,16	39,9	0,13	44,9	0,14	49,9	0,18	54,9	0,18

$A_{UV} = A_1 + c$

A_1	c										
0,0	0,00	5,0	0,07	10,0	0,13	15,0	0,15	20,0	0,25	25,0	0,21
0,1	0,01	5,1	0,07	10,1	0,13	15,1	0,15	20,1	0,25	25,1	0,21
0,2	0,01	5,2	0,07	10,2	0,13	15,2	0,15	20,2	0,25	25,2	0,21
0,3	0,02	5,3	0,07	10,3	0,13	15,3	0,15	20,3	0,25	25,3	0,21
0,4	0,02	5,4	0,07	10,4	0,13	15,4	0,15	20,4	0,25	25,4	0,21
0,5	0,03	5,5	0,07	10,5	0,13	15,5	0,15	20,5	0,25	25,5	0,21
0,6	0,03	5,6	0,07	10,6	0,13	15,6	0,15	20,6	0,25	25,6	0,20
0,7	0,04	5,7	0,07	10,7	0,13	15,7	0,15	20,7	0,25	25,7	0,20
0,8	0,04	5,8	0,07	10,8	0,13	15,8	0,15	20,8	0,25	25,8	0,20
0,9	0,05	5,9	0,07	10,9	0,13	15,9	0,15	20,9	0,25	25,9	0,20
1,0	0,05	6,0	0,07	11,0	0,13	16,0	0,16	21,0	0,26	26,0	0,20
1,1	0,05	6,1	0,07	11,1	0,13	16,1	0,16	21,1	0,26	26,1	0,20
1,2	0,05	6,2	0,07	11,2	0,13	16,2	0,16	21,2	0,26	26,2	0,20
1,3	0,05	6,3	0,07	11,3	0,13	16,3	0,16	21,3	0,26	26,3	0,19
1,4	0,05	6,4	0,07	11,4	0,13	16,4	0,16	21,4	0,26	26,4	0,19
1,5	0,06	6,5	0,08	11,5	0,13	16,5	0,17	21,5	0,26	26,5	0,19
1,6	0,06	6,6	0,08	11,6	0,13	16,6	0,17	21,6	0,26	26,6	0,19
1,7	0,06	6,7	0,08	11,7	0,13	16,7	0,17	21,7	0,26	26,7	0,19
1,8	0,06	6,8	0,08	11,8	0,13	16,8	0,17	21,8	0,26	26,8	0,18
1,9	0,06	6,9	0,08	11,9	0,13	16,9	0,17	21,9	0,26	26,9	0,18
2,0	0,06	7,0	0,08	12,0	0,13	17,0	0,17	22,0	0,26	27,0	0,18
2,1	0,06	7,1	0,08	12,1	0,13	17,1	0,17	22,1	0,26	27,1	0,18
2,2	0,06	7,2	0,09	12,2	0,13	17,2	0,17	22,2	0,26	27,2	0,18
2,3	0,06	7,3	0,09	12,3	0,13	17,3	0,17	22,3	0,26	27,3	0,17
2,4	0,06	7,4	0,09	12,4	0,13	17,4	0,17	22,4	0,26	27,4	0,17
2,5	0,06	7,5	0,10	12,5	0,13	17,5	0,18	22,5	0,26	27,5	0,17
2,6	0,06	7,6	0,10	12,6	0,13	17,6	0,18	22,6	0,26	27,6	0,17
2,7	0,06	7,7	0,10	12,7	0,13	17,7	0,18	22,7	0,26	27,7	0,17
2,8	0,06	7,8	0,10	12,8	0,13	17,8	0,18	22,8	0,26	27,8	0,16
2,9	0,06	7,9	0,11	12,9	0,13	17,9	0,18	22,9	0,26	27,9	0,16
3,0	0,06	8,0	0,11	13,0	0,13	18,0	0,18	23,0	0,26	28,0	0,16
3,1	0,06	8,1	0,11	13,1	0,13	18,1	0,18	23,1	0,25	28,1	0,15
3,2	0,06	8,2	0,11	13,2	0,13	18,2	0,19	23,2	0,25	28,2	0,15
3,3	0,06	8,3	0,11	13,3	0,13	18,3	0,19	23,3	0,25	28,3	0,15
3,4	0,06	8,4	0,11	13,4	0,13	18,4	0,19	23,4	0,25	28,4	0,15
3,5	0,06	8,5	0,12	13,5	0,13	18,5	0,20	23,5	0,25	28,5	0,15
3,6	0,06	8,6	0,12	13,6	0,13	18,6	0,20	23,6	0,25	28,6	0,14
3,7	0,06	8,7	0,12	13,7	0,13	18,7	0,20	23,7	0,25	28,7	0,14
3,8	0,06	8,8	0,12	13,8	0,13	18,8	0,20	23,8	0,24	28,8	0,14
3,9	0,06	8,9	0,12	13,9	0,13	18,9	0,21	23,9	0,24	28,9	0,13
4,0	0,06	9,0	0,1								

$$A_{TOT} = A_1 + \dots$$

A_1	σ	A_2	σ	A_3	σ	A_4	σ
80,0	0,04	85,0	0,04	90,0	0,04	95,0	0,01
80,1	0,04	85,1	0,04	90,1	0,04	95,1	0,01
80,2	0,04	85,2	0,04	90,2	0,04	95,2	0,01
80,3	0,04	85,3	0,04	90,3	0,04	95,3	0,01
80,4	0,04	85,4	0,04	90,4	0,04	95,4	0,01
80,5	0,04	85,5	0,04	90,5	0,04	95,5	0,01
80,6	0,04	85,6	0,04	90,6	0,04	95,6	0,01
80,7	0,04	85,7	0,04	90,7	0,04	95,7	0,01
80,8	0,04	85,8	0,04	90,8	0,04	95,8	0,01
80,9	0,04	85,9	0,04	90,9	0,04	95,9	0,01
81,0	0,04	86,0	0,04	91,0	0,04	96,0	0,01
81,1	0,04	86,1	0,04	91,1	0,04	96,1	0,01
81,2	0,04	86,2	0,04	91,2	0,04	96,2	0,01
81,3	0,04	86,3	0,04	91,3	0,04	96,3	0,01
81,4	0,04	86,4	0,04	91,4	0,04	96,4	0,01
81,5	0,04	86,5	0,04	91,5	0,03	96,5	0,01
81,6	0,04	86,6	0,04	91,6	0,03	96,6	0,01
81,7	0,04	86,7	0,04	91,7	0,03	96,7	0,01
81,8	0,04	86,8	0,04	91,8	0,03	96,8	0,01
81,9	0,04	86,9	0,04	91,9	0,03	96,9	0,01
82,0	0,04	87,0	0,04	92,0	0,03	97,0	0,01
82,1	0,04	87,1	0,04	92,1	0,03	97,1	0,01
82,2	0,04	87,2	0,04	92,2	0,03	97,2	0,01
82,3	0,04	87,3	0,04	92,3	0,03	97,3	0,02
82,4	0,04	87,4	0,04	92,4	0,03	97,4	0,02
82,5	0,04	87,5	0,04	92,5	0,03	97,5	0,02
82,6	0,04	87,6	0,04	92,6	0,03	97,6	0,02
82,7	0,04	87,7	0,04	92,7	0,03	97,7	0,02
82,8	0,04	87,8	0,04	92,8	0,03	97,8	0,02
82,9	0,04	87,9	0,04	92,9	0,03	97,9	0,02
83,0	0,04	88,0	0,04	93,0	0,03	98,0	0,02
83,1	0,04	88,1	0,04	93,1	0,03	98,1	0,02
83,2	0,04	88,2	0,04	93,2	0,03	98,2	0,02
83,3	0,04	88,3	0,04	93,3	0,03	98,3	0,01
83,4	0,04	88,4	0,04	93,4	0,03	98,4	0,01
83,5	0,04	88,5	0,04	93,5	0,03	98,5	0,01
83,6	0,04	88,6	0,04	93,6	0,03	98,6	0,01
83,7	0,04	88,7	0,04	93,7	0,02	98,7	0,01
83,8	0,04	88,8	0,04	93,8	0,02	98,8	0,01
83,9	0,04	88,9	0,04	93,9	0,02	98,9	0,01
84,0	0,04	89,0	0,04	94,0	0,02	99,0	0,01
84,1	0,04	89,1	0,04	94,1	0,02	99,1	0
84,2	0,04	89,2	0,04	94,2	0,02	99,2	0
84,3	0,04	89,3	0,04	94,3	0,02	99,3	0
84,4	0,04	89,4	0,04	94,4	0,02	99,4	0
84,5	0,04	89,5	0,04	94,5	0,02	99,5	0
84,6	0,04	89,6	0,04	94,6	0,02	99,6	0
84,7	0,04	89,7	0,04	94,7	0,01	99,7	0
84,8	0,04	89,8	0,04	94,8	0,01	99,8	0
84,9	0,04	89,9	0,04	94,9	0,01	99,9	0
						100,0	0

ANEXO XII.—TOMA DE MUESTRAS

1.—TOMA DE MUESTRAS DE SUELOS

1.1.—Objeto

El objeto de la toma de muestras es obtener de un suelo una muestra representativa del mismo para poder determinar a partir de ella sus características físicas y químicas.

1.2.—Ámbito de aplicación

Este método de toma de muestras se aplicará a todos los tipos de muestreo de suelos ya sean para fertilidad, prospecciones edafológicas, salinidad, etc.

1.3.—Definiciones

- MUESTRA SIMPLE: Cantidad de producto extraído de una parte cualquiera de un suelo.
- MUESTRA COMPUESTA: Cantidad de producto de un suelo obtenida por mezcla y homogeneización de varias muestras simples y cuyas características son, con aproximación suficiente, las del suelo.
- MUESTRA PARA EL LABORATORIO: Cada una de las partes obtenidas por reducción de la muestra compuesta.

1.4.—Material y aparatos

- 1.4.1.—Pala o similar, para excavar un pequeño hoyo en el suelo.
- 1.4.2.—Cuchillo del edafólogo o piqueta.
- 1.4.3.—Bolsas de plástico sin estrenar, para su utilización como envases portadores de los ejemplares de muestra para el laboratorio.
- 1.4.4.—Etiquetas (fig. 1).
- 1.4.5.—Cuerda o grapadora.
- 1.4.6.—Cinta métrica.
- 1.4.7.—Sondas acanaladas para muestras superficiales (fig. 2).
- 1.4.8.—Sondas modelo australiano (fig. 3).
- 1.4.9.—Bolsas portaporciones. Han de ser de utilización única, preferentemente de material plástico flexible y de dimensiones adecuadas al tamaño de la porción.

1.5.—Procedimiento

- Toma de muestras para fertilidad (Anexo 1).
- Toma de muestras para prospecciones edafológicas (Anexo 2).
- Toma de muestras para salinidad (Anexo 3).

1.6.—Preparación de la muestra para el laboratorio

Para formar una muestra compuesta, las muestras simples se recogen en un plástico y se mezclan de la siguiente manera: se cogen fuertemente dos vértices opuestos del plástico y se estira de uno de ellos de forma que el suelo rueda hacia el otro. Después se estira de éste para que la muestra gire en sentido contrario. Se repite el proceso con los otros dos vértices. Volver a realizar el proceso hasta conseguir una mezcla homogénea.

Una vez homogeneizada la muestra compuesta se extiende sobre el plástico formando una capa de 1 cm de espesor que se dividirá en cuatro cuadrantes. Se descartan cuantitativamente dos de los cuartos situados en los extremos opuestos de una diagonal. Los otros dos se mezclan por el procedimiento descrito y se vuelven a cuartear. El procedimiento se repite hasta obtener la cantidad de muestra compuesta que se desee.

El tamaño de la muestra compuesta estará en función del número de muestras para el laboratorio necesarias, así como de las pruebas y análisis que se pretenden realizar.

Preparada la muestra compuesta se dividirá ésta en el número de partes necesarias constituyendo cada una de ellas una muestra para el laboratorio.

Si las muestras simples estuviesen demasiado húmedas para impedir la preparación de la muestra compuesta por el procedimiento indicado, se desecarán previamente.

1.7.—Cerrado y etiquetado de los envases de muestras

Una vez obtenidas las muestras para el laboratorio se introducirán en las bolsas (4.2.), etiquetando cada muestra (4.4.) para su perfecta identificación rellenándolas con tinta indeleble al agua (puede ser la tinta ordinaria del bolígrafo a base de glicerina). Se confeccionarán dos etiquetas iguales según el modelo de la fig. 1, introduciendo una de ellas en el interior de la bolsa, doblada en dos pliegues, de modo que la cara escrita quede protegida en el interior. Si la muestra está relativamente seca no es preciso tomar otras precauciones, pero si está muy húmeda puede colocarse dentro de un trozo de plástico para que no se moje. De todos modos debe situarse una segunda etiqueta en el nudo o cierre de la bolsa.

El cierre se puede conseguir anudando la parte superior de la bolsa con alambre plastificado uno de cuyos extremos se utiliza para ligar fuera la 2.ª etiqueta o bien grapando la bolsa o atando con gomas o incluso bramante.

1.8.—Bibliografía

- 1.—Guía para la descripción de perfiles de suelo. 2.ª edición 1977. FAO. Roma.
- 2.—Quantitative and numerical methods in soil classification and survey. 1977 R. Webster ed. Clarendon Press. Oxford.
- 3.—Soil Taxonomy 1975. U. S. Department of Agriculture Soil Conservation Service Agriculture Handbook n.º 436.

ANEXO A

ANEXO I.—TOMA DE MUESTRAS PARA FERTILIDAD

1.1.—Generalidades

Dos clases de muestras pueden diferenciarse en el muestreo, las alteradas, para análisis químico y mecánico del suelo y las inalteradas para la medición de propiedades físicas. En el primer caso es posible la formación de la submuestra o muestra compuesta.

La operación de toma de muestras comprende las siguientes operaciones: fijación del número de muestras simples, selección del tipo de muestreo, profundidad de muestreo y posible submuestreo.

1.2.—Número de muestras simples

El número de muestras simples a tomar depende de la variabilidad de la propiedad a medir y del grado de exactitud deseado. Para conocer esta variabilidad sería necesario realizar un muestreo previo para estimar la varianza de la población de acuerdo como se indica a continuación. De no disponer de este dato no se pueden dar valores concretos para el número de muestras simples al bien la estimación será tanto más exacta cuanto mayor es el número de las mismas.

En un muestreo al azar en el que se hayan extraído n unidades, se obtienen estimaciones de la media y varianza \bar{y} (y) de la media por

$$(1) \bar{y} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i}{n}$$

$$(2) v(\bar{y}) = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}{n(n-1)} = \frac{s^2}{n-1}$$

en donde y_i es el valor observado para la unidad i. La estimación de la varianza de la media permite el cálculo del intervalo de confianza de la media por la siguiente relación:

$$(3) L = \bar{y} \pm t \alpha \left(\frac{s^2}{n-1} \right)^{1/2}$$

en donde L es el intervalo de confianza, t es la variable de Student con (n-1) grados de libertad, α es el nivel de probabilidad del intervalo y s es la expresión correspondiente a (2).

Si se tiene una estimación de la varianza de muestreos previos de la población, entonces se puede estimar el número de porciones necesarias en futuros muestreos para obtener una precisión dada a un nivel de probabilidad determinado, a partir de las ecuaciones (2) y (3):

$$n = 1 \frac{s^2}{D^2} + 1, \text{ en donde } D \text{ es el límite especificado}$$

En el caso de no poder aplicarse los cálculos anteriores se definirán previamente, de acuerdo con criterios edafológicos o de práctica agrícola, áreas homogéneas dentro de la zona en la que se cultive una misma variedad, tomándose dentro de cada área definida homogénea por el suelo y el estado del cultivo, de 5 a 25 porciones.

1.3.—Técnica de muestreo

De acuerdo con criterios edafológicos o de práctica agrícola se definirán previamente áreas «homogéneas».

Dentro de cada área homogénea se debe establecer: tipo de muestreo y profundidad del muestreo.

1.3.1.—Tipo de muestreo

El tipo de muestreo debe cumplir la propiedad de ser al azar, es decir que todas las posibles muestras simples que se puedan tomar tengan la misma probabilidad de ser elegidas.

En el muestreo simple al azar la elección de los puntos a muestrear se realiza por referencia a unos ejes coordenados fijados en el área. Las coordenadas de los puntos se obtienen por tablas de números al azar y como unidad para cada eje resulta suficiente al considerar 1/1000 de su longitud.

En el muestreo estratificado el azar, la superficie se subdivide en áreas de igual forma y extensión, generalmente cuadrados. Dentro de cada uno de ellos se elige al azar un mismo número de puntos.

En el caso de ser áreas homogéneas de pequeña extensión o cuando no se recurre a uno de los dos muestreos anteriores el procedimiento consistirá en efectuar un recorrido en zig-zag a través de la parcela y tomar una muestra simple cada cierto número de pasos, fijados estos de acuerdo con la extensión de la parcela y el número de muestras simples a tomar.

1.3.2.—Profundidad de muestreo

La profundidad del muestreo viene determinada por la de enraizamiento. Si las raíces llegan hasta una profundidad grande del suelo se tomarán muestras simples a diferentes profundidades sin mezclar muestras simples parciales de diferente profundidad. Como cifras orientativas ofrecemos las siguientes:

Cultivo	Profundidad de muestreo	
	Superficial cms.	Profundo cms.
Praderas	0-10	ninguno
Herbáceos y frutales en no cultivo	0-20	20-40
Frutales labrados	0-30	30-50

La cantidad de porción depende del material usado para el muestreo, siendo importante que cada unidad contenga aproximadamente la misma cantidad de suelo e igualmente repartida entre todo el intervalo que constituye la profundidad del muestreo fig. (4).

ANEXO B

ANEXO B.—TOMA DE MUESTRAS PARA PROSPECCIONES EDAFOLÓGICAS

2.1.—Generalidades

La toma de muestras debe abarcar la totalidad del perfil es decir tanto los horizontes principales como los subhorizontes y horizontes de transición.

Es de la mayor importancia el perfecto conocimiento y descripción del perfil del suelo para la toma de muestras por lo cual previamente se rellenará una ficha descriptiva del perfil (véase modelo adjunto).

Una vez estudiados y descritos en la ficha los horizontes y subhorizontes y determinadas algunas de sus propiedades mediante análisis de caracterización rápida en el campo se procederá a la toma de muestras.

La muestra debe proceder siempre de calicatas a ser posible. En caso de obtenerse por sondeo debe indicarse.

En la toma de muestras hay que tener en cuenta ciertas precauciones como es el caso de suelos que contienen altas proporciones de «elementos gruesos». Es el caso de muestras en terrenos sobre terrazas fluviales o derivados de coluvia de pie de monte. En estos casos se hace necesaria una separación de partes gruesas en el campo por tamizado de la tierra fina que se recoge para su posterior envío al laboratorio, si bien es preciso anotar la proporción de elementos gruesos rechazados, así como su naturaleza, tamaño, características litológicas y mineralógicas ya que en caso contrario nos veremos privados de esta información sobre el material madre.

Esta selección no ha de ser muy precisa pudiendo retirarse los elementos de cierto tamaño, como los mayores de un cm., mediante una simple criba, quedando para el laboratorio la labor de separación restante.

Junto con las muestras debe enviarse al laboratorio una lista detallada de las mismas que comprenda los siguientes epígrafes:

Muestra N.º	Fecha	Profundidad cm.	Horizonte	Clasificación edafológica previa	Observaciones.
-------------	-------	-----------------	-----------	----------------------------------	----------------

2.2.—Técnica de muestreo

2.2.1.—Técnica general

Dentro de cada horizonte representativo del pedion se marca con el cuchillo un rectángulo cuyos límites superior e inferior coinciden con los del horizonte y seguidamente se procede al vaciado homogéneo de este rectángulo en toda su altura hasta el peso de muestra necesario. En el caso de querer aumentar la representatividad del muestreo se repetirá la operación en distintos frentes de la calicata.

Para los horizontes mixtos o de transición es mucho más preciso tomar dos muestras independientes de las áreas aisladas consideradas como un sólo de sus componentes, y mediante el cálculo posterior atribuirle un valor promedio, que obtener inicialmente una muestra media mediante la mezcla en las debidas proporciones de dos materiales de ordinario con propiedades muy distintas.

Especial atención hay que prestar al muestreo por separado de: 1) Eflorescencias superficiales, 2) Las costras, 3) Los nódulos y concreciones, 4) Los limires abruptos entre horizontes y 5) Las «lenguas» y «digitaciones entre horizontes».

Cuando se trata de determinar ciertos contrastes bruscos en la composición, al pasar de uno a otro horizonte, como son los casos del «cambio textural abrupto» y del carácter «paleoc» (en los Paleoxealfs, Palendaldfs, Paleargids, etc.) en las normas del sistema «Soil Taxonomy» o cuando se trata de definir algunos horizontes diagnósticos, cuyas propiedades tienen que alcanzar ciertos valores en ciertos espesores (por ejemplo el horizonte «Argílico» tiene que alcanzar suficiente incremento en la proporción de arcilla, el 20% más que los eluviales, en sus 30 cm superiores), en tales casos será preciso de ordinario atenerse a las especificaciones del tema implicado para poder realizar el muestreo de modo conveniente. En general una toma de muestras cada 2,5 cm (una pulgada inglesa) es la norma más exigente.

2.2.2.—Técnica según intervalos fijos.

Este tipo de muestreo es recomendable cuando se trate de conocer la variación continuada de algún componente, como la arcilla, los carbonatos etc., a fin de estudiar su distribución en el perfil con detalle suficiente y siempre supondrá la toma de un número mucho mayor de muestras que en el caso anterior, ya que los intervalos de los espesores han de ser menores pues si no estos datos carecerían de significación.

HOJA DE CAMPO

ESTUDIO		EVALUACION (JULIO DE 1974)		EVALUACION (JULIO DE 1974)	
NOMBRE	MUESTRA	CONSERVACION	PUNTO N.º	USO DEL SUELO	SITUACION
FORMA	COLOR	TEXTURA	SUELOS	SUELOS	SUELOS
ELEVACION	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS	SUELOS
SUELOS					

ANEXO C

ANEXO C—TOMA DE MUESTRAS DE SUELOS AFECTADOS POR SALINIDAD

3.1.—Estudio de reconocimiento

Para delimitar una zona salina, se hacen tomas de muestras de perfiles del suelo, del orden de 1 a 2 por 100 hectáreas, junto con cuatro tomas de muestras del horizonte superficial a la distancia de unos veinte metros, en torno a cada calicata.

Las muestras obtenidas de los horizontes de cada perfil se analizan separadamente. Las conseguidas de los horizontes superficiales tomadas en torno al perfil se mezclan para obtener una sola.

3.2.—Estudio detallado

Se opera tomando muestras de calicatas del suelo con una intensidad de tomas que varía con el nivel de salinidad encontrado en el estudio de reconocimiento. Como norma general puede establecerse que el número de calicatas a analizar oscila entre 5 y 20 por cada 100 hectáreas.

3.3.—Estudio de control

Conocido mediante el Estudio detallado, el nivel o los niveles de salinidad de la zona examinada se eligen puntos de control, estratégicamente situados y en número dependiente de cada caso particular. En cada punto de control se establece un cuadrado de 6 x 6 metros en los que periódicamente se efectuarán tomas de muestras. Con carácter orientativo se citan las siguientes:

- 3.3.1.—A la profundidad de 0-25 cms, 9 tomas que se mezclan para obtener una.
- 3.3.2.—A la profundidad de 20-50 cms, 5 tomas que se mezclan para obtener una.
- 3.3.3.—A la profundidad 50-100 cms, 5 tomas que se mezclan para obtener una.

En el caso de que haya eflorescencias salinas se muestrean por separado y se retirarán antes de proceder a la toma de muestras descrita anteriormente.

Si se tienen en cuenta la distribución de las comunidades vegetales halófilas en la elección de los puntos de muestreo se aumentará considerablemente la representatividad de éste, así como si se tienen en cuenta los criterios expresados en 1.1.

FIGURAS

