

UNIVERSIDAD NACIONAL AGRARIA DE LA SELVA

FACULTAD DE ZOOTECNIA

Departamento Académico de Ciencia Animal



**“EFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DE
SANGRE DE VACUNO A TEMPERATURA AMBIENTE
SOBRE EL CONTENIDO DE MACRO Y MICRO
ELEMENTOS EN EL PLASMA SANGUÍNEO”**

TESIS

Para optar el Título de:

INGENIERO ZOOTECNISTA

Elvira Trujillo Roberto

PROMOCIÓN 1992 - II

TINGO MARÍA - PERÚ

2002

ACTA DE SUSTENTACION DE TESIS

Los que suscriben, Miembros del Jurado de Tesis, reunidos con fecha 20 de Abril del 2002, a horas 05:00 p.m. en el Aula Modelo de la Facultad de Zootecnia, para calificar la tesis titulada:

"EFECTO DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DE SANGRE DE VACUNO A TEMPERATURA AMBIENTE SOBRE EL CONTENIDO DE MACRO Y MICRO ELEMENTOS EN EL SUERO SANGUÍNEO"

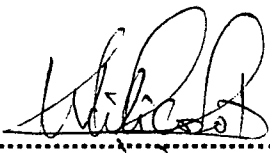
Presentada por la **Bachiller: ELVIRA TRUJILLO ROBERTO**, después de haber escuchado la sustentación y las respuestas a las interrogantes formuladas por el Jurado, se declara aprobado con el calificativo de **"BUENO"**.

En consecuencia, la sustentante queda apta para optar el **Título de INGENIERO ZOOTECNISTA**, que será aprobado por el Consejo de Facultad, tramitándolo al Consejo Universitario para la otorgación del título, de conformidad con lo establecido en el Art. 81 inc. m, del Estatuto de la Universidad Nacional Agraria de la Selva.

Tingo María, 22 de Febrero del 2002.


.....
Ing. **EVER CÁRDENAS RIVERA**
Presidente


.....
Ing. **WALTER PAREDES ORELLANA**
Miembro


.....
Dr. **WILSON CASTILLO SOTO**
Miembro


.....
Ing. **JUAN LAO GONZALES**
Asesor

DEDICATORIA

Con infinito amor, a la memoria de mis padres, gracias a sus sabios consejos, alimentaron mi espíritu de superación.

A mis Hermanos:

Bertha, Carmen, Consuelo Emilia, Gloria, Camilo y Pavel. Por el amor que nos une y el apoyo moral, hicieron posible la formación profesional de la hermana que les dedica estas páginas.

A mis sobrinos:

Amparito, Miluzca, Roxana, Evelyn, Teresa, Andy, Italo, Jimy y Gustavo; con el amor de siempre.

AGRADECIMIENTO

- Al Méd. Vet. Wilfredo Huanca López y al Ing. Juan Lao Gonzáles; patrocinadores del presente trabajo de investigación, por su apoyo incondicional.
- Al Ing. Milton Muñoz Berrocal por su apoyo incondicional en la realización del análisis estadístico.
- Al plantel de docentes de la Facultad de Zootecnia que supieron impartir sus conocimientos como contribución para mi formación profesional.
- A los señores trabajadores de la Granja Zootécnica UNAS, por su colaboración.
- Al Ing. Walter Paredes Orellana, Jefe del Laboratorio de Nutrición Animal y a los señores trabajadores por su valioso apoyo.
- A todas las personas que de una u otra manera han hecho posible la culminación de mis estudios y del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL

	Página
I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Minerales en el Plasma de vacuno	3
2.1.1 Calcio	3
2.1.2 Fósforo	3
2.1.3 Magnesio	4
2.1.4 Potasio	5
2.1.5 Sodio	6
2.1.6 Cobre	6
2.1.7 Hierro	7
2.1.8 Zinc	8
2.1.9 Técnicas de laboratorio	9
III. MATERIALES Y MÉTODOS	13
3.1 Lugar de ejecución del experimento	13
3.2 Animales en experimento	13
3.3 Tratamientos en estudio	14
3.3.1 Variable independiente	14

3.3.2 Variable dependiente	14
3.4 Técnicas experimentales	14
3.4.1 Toma de muestras	14
3.4.2 Procesamiento de muestras	14
3.4.3 Análisis	15
3.5 Análisis estadísticos	15
IV. RESULTADOS.....	16
V. DISCUSIÓN	23
VI. CONCLUSIONES.....	25
VII. RECOMENDACIONES.....	26
VIII. ABSTRACT	27
IX. BIBLIOGRAFÍA	28
X. ANEXO	31

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Concentración promedio de minerales en plasma sanguíneo $\mu\text{g/mL}$ según el tiempo de almacenamiento	17
2. Cuadro de ecuaciones de la concentración de minerales en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.....	17
3. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones del calcio en plasma sanguíneo	32
4. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de fósforo en plasma sanguíneo	32
5. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de magnesio en plasma sanguíneo	33
6. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de sodio en plasma sanguíneo	33
7. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de potasio en plasma sanguíneo	34
8. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de cobre en plasma sanguíneo	34

9. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de Hierro en plasma sanguíneo	35
10. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de zinc en plasma sanguíneo	35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Página
1. Comportamiento de concentración de calcio y fósforo en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre	18
2. Comportamiento de concentración de magnesio en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.....	19
3. Comportamiento de concentración de sodio en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre	20
4. Comportamiento de concentración de potasio en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre	21
5. Comportamiento de concentración de cobre y hierro en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre	22

RESUMEN

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Nutrición Animal de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS), Tingo María, Perú. El objetivo del presente estudio fue cuantificar la concentración de macro y micro minerales en plasma sanguíneo bovino a diferentes horas y establecer el tiempo óptimo de conservación de las muestras de plasma sanguíneo de tal manera que se altere lo menos posible su concentración. Se evaluaron las variables; concentración de minerales como son: calcio, fósforo, magnesio, potasio, sodio, cobre, hierro y zinc, utilizando el análisis de variancia de regresión por Polinomios Ortogonales (Sistema de análisis estadístico UNESP/FCAVJ). El incremento de macro y micro elementos en plasma sanguíneo evaluados a 48 horas de almacenamiento, fueron como siguen: Ca 28.7 %, P 21 %, Mg. 37 %, Na 47 %, K 18 %, Cu 33 % y Fe 17 %. Comparación realizado respecto a la concentración inicial. El zinc permaneció estable, no presentó variaciones significativas.

I. INTRODUCCIÓN

Los minerales son elementos para mantener la salud y vida de los animales considerándose que existe macro y micro elementos esenciales en la alimentación del ganado.

El principal problema que se presenta en las zonas tropicales de nuestro país en la explotación del ganado al pastoreo entre otros factores es la deficiente producción, debido principalmente a que los forrajes tropicales no satisfacen los requerimientos nutritivos en minerales, por la presencia de condiciones ecológicas adversas como altas temperaturas y precipitaciones pluviales, que conlleva a un desbalance de minerales (deficiente o exceso) causando problemas productivos y reproductivos en los animales.

Para realizar evaluaciones del perfil de minerales en plasma sanguíneo de animales de los fundos, enfrentamos una serie de dificultades tales como: la temperatura, el traslado de equipo de laboratorio, la distancia para que la muestra llegue al laboratorio. Estos son factores que alteran, el resultado real del contenido de mineral en el plasma sanguíneo.

El propósito del presente trabajo fue determinar el tiempo óptimo que permita trasladar una muestra de sangre de vacuno a temperatura ambiente, hasta el laboratorio, sin que sufra alteraciones, para medir el nivel de macro y micro elementos.

Si la muestra de sangre sufre alteración, entonces el plasma obtenido a partir de ella modificará su nivel de minerales.

Con las consideraciones indicadas del presente trabajo de investigación se plantearon los siguientes objetivos:

- Evaluar el contenido de macro elementos (Ca, P, Mg, K y Na) y micro elementos (Cu, Fe y Zn) en el plasma sanguíneo de vacuno, a diferentes horas, después de la colecta de sangre.
- Establecer el tiempo en que una muestra de sangre conserva las características naturales sin alterar la composición mineral del plasma.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Minerales en Plasma de Vacuno

2.1.1 Calcio

El calcio es un elemento abundante en el organismo animal es esencial para la formación del esqueleto, la coagulación sanguínea normal, la acción rítmica del corazón, la excitabilidad neuromuscular la activación enzimática y la permeabilidad de las membranas. El calcio se encuentra en el plasma en cantidades de 8 a 10 mg/100 ml de plasma (McDOWELL, 1979; NASON, 1980).

Según MAYNARD (1981), la mayoría de las especies tienen entre 9 y 12 mg de calcio por cada 100 ml de plasma, el calcio se encuentra en la sangre bajo dos formas: una soluble o ionizado que representa el 60% del total y el resto se encuentra unida a las proteínas del plasma y la albúmina.

El 1 % de calcio se encuentra en los tejidos blandos y líquidos con una concentración mayor en el plasma sanguíneo, es esencial para la formación del esqueleto y la coagulación normal (CONRAD, 1984).

2.1.2 Fósforo

La concentración de fósforo en el plasma o suero de la mayoría de las sp. es de 4-8 mg/100ml; en animales jóvenes, los valores es de 3 mg/100ml

que en los adultos. Valores erróneamente elevados ocurre cuando hay hemólisis de los eritrocitos e hidrólisis de los ésteres de fosfatos orgánicos libres (MEDWAY, 1975).

Según MAYNARD (1981), la sangre contiene de 35 a 45 mg de fósforo por cada 100 mililitros y se encuentra en su mayoría dentro de las células, en los animales sanos, el nivel se mantiene por lo general entre 3 y 4 mg por cada 100 ml, aunque esto depende de la edad de la especie.

McDOWELL *et al.* (1993), reporta además de la formación ósea aproximadamente 20% del fósforo en el cuerpo está distribuido entre los tejidos blandos, concentrado especialmente en los glóbulos rojos y en los tejidos musculares y nerviosos, también es esencial para el funcionamiento adecuado de los microorganismos del rúmen especialmente las que digieren la celulosa de las plantas ingeridas para la utilización de los alimentos, para la regularización del pH de la sangre y otros fluidos, para muchos sistemas enzimáticos y el metabolismo de las proteínas.

2.1.3 Magnesio

Según McDOWELL *et al.* (1993), el magnesio es el segundo en abundancia de los fluidos intracelulares. El magnesio tiene una función importante como ión esencial para muchas reacciones enzimáticas en el metabolismo intermediario y también como "activador" de las enzimas, así mismo está involucrado vitalmente en el metabolismo de los carbohidratos y los lípidos, como catalizador de una gran variedad de enzimas que requieren de este elemento para una actividad óptima. También forma parte de la síntesis

de proteínas a través de su acción en agregación ribozomática, tiene una función importante en la transmisión y actividad neuromuscular.

Los mismos autores manifiestan que, los signos clínicos de la deficiencia en los rumiantes influyen la reducción del apetito, excitación incrementada, salivación profusa y convulsiones. En los casos leves de los rumiantes adultos, el rendimiento de la leche es usualmente reducida y los animales se ponen nerviosos. En los casos más severos, las vacas afectadas se pueden mantener alejados del rebaño, presentan rigidez al caminar y pierden el apetito.

McDOWELL *et al.* (1993), reporta que la diagnosis del magnesio en suero sanguíneo los siguientes rangos (mg/100ml) son valores normales de 1.8 a 3.2; hipomagnesemia moderada de 1.2 a 1.8 e hipomagnesemia severa de 1.2 ó menos.

2.1.4 Potasio

El contenido de potasio en el cuerpo es muy similar al del sodio, pero ésta se encuentra como un componente celular. Expuesto en ratas muestra que el plasma tiene unos 4-5 mg/lit, el bazo de las ratas es rico en potasio conteniendo 265 mg/kg (CHURCH, 1974).

El potasio mantiene una relación vital con la excitabilidad nerviosa muscular, con el equilibrio hídrico y ácido base del organismo aunque se desconoce en forma natural una deficiencia de potasio en el bovino. Este elemento se encuentra en abundante cantidad en las raciones y pastos

corrientes según los expertos en nutrición han considerado generalmente al potasio como un nutriente útil, aunque no crítico (UNDERWOOD, 1981).

2.1.5 Sodio

Según McDOWELL *et al.* (1993), el sodio al igual que el potasio actúa en el mantenimiento de la presión osmótica y la regulación del equilibrio ácido base. Este funciona como electrolito en el fluido corporal y están específicamente relacionados con el metabolismo del agua a nivel celular, la toma de nutrientes y la transmisión de impulsos nerviosos. Así mismo manifiestan que el primer signo de una deficiencia de sodio y cloro es el ansia por la sal demostrado por una constante lamer de madera, tierra, sudor de otros animales y el consumo de agua. La deficiencia de sodio es más probable que ocurra durante las siguientes circunstancias. Durante la lactación debido a la deposición de sodio en la leche, en el animal de crecimiento rápido, bajo condiciones de clima tropical, donde grandes cantidades de agua y sodio son perdidas a través del sudor y donde los pastos son deficientes en sodio. En animales consumiendo pastos fuertemente fertilizados con potasio, el cual reduce los niveles de sodio.

2.1.6 Cobre

Según CHURCH (1974), en las especies rumiantes el hígado contiene las mayores concentraciones de cobre, siendo valores de 200 a 300 ppm en base de peso seco y en animales adultos de 200 a 600 ppm.

Para la formación de hemoglobina, es necesario una pequeña cantidad de cobre junto con el hierro. El cobre no es un componente de la

hemoglobina pero se encuentra como hemocupreína dentro de las células sanguíneas. Cuando hay deficiencia de cobre se reduce la absorción de hierro y se produce una anemia, macrocítica hipocrónica muy grande. El cobre desempeña un papel muy importante en la formación de la hemoglobina y de los glóbulos rojos de la sangre, la deficiencia de cobre afecta la reproducción (MAYNARD, 1981).

Según McDOWELL *et al.* (1993), el cobre es necesario para la respiración, la formación de huesos, una apropiada función cardíaca, el desarrollo del tejido conectivo, mielinización de la médula espinal, keratinización de los tejidos, también los mismos autores manifiestan que, el cobre es la limitante más importante para los animales en pastoreo en la mayoría de las regiones tropicales. Las deficiencias de cobre en rumiantes aparecen principalmente bajo condiciones de pastoreo.

La concentración de cobre en la sangre o en el plasma para el ganado ovino, bovino y caprino, el rango normal es de 0.6 a 1.5 $\mu\text{g/mL}$, las concentraciones de cobre en la sangre o en el plasma menores de 0.6 $\mu\text{g/mL}$ indica deficiencia en el ganado ovino y vacuno.

2.1.7 Hierro

McDOWELL *et al.* (1993), reporta que el hierro es un elemento vital en el metabolismo del animal, principalmente en el proceso de respiración celular, como componente de la hemoglobina, la mioglobina, el citocromo y ciertas enzimas, los animales jóvenes requieren más hierro que los animales adultos.

Los rumiantes jóvenes son más susceptibles a la deficiencia de hierro debido a que la leche contiene bajo niveles de hierro. Los terneros alimentados exclusivamente con leche presentan anemia, macrocítica, normocrónica o hipocrónica. Además de la anemia, otros síntomas clínicos como son: baja ganancia de peso, letargo, incapacidad de soportar el esfuerzo circulatorio, respiración difícil después de ejercicio moderado, atrofia de las papilas de la lengua y palidez de las mucosas. En rumiantes adultos es muy raro que ocurra la deficiencia de hierro en animales en pastoreo debido a que las plantas generalmente contienen un nivel adecuado de hierro y también debido a la contaminación de las plantas con el suelo rico en hierro. Para el diagnóstico de la deficiencia de hierro se puede usar la concentración en el suero sanguíneo, la capacidad total de enlace, el valor de saturación del transferrín y los valores de hemoglobina y hematocrito.

2.1.8 Zinc

UNDERWOOD (1981), reporta que la deficiencia de zinc se caracteriza en todas las especies por inapetencia, retraso en el crecimiento, disminución de sus producciones, lesiones en los tegumentos, pelo, lana o plumas; también puede afectar a la espermatogénesis y el desarrollo de los órganos sexuales primarios y secundarios del macho y todas las fases de proceso reproductivo de la hembra desde el celo hasta el parto y la lactación.

Las concentraciones de zinc en el suero sanguíneo oscilan entre 0.8 a 1.2 $\mu\text{g/mL}$. El stress por hipertemia reduce el contenido de zinc en el suero del ganado vacuno, también suele descender en las vacas durante e inmediato después del parto, siendo principalmente apreciables en vacas que padecen distocias.

El contenido de zinc en el plasma es el índice más ampliamente usado para la evaluación de estado del zinc en los humanos y los animales. Para lograr determinar la probabilidad de las deficiencias en grandes poblaciones de rumiantes, se considera que una combinación de concentración de zinc en el plasma (0.6 a 0.8 ppm) y el forraje (< 40 ppm) sería un buen indicador del estado del zinc (McDOWELL, 1967).

2.1.9 Técnicas de laboratorio

Las técnicas de laboratorio en medicina veterinaria han sido usados desde hace tiempo como ayuda al diagnóstico de las enfermedades de los animales domésticos. Al obtener una muestra de sangre animal rara vez puede ser analizado en el laboratorio de inmediato después de extraída por lo que es necesario buscar la forma más apropiada para preservar las características naturales de ésta.

El envío de sangre desde lugares alejados es a veces inevitable, permaneciendo la muestra a una temperatura ambiente cercana a 20 °C. Si la muestra no puede ser examinada dentro de las primeras horas en que ha sido obtenida, puede lograrse una preservación más prolongada cuando es conservada a temperatura de 4 °C y/o con un anticoagulante que mantenga las características morfológicas y bioquímicos de la sangre el mayor tiempo posible (ARCHER, 1977).

Tanto el suero como el plasma en congelación pueden ser conservadas en buen estado. A temperatura que fluctúan entre 0 ° y -5 °C la degradación de proteínas ocurre rápidamente, pero alrededor de -20 °C se

detienen totalmente; sin embargo hay siempre una degradación durante el ciclo de congelación y descongelación, la cual no puede ser evitada (BUSH, 1975).

La concentración de fósforo inorgánico en muestras de suero mantenidas a temperatura ambiente, aumenta debido a hidrólisis de fosfolípidos y ésteres orgánicos por acción de fosfatasas séricas que transforman fósforo orgánico a inorgánicos (SMITH, 1975).

Para la ejecución de los perfiles metabólicos según el método descrito por WITTEWER y CONTRERAS (1980), se usan muestras de sangre con EDTA (etilen – diamino – tetra – acético), para determinar las concentraciones de fósforo inorgánico.

Además se utiliza suero para determinar las concentraciones de calcio, magnesio, sodio y potasio debido a que habitualmente transcurre un tiempo desde que las muestras son obtenidas hasta que llegue al laboratorio para ser analizados pueden producirse variaciones en la concentración de algunos parámetros sanguíneos, las cuales deben ser cuantificados y así determinar su importancia sobre los resultados de los perfiles metabólicos.

BURDIN y JOWARD (1963), reportan que es inevitable un aumento de fósforo en el suero, cuya magnitud va depender de la velocidad y temperatura con que el suero es obtenido.

KLAASSEN (1986), mediante un estudio en la Universidad Austral de Chile realizado sobre la influencia del tiempo y temperatura de conservación de muestra de sangre de bovino con anticoagulante EDTA, a temperatura ambiente (20 °C), las cuales fueron analizados a 24, 48 y 72 horas después de

extraída. Se determinaron las concentraciones séricas, calcio, fósforo, magnesio, sodio y potasio.

Las concentraciones de fósforo y potasio variaron significativamente ($P < 0.01$), incrementos que alcanzaron a 28.6 % y 39 % respectivamente a las 72 horas, el calcio, magnesio y sodio, no presentaron variaciones significativas.

Según ALTMANN y DITTMER (1981), el aumento de las concentraciones de fósforo al almacenar las muestras con EDTA demuestra la ineffectividad de este anticoagulante para inhibir la liberación de fósforo inorgánico. El fósforo inorgánico comprende un 9 % del fósforo sanguíneo total, el resto corresponde a fósforo orgánico del cual más de un 70 % está unido al componente celular. Basado en esto TELONI (1976), reporta que la forma más adecuada de evitar variaciones en la concentración de fósforo inorgánico es separar el plasma de la fracción celular lo más pronto posible, luego que la muestra es obtenida.

La variación en la concentración de potasio, calcio, magnesio, sodio, cobre y hierro, indica pérdida de la estructura bioquímica y funcional de la membrana celular, efecto que sería acentuado por la temperatura no pudiendo mantener una concentración normal de cationes dentro de la célula (TOSTESON, 1967).

La mayor concentración de magnesio, potasio, hierro y cobre sanguíneo se encuentra en el interior de los eritrocitos, al producir la alteración de su membrana tienden a un equilibrio entre el líquido inter e intracelular del coágulo, provocando su aumento en el suero (HAYS y SWENSON, 1977).

MEDWAY (1980), reporta que el primer requisito exigido en una sangre enviada para análisis químico que se conserve cuando sea posible, en estado semejante, que al momento que fue obtenida. Esto es muy difícil de lograr ya que tiene lugar a rápidos cambios en la composición química. Las células continúan su metabolismo, desaparecen algunos componentes y se forman otros.

Por ejemplo los electrolitos intracelulares se difunden en el plasma en cuanto las células se enfrían y su metabolismo cesa. Para disminuir estos cambios se deben tomar ciertas precauciones (utilizar anticoagulantes) que se elija conforme al estudio previo.

La posición adecuada y sujeción efectiva del animal son esenciales para un muestreo con éxito, un poco de tiempo empleado haciendo amigos, ganando la confianza del animal, porque la sangre tomada del animal asustado es animal adrenilizado, puede originar resultados equivocados en varios análisis, por ejemplo en el fósforo, zinc, etc.

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Lugar de Ejecución del Experimento

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Nutrición Animal y en la granja zootécnica de la Universidad Nacional Agraria de la Selva (UNAS) de Tingo María, ubicada en la provincia de Leoncio Prado, departamento de Huanuco, región Andrés Avelino Cáceres.

Geográficamente situada a 09°17'05" de Latitud Sur, y 76°01'07" de Longitud Oeste, a una Altitud de 660 m.s.n.m. con un clima húmedo, temperatura media anual de 24.5 °C y precipitación pluvial promedio anual de 3,450 mm. distribuidos en una época de mayor precipitación (enero, febrero, marzo), una de menor precipitación (de agosto a octubre) y una humedad relativa de 83.6 %.

La fase experimental se inició el 26 de Agosto de 1993 y se culminó el 08 de Enero de 1994.

3.2 Animales en Experimento

Para el presente trabajo se eligieron 20 vacas en producción de la granja zootécnica de la UNAS, bajo el sistema de alimentación semi – intensiva, con dos ordeños diarios.

3.3 Tratamientos en Estudio

Se consideró el tiempo de separación del plasma y sólidos, de las muestras tomadas.

3.3.1 Variable independiente

Se consideró cinco tiempos para hacer la separación de sólidos de sangre para obtener el plasma. Estos tiempos fueron: 0, 6, 12, 24, 48 horas.

3.3.2 Variable dependiente

Se consideró los minerales: calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cobre, hierro y zinc en plasma sanguíneo.

3.4 Técnicas Experimentales

Para mejor entendimiento de este ítem, se ha considerado tres aspectos: Toma de muestras, procesamiento de muestras y análisis.

3.4.1 Toma de muestras

De cada animal se tomó cinco muestras de sangre en tubos de polietileno, conteniendo anticoagulante EDTA fue mediante punción yugular, con agujas hipodérmica N° 16, estas muestras fueron conservadas a temperatura ambiente.

3.4.2 Procesamiento de muestras

En el laboratorio de Nutrición Animal de la UNAS, las cinco muestras de cada animal fueron centrifugadas a 5 000 rpm a las 0, 6, 12, 24, 48 horas respectivamente para obtener el plasma sanguíneo.

3.4.3 Análisis

Para la lectura de los minerales, primero se realizó la digestión húmeda del plasma. Para el Ca y el Mg, las diluciones se hizo con LaO_3 (óxido de lantano) al 0.1 %, para el Na, K, Cu, Fe y Zn, las diluciones fueron con agua. Para realizar la lectura de la concentración de estos minerales, se usó un Espectrofotómetro de Absorción Atómica (video 12 copyright, 1983 Allrights Roserved Publisher in USA).

En el caso del fósforo se usó la técnica del Metabanato de Amonio y la lectura se realizó por colorimetría, usando un Espectrofotómetro modelo Espectrónico 20-D.

3.5 Análisis Estadístico

Con los datos obtenidos se procedió a realizar el Análisis Estadístico, utilizando el análisis de variancia de regresión por polinomios ortogonales (Sistema de Análisis Estadístico UNESP/FCAVJ), siguiendo el procedimiento descrito por BANZATTO y KRONKA (1995).

IV. RESULTADOS

Los resultados obtenidos del contenido de calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cobre, hierro y zinc en plasma sanguíneo de vacuno almacenado a diferentes horas se observa en el Cuadro 1.

Los minerales presentan un aumento en su concentración a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento de la sangre antes de ser separado el plasma sanguíneo (Figuras 1, 2, 3,4 y 5).

En tanto que el zinc no sufrió alteraciones significativas con el almacenamiento de la sangre.

Cuadro 1. Concentración promedio de minerales en plasma sanguíneo ($\mu\text{g/mL}$) según el tiempo de almacenamiento.

Minerales	Tiempo (horas)					Rg	CV
	0	6	12	24	48		
Calcio	127.60	129.45	139.65	141.40	164.25	L**	27.36
Fósforo	40.00	41.05	41.85	41.90	48.55	L**	16.19
Magnesio	28.00	28.00	29.00	31.00	38.32	C**	0.69
Sodio	2989.47	3131.58	3378.95	3684.21	4389.47	L**	29.71
Potasio	3669.47	3732.63	3773.16	3944.74	4323.68	L**	12.17
Cobre	0.42	0.44	0.45	0.49	0.55	L**	18.57
Hierro	0.75	0.77	0.73	0.90	0.88	L**	29.35
Zinc	0.64	0.66	0.58	0.70	0.73	NS	36.68

Reg = Análisis de variancia de la regresión:

L = regresión lineal, C = Regresión cuadrática, NS = No significativo; * : $P < 0.05$,

** : $P < 0.01$.

Cuadro 2. Cuadro de ecuaciones de la concentración de minerales en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.

Minerales	Ecuaciones	R ²
Calcio	$Y = 126.873 + 0.755 X$	0.96
Fósforo	$Y = 40.1175 + 0.1863 X$	0.96
Magnesio	$Y = 27.876 + 0.4026 X + 0.003697 X^2$	0.99
Sodio	$Y = 2988.158 + 29.254 X$	0.99
Potasio	$Y = 3640.013 + 13.818 X$	0.99
Cobre	$Y = 0.4189 + 0.0028 X$	0.99
Hierro	$Y = 0.7465 + 0.032 X$	0.86

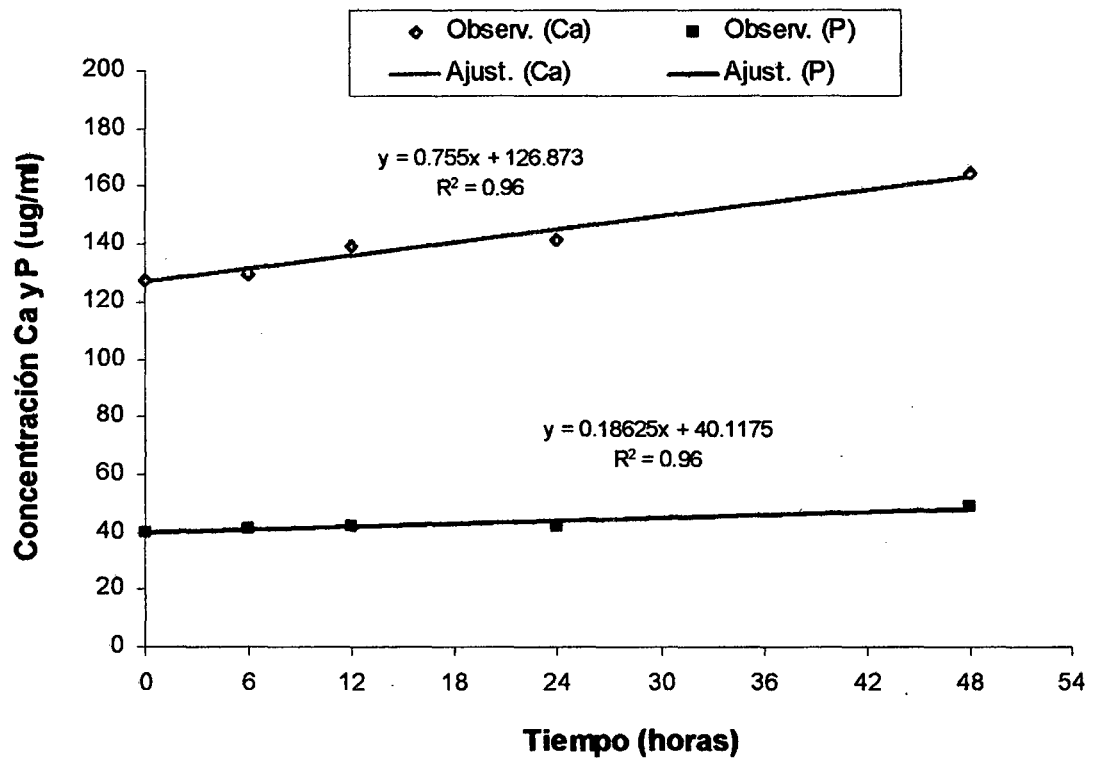


Figura 1. Comportamiento de concentración de calcio y fósforo en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.

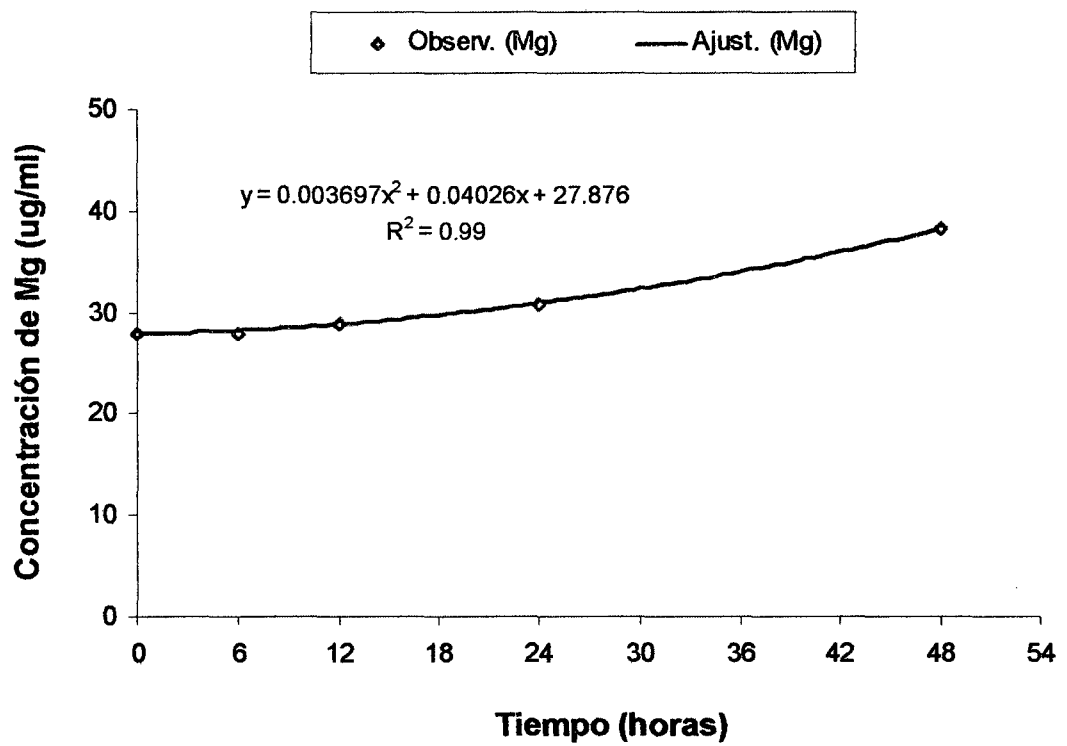


Figura 2. Comportamiento de concentración de magnesio en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.

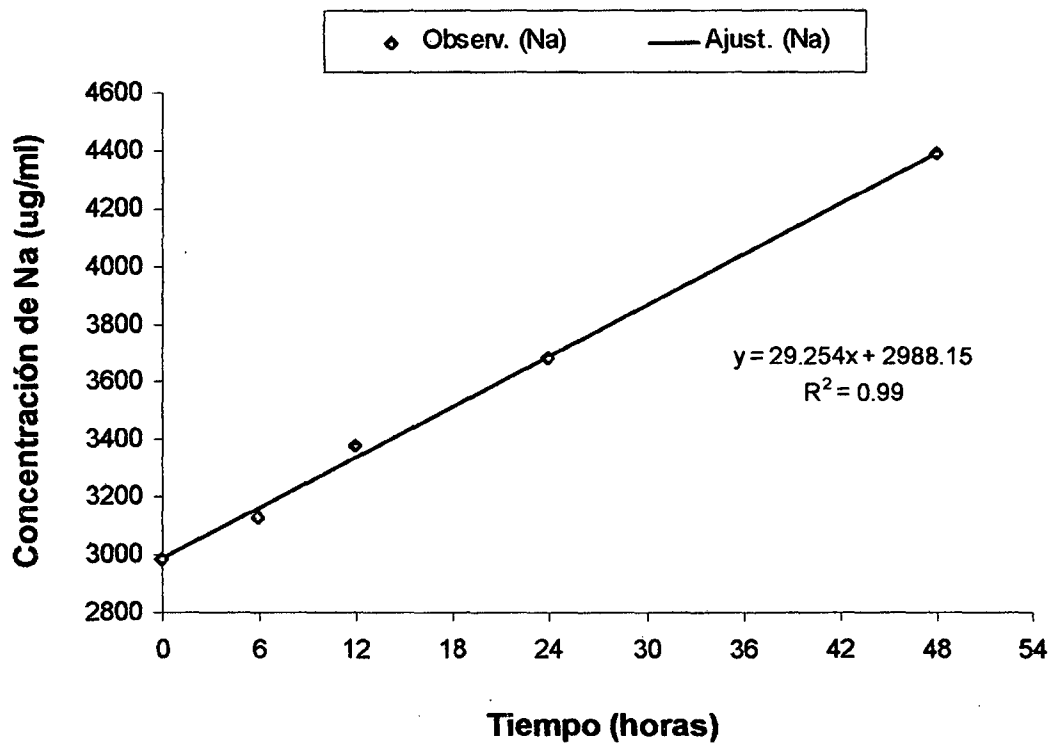


Figura 3. Comportamiento de concentración de sodio en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.

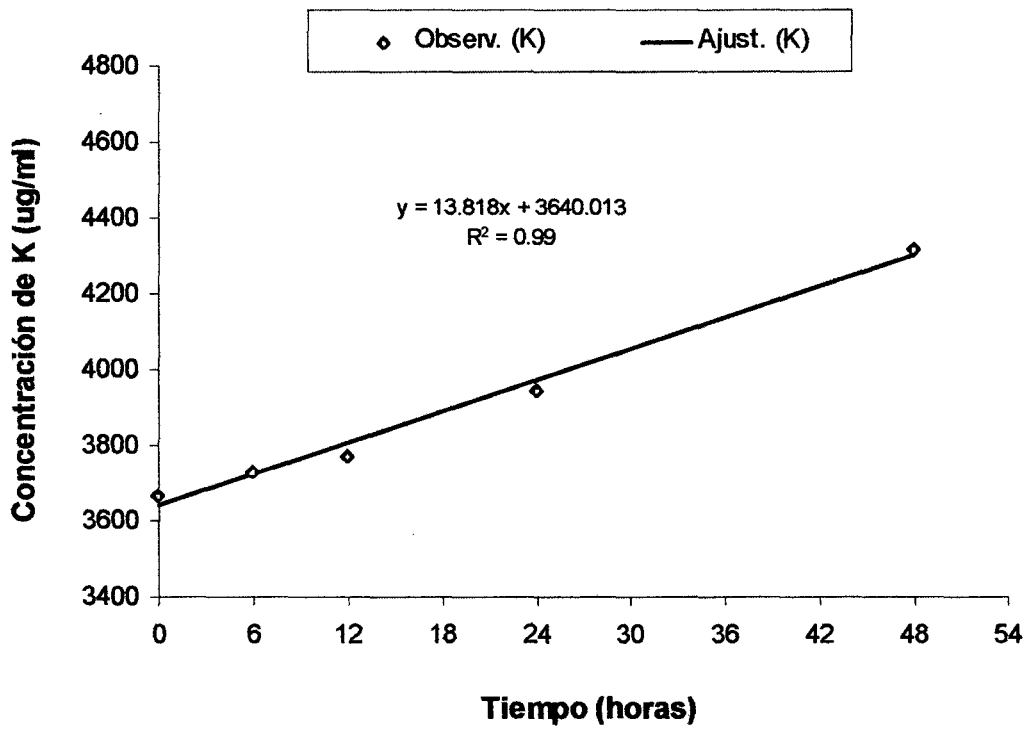


Figura 4. Comportamiento de concentración de potasio en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.

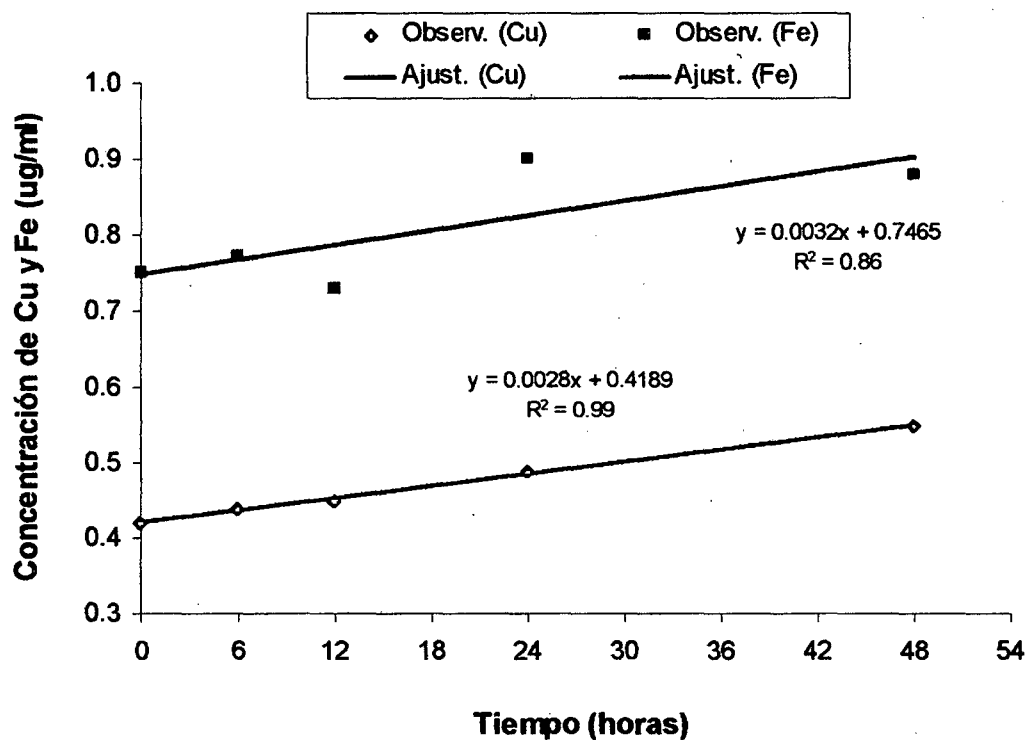


Figura 5. Comportamiento de concentración de cobre y hierro en plasma sanguíneo en función del tiempo de almacenamiento de la sangre.

V. DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos en el presente trabajo sobre el contenido de calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cobre y hierro en plasma sanguíneo de vacuno se incrementaron el nivel de significancia ($P < 0.01$), a las 6, 12, 24 y 48 horas de almacenamiento en relación de una muestra fresca (0 horas) (Cuadro 1). Indicaría pérdida de la estructura bioquímica y funcional de la membrana celular por efecto de la temperatura alterando la concentración normal de cationes dentro de las células (TOSTESON, 1967).

Cabe señalar que la mayor concentración de P, Mg, K, Cu, Fe y Zn sanguíneo se encuentran en el interior de los eritrocitos (HAYS y SWENSON, 1977; MAYNARD, 1981; McDOWELL *et al.*, 1993). Cuando se produce una alteración en la membrana celular la concentración de éstos elementos tienden a un equilibrio entre el líquido inter e intracelular del coágulo provocando su aumento en el suero (HAYS y SWENSON, 1977).

Según algunos autores es inevitable un aumento del fósforo en el suero cuya magnitud va depender de la velocidad y temperatura con que el suero es obtenido (BURDIN, HOWARD, 1963; SMITH 1975). Esto fue corroborado por (KLAASSEN, 1986), en un trabajo de investigación realizado en la Universidad Austral de Chile quién encontró resultados similares.

La concentración de Zinc en plasma sanguíneo almacenados con el coágulo hasta por 48 horas permaneció estable con ligeras variaciones ($P>0.05$), la que revela una buena estabilidad de este elemento en muestras de sangre almacenados a temperatura ambiente.

VI. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos en el presente estudio se llegó a las siguientes conclusiones:

- El contenido de calcio, fósforo, magnesio, sodio, potasio, cobre y hierro en plasma sanguíneo de vacuno almacenado (6, 12, 24 y 48 horas), se obtuvo un incremento ($P < 0.01$) en función del tiempo, en comparación con el contenido de muestras frescas (0 horas).
- La concentración de zinc en plasma sanguíneo no presentó incrementos significativos.

VII. RECOMENDACIONES

En base a los resultados del trabajo de investigación efectuado se recomienda:

- Realizar la obtención de plasma sanguíneo para la lectura de minerales Ca, P, Mg, Na, K Cu, y Fe, inmediatamente de haber obtenido las muestras de sangre.
- Para evaluar la concentración de zinc se puede almacenar hasta las 48 horas.
- Realizar estudios similares en el área de minerales, para de esta manera reforzar los estudios realizados, considerando que el presente sirva como base para futuras investigaciones.

VIII. ABSTRACT

The time effect of store of blood cow to temperature ambient on the content of macro an micro element's in bloody plasma.

The present study was accomplished in the animal nourishm ent Laboratory of the Agrarian National University of the Jungle (UNAS) Tingo María – Perú. The objective of the present study was quantified the concentration of macro and micro mineral's in sanguine bovine whey from different hours and to establish the optimum conservation time of the sanguine whey samples in such a way that is altered; it lees possible its concentration they were evaluated the variables; minerals concentration as are: calcium, phosphorus, magnesium, potassium, sodium, copper, iron, and zinc, using the analysis of regression variancia for Polynomials Ortogonales (System of statistical analysis UNESP/FCAVJ). The increment of macro and micro elements in sanguine where evaluated to 48 storage hours, they were as continues: Ca 28.7 %, P 21 %, Mg. 37 %, Na 47 %, K 18 %, Cu 33 %, and Fe 17 %. Comparison accomplished with respect to the initial concentration. The Zn to stay stable, not mut diference significative.

IX. BIBLIOGRAFÍA

- ARCHER, R.K. 1977. Technical methods. En R. K. Archer y I.b. Jeffcoott. Comparative Clinical Haematology L. Equipament and Techniques: Vet, Rec. 80: 690 - 695.
- ALTMANN P.L y DITMER. D.S., 1961. Blood and other body fluides. Washington D.C. Fed. A.m. Soc. Exp. Bio. Acta 31: 57 - 96
- BANZATTO, A y KRONKA, S. 1995. Experimentação Agrícola. 3^{ra}. ed. Jaboticabal. FUNEP. 247 p.
- BUSH, B. M. 1975. Veterinary Laboratory Manual. London W. Heimemann. J. Arg. Food Chem. 22: 44.
- BURDIN, M. L. y HOWARD. D. A., 1963. A blod preservative and anticoagulant ford inorganic phoyphate and other determinations. Vet. Rec. 75: 494 – 498.
- CONRAD, G.L. 1984. Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. Centro de Agricultura Tropical. Universidad Florida. 430 p.
- CHURCH, D.C. 1974. Fisiología animal y nutrición de los rumiantes. Acribia, Zaragoza (España), Vol. 2. 484 p.

- HAYS, V. W. y SWEWNSON. M. J., 1977. Minerals bones and joints. Physiology of domestic animals. 9 th ed. New York Cornell University. Can. Vet. J. 17: 213 – 215.
- KLAASSEN, R. 1986. Efecto del tiempo, temperature de conservación y del anticoagulante EDTA/NAF en muestras para perfiles metabólicos. Trabajo presentado para optar el grado de licenciado en Med. Vet. en la Universidad Austral de Chile 52 p.
- MAYNAR, L. 1981. Nutrición animal. 2º edición. Editorial Litográfica Ingrasnex S.A. México. 640 p.
- McDOWELL, L.; CONRAD, J. y HEMBRY, F. 1993. Minerales para rumiantes en pastoreo en regiones tropicales. 2^{da} ed. Boletín del Departamento de Zootecnia del Centro de Agricultura Tropical, Universidad de Florida, Gaines Ville. EE.UU. 76 p.
- McDOWELL, L.R. 1979 Nutrición Animal. 2^{da} ed. Editorial And Boyd: Edimburgh. 462 p.
- McDOWELL, L.R. 1976. Minerals deficiencies and toxicities and their effects on beff cattle production in developing countries, Edimburg: J - Nutr. 21: 751 P.
- MEDWAY, P. 1980. Patología clínica veterinaria. Unión tipográfica editorial por UTEHA, S.A. de C.V. Hispano Americano. 532 p.
- NASON, A. 1980. Biología. Decimoséptima reimpresión. Editorial Milusa. S.A. México. 726 p.

- SMITH, V. A.; FRASER, J. y HARA, P. J. O. 1975. Blood sampling for inorganic phosphate analysis. N. Z. Vet. J. 23: 190 - 192.
- TELENI, E.H. 1976. Some factors affecting the measurement of Blood inorganic phosphorus in cattle Aust. Vet. J. 52: 529 - 533.
- TOSTESON, D. C. 1967. Electrolyte composition and transport in red blood cells. Fed. Proc. 26: 1805.
- UNDERWOOD, E. 1981. Los minerales en la nutrición del ganado. Edit. Acriba. Zaragoza, España. 203 p.
- WITTWER, F. y CONTRERAS, P. 1980. Empleo de los perfiles metabólicos en el Sur de Chile. Arch. Med. Vet. 12: -221 - 228.

X. ANEXO

Cuadro 3. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de calcio en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	16434.8450	16434.8450	11.1256 **	0.9621
Reg. Grado 2	1	71.1564	71.1564	0.0482 NS	0.9663
Reg. Grado 3	1	169.7561	169.7561	0.1149 NS	0.9762
Desv. Reg.	1	406.3025	406.3025	0.2750 NS	
(Tratamientos)	(4)	17082.0600	4270.5150		
Residuo	95	140334.8500	1477.2089		

CV = 27.36

** = P < 0.01

Cuadro 4. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de fósforo en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	999.0450	999.0450	20.1581**	0.96
Reg. Grado 2	1	18.5614	18.5614	0.3745 NS	0.97
Reg. Grado 3	1	23.4513	23.4513	0.4732 NS	0.99
Desv. Reg.	1	3.6023	3.6023	0.0727 NS	
(Tratamientos)	(4)	1044.6600	261.1650		
Residuo	95	4708.2500	49.5605		

CV = 16.19

** = P < 0.01

Cuadro 5. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de magnesio en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	1363.5842	1363.5842	29893.9615 **	0.9515
Reg. Grado 2	1	63.8047	63.8047	1686.4874 **	0.9988
Reg. Grado 3	1	0.2995	0.2995	6.5650 *	0.9990
Desv. Reg.	1	1.4274	1.4274	31.2937 **	
(Tratamientos)	(4)	1433.1158	358.2789		
Residuo	95	4.1053	0.0456		

CV = 0.6920

** = P < 0.01

Cuadro 6. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de sodio en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	23415210.256	23415210.256	21.4701**	0.9978
Reg. Grado 2	1	2273.0835	2273.0835	0.0021 NS	0.9979
Reg. Grado 3	1	1684.4502	1684.4502	0.0015 NS	0.9980
Desv. Reg.	1	46516.1506	46516.1506	0.0427 NS	
(Tratamientos)	(4)	23465684.2105			
Residuo	95	98153684.2105			

CV = 29.71

** = P < 0.01

Cuadro 7. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de potasio en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	5224026.4474	5224026.4474	23.3236 **	0.9886
Reg. Grado 2	1	53693.0668	53693.0668	0.2397 NS	0.9988
Reg. Grado 3	1	1566.1643	1566.1643	0.0070 NS	0.9991
Desv. Reg.	1	4973.2689	4973.2689	0.0222 NS	
(Tratamientos)	(4)	5284258.9474	1321064.7368		
Residuo	95	20158189.4737	223979.8830		

CV = 12.17

** = P < 0.01

Cuadro 8. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de cobre en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	0.2156	0.2156	28.3569 **	0.9922
Reg. Grado 2	1	0.0001	0.0001	0.0124 NS	0.9927
Reg. Grado 3	1	0.0000	0.0000	0.0005 NS	0.9927
Desv. Reg.	1	0.0016	0.0016	0.2086 NS	
(Tratamientos)	(4)	0.2173	0.0543		
Residuo	95	0.6842	0.0076		

CV = 18.57

** = P < 0.01

Cuadro 9. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de hierro en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	0.7642	0.7642	13.0604 **	0.8606
Reg. Grado 2	1	0.0014	0.0014	0.0231 NS	0.8621
Reg. Grado 3	1	0.0789	0.0789	1.3479 NS	0.9510
Desv. Reg.	1	0.0436	0.0436	0.7443 NS	
(Tratamientos)	(4)	0.8880	0.2220		
Residuo	95	5.2663	0.0585		

CV = 29.35

** = P < 0.01

Cuadro 10. Análisis de variancia de regresión para las concentraciones de Zinc en plasma sanguíneo.

Causas de Variación	GL	SC	CM	F	R ²
Reg. Grado 1	1	0.1316	0.1316	2.2308 NS	0.5595
Reg. Grado 2	1	0.0091	0.0091	0.1542 NS	0.5982
Reg. Grado 3	1	0.0363	0.0363	0.6192 NS	0.7535
Desv. Reg.	1	0.0580	0.0580	0.9828 NS	
(Tratamientos)	(4)	0.2352	0.0588		
Residuo	95	5.3084	0.0590		

CV = 36.68

NS = No significativo.