

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS

Determinación de azufre, boro y fósforo en tejido foliar por espectrofotometría de  
emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES)

Disertación previa a la obtención del título de Licenciado en Ciencias Químicas  
Especialidad Química Analítica

FAUSTO ADRIÁN PACHACAMA SOLA

Quito, 2013

## CERTIFICACIÓN

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, Especialidad Química Analítica, del candidato Sr. Fausto Adrián Pachacama Sola ha sido concluida de conformidad con las normas establecidas; por lo tanto puede ser presentada para la calificación correspondiente.

Fecha:.....

Firma del Director de la Disertación

## DEDICATORIA

### *A mi madre y padre.*

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

### *A mis familiares.*

A mi hermanas, por ser el ejemplo de hermanas mayor y de la cual aprendí aciertos y de momentos difíciles; a mi tía, abuelita y a todos aquellos que participaron directa o indirectamente en la elaboración e inspiración de esta disertación.

### *A mis maestros.*

Mater Yolanda Jibaja por su gran apoyo y motivación para la culminación de nuestros estudios profesionales y para la elaboración de esta disertación.

### *A mis amigos.*

Que nos apoyamos mutuamente en nuestra formación profesional y que hasta ahora, seguimos siendo amigos: Michelle Flores, Enrique Chávez, Andrea Marcillo, Estefanía Arias, Fernanda Montaña, Elizabeth Flores, Manolo Orna, Natalia Heras y Henry Quintana por haberme ayudado a realizar este trabajo.

## AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo de disertación primeramente me gustaría agradecerle a Dios por bendecirme para llegar hasta donde he llegado, porque hiciste realidad este sueño anhelado.

A la PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR por darme la oportunidad de estudiar y ser un profesional.

A mi directora de tesis, Mtr. Yolanda Jibaja por su esfuerzo y dedicación, quien con sus conocimientos, experiencia, paciencia y motivación ha logrado que pueda terminar mis estudios con éxito.

También me gustaría agradecer al laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) INIAP que me permitió desarrollar la parte experimental, en especial a la Dra. Soraya Alvarado Directora del Departamento de Aguas y Suelos del DMSA, Dr. Fabián Moscoso Director de Laboratorio y Ing. Irma Monar por sus consejos, enseñanza y más que todo por su amistad.

Para ellos: muchas gracias y que Dios los bendiga

## TABLA DE CONTENIDOS

DEDICATORIA.....	iii
AGRADECIMIENTOS.....	iv
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	3
INTRODUCCIÓN.....	5

### CAPÍTULO I

NUTRICIÓN MINERAL DE LAS PLANTAS.....	8
1.1 Macro y micronutrientes de las plantas.....	8
1.2 Funciones de los nutrientes en las plantas.....	9
1.3 Fósforo.....	10
1.3.1 Efecto del pH en la disponibilidad de fósforo.....	11
1.3.2 Efecto del fósforo sobre el crecimiento de las plantas.....	12
1.4 Azufre.....	13
1.4.1 Síntomas de deficiencia del azufre.....	15
1.5 Boro.....	15
1.5.1 Funciones del boro en la planta.....	16
1.5.2 Síntomas de deficiencias de boro.....	16
1.5.3 Exceso de boro en las plantas.....	16

## CAPÍTULO II

ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA.....	17
2.1 Espectrometría de emisión con fuentes de plasma.....	19
2.1.1 Fuentes de plasma acoplado por inducción.....	21
2.2 Espectrómetro de emisión con fuentes de plasma.....	22
2.2.1 Partes del equipo ICP-OES.....	23
2.2.1.1 Sistema de introducción de la muestra.....	24
Nebulizador.....	24
Bomba peristáltica.....	24
Cámara de nebulización.....	25
2.2.1.2 Sistema de producción de emisión.....	25
2.2.1.3 Sistema de colección y detección de la radiación emitida.....	25
Elementos de transferencia óptica.....	25
Mecanismo de dispersión de la longitud de onda.....	26
Espectrómetro.....	26
Detectores.....	27

## CAPÍTULO III

DETERMINACIÓN DE FÓSFORO, AZUFRE Y BORO.....	28
3.1 Muestreo.....	28
3.1.1 Procedencia de las muestras.....	28
3.1.2 Selección de las plantas.....	29
3.1.3 Toma de la muestra.....	30
3.2 Preparación de la muestra.....	31

3.3	Extracción de los analitos.....	32
3.3.1	Equipo.....	32
3.3.2	Reactivos.....	32
3.3.3	Materiales.....	32
3.3.4	Procedimiento.....	33
3.4	Cuantificación de fósforo, azufre y boro por espectrofotometría de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES).....	34
3.4.1	Calibración del equipo.....	34
3.4.2	Selección de longitud de onda y vista del plasma.....	34
3.4.3	Determinación de la linealidad.....	35
3.4.3.1	Reactivos.....	35
3.4.3.2	Materiales.....	35
3.4.3.3	Procedimiento.....	35
3.4.4	Determinación del rango linear.....	37
3.4.5	Determinación del límite de detección.....	37
3.4.6	Determinación del límite de cuantificación.....	38
3.4.7	Determinación de la precisión.....	38
3.4.7.1	Fortificación de las muestras.....	39
3.4.8	Determinación de la exactitud.....	40
3.4.9	Lectura de fósforo, azufre y boro en tejido foliar de banano y rosas.....	40

## **CAPÍTULO IV**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1 Muestreo.....	41
4.2 Calibración del equipo.....	44
4.3 Linealidad.....	46
4.4 Rango linear.....	51
4.5 Límites de detección y cuantificación.....	54
4.6 Precisión y exactitud.....	55
4.7 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en tejido foliar de banano y rosas.....	56

## **CAPÍTULO V**

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES.....	77
5.1 Conclusiones.....	77
5.2 Recomendaciones.....	79
BIBLIOGRAFÍA.....	80
ANEXOS.....	84

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Elementos esenciales, formas de absorción y composición aproximada en las plantas.....	9
Tabla 2.1 Métodos atómicos de emisión.....	18
Tabla 3.1 Relación entre el número de plantas a muestrear en una subparcela y el número de plantas totales de la misma.....	30
Tabla 3.2 Procedencia de las muestras.....	31
Tabla 3.3 Posibles longitudes de onda del software “WinLab 32” para los analitos P, S y B.....	34
Tabla 3.4 Concentraciones de las soluciones estándares para el estudio de la linealidad.....	36
Tabla 3.5 Concentración final en los niveles de fortificación.....	39
Tabla 4.1 Número de muestras colectadas en la subparcela.....	41
Tabla 4.2 Características físicas de las muestras de banano variedad Dominico.....	42
Tabla 4.3 Características físicas de las muestras de banano variedad Maqueño.....	43
Tabla 4.4 Características físicas de las muestras de rosas variedad Grandiflora.....	44
Tabla 4.5 Características físicas de las muestras de rosas variedad Híbridas de Te...	44
Tabla 4.6 Condiciones de operación para el ICP-OES.....	45
Tabla 4.7 Soluciones estándares de fósforo y valores de intensidad.....	46
Tabla 4.8 Soluciones estándares de azufre y valores de intensidad.....	48
Tabla 4.9 Soluciones estándares de boro y valores de intensidad.....	49
Tabla 4.10 Resultados de rango lineal para fósforo.....	51
Tabla 4.11 Resultados de rango lineal para azufre.....	52

Tabla 4.12 Resultados de rango lineal para boro.....	53
Tabla 4.13 Concentración de blancos para la determinación del límite de detección y cuantificación.....	54
Tabla 4.14 Precisión y exactitud para fósforo, azufre y boro.....	55
Tabla 4.15 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de banano, variedad Dominico.....	56
Tabla 4.16 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de banano, variedad Maqueño.....	61
Tabla 4.17 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de rosas, variedad Grandiflora.....	66
Tabla 4.18 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de rosas, variedad Híbridas de Té.....	71

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1. Representación del ciclo de fósforo en un sistema suelo-planta.....	11
Figura 1.2. Porcentaje de distribución de iones en el suelo según su pH.....	12
Figura 1.3. Representación gráfica del ciclo de azufre en un sistema suelo-planta....	14
Figura 2.1 Tabla periódica con los elementos que se pueden determinar por ICP- OES y sus límites de detección en $\mu\text{g/L}$ .....	20
Figura 2.2 Fuente de plasma acoplado por inducción.....	22
Figura 2.3 Componentes principales de un equipo típico ICP-OES.....	23
Figura 4.1 Puntos de muestreo en las subparcelas de banano.....	42
Figura 4.2 Puntos de muestreo en las subparcelas de rosas.....	43
Figura 4.3 Linealidad para fósforo.....	47
Figura 4.4 Linealidad para azufre.....	49
Figura 4.5 Linealidad para boro.....	50
Figura 4.6 Rango linear de fósforo.....	51
Figura 4.7 Rango linear de azufre.....	52
Figura 4.8 Rango linear de boro.....	53
Figura 4.9 Cuantificación de fósforo en banano variedad Dominico.....	58
Figura 4.10 Cuantificación de azufre en banano variedad Dominico.....	59
Figura 4.11 Cuantificación de boro en banano variedad Dominico.....	60
Figura 4.12 Cuantificación de fósforo en banano variedad Maqueño.....	63
Figura 4.13 Cuantificación de azufre en banano variedad Maqueño.....	64
Figura 4.14 Cuantificación de boro en banano variedad Maqueño.....	65
Figura 4.15 Cuantificación de fósforo en rosas variedad Grandiflora.....	68

Figura 4.16 Cuantificación de azufre en rosas variedad Grandiflora.....	69
Figura 4.17 Cuantificación de boro en rosas variedad Grandiflora.....	70
Figura 4.18 Cuantificación de fósforo en rosas variedad Híbridas de Té.....	73
Figura 4.19 Cuantificación de azufre en rosas variedad Híbridas de Té.....	74
Figura 4.20 Cuantificación de boro en rosas variedad Híbridas de Té.....	75

## LISTA DE ANEXOS

Anexo 1. Certificado del Standard Reference Material 1570a Spinach Leaves Otorgado por el National Institute of Standards & Technology.....	84
Anexo 2. Software utilizado “WinLab 32”.....	85
Anexo 3. Datos de precisión y exactitud para fósforo.....	87
Anexo 4. Datos de precisión y exactitud para azufre.....	88
Anexo 5. Datos de precisión y exactitud para boro.....	89

## RESUMEN

El presente estudio tiene por objeto optimizar la técnica de análisis de espectroscopia de emisión atómica por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES) para determinar el contenido de fósforo, azufre y boro en tejido foliar de banano y rosas en cultivos en las provincias de El Oro y Cotopaxi.

El laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) donde se desarrolló la parte experimental de esta investigación utilizaba tradicionalmente técnicas fotolorimétricas para la cuantificación de boro, azufre y fósforo; las mismas que desde el punto de vista analítico presentan limitaciones: los extractos coloreados por ejemplo, dificultan la lectura apropiada en el equipo, o el empleo de reactivos altamente tóxicos. Por esta razón fue imperiosa la necesidad de implementar métodos menos nocivos para el personal y el medio ambiente, al ser una técnica multielemental permite optimizar el tiempo de preparación de la muestra, costos de reactivos, por estas razones se propuso optimizar la técnica de espectroscopia de emisión atómica por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica para el análisis de estos elementos en diferentes matrices.

En el presente estudio se describen los métodos utilizados para el muestreo, extracción de los analitos, optimización del equipo y cuantificación de fósforo, azufre y boro en tejido foliar de banano y rosas.

Las 144 muestras con las que se trabajó se colectaron siguiendo las normas apropiadas, para luego ser clasificadas, secadas y molidas, la extracción de los analitos se realizó mediante digestión ácida usando un horno microondas y finalmente para cuantificar se utilizó un equipo PERKIN ELMER Optima 2600.

Para asegurar la calidad de los resultados obtenidos se optimizó el equipo seleccionando la longitud de onda, vista de plasma y flujos adecuados, se utilizó como material de referencia el Standard Reference Material 1570a Spinach Leaves.

Finalmente, se procedió a cuantificar los analitos y mediante una gráfica de concentración en función de las muestras analizadas para cada una de las variedades de los dos diferentes tipos de cultivo se visualizó el comportamiento del analito y el estado nutrimental de la planta, observando que el contenido de fósforo, azufre y boro en la variedad Dominico y Maqueño los valores se encuentran dentro de los niveles de referencia considerados como óptimos para el tipo de estudio, a excepción de las muestras 8 a la 13 y de la 37 a la 40 que presentan una concentración de fósforo inferior al nivel mínimo de referencia.

En lo referente a las muestras de rosas variedad Grandiflora e Híbridas de Té, los analitos tienen una concentración menor al nivel mínimo de referencia en las siguientes muestras: de la muestra 1 al 15, de la 21 a la 26 y de la 45 a la 48 en fósforo, de la 21 a la 26 en azufre y de la 49 a la 55 en boro.

## **ABSTRACT**

The present study has like aim to optimize the technique of inductively coupled plasma emission spectroscopy and optical detection (ICP-AES) to determine the content of phosphorus, sulfur and boron in leaf tissue and roses banana crops in provinces of El Oro and Cotopaxi.

The laboratory of Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) of Estación Experimental Santa Catalina (EESC) which developed the experimental part of this research photolorimetric techniques traditionally used for quantification of boron, sulfur and phosphorus, the same as from the analytically have limitations: colored extracts for example, difficult to read properly on the equipment, or use of highly toxic reagents. For this reason it was imperative to implement methods less harmful to personnel and the environment, it is proposed to optimize the technique of atomic emission spectroscopy inductively coupled plasma optical detection and analysis of these elements in different matrices.

This study describes the methods used to sample, extraction of analytes, equipment optimization and quantification of phosphorus, sulfur and boron in banana and roses leaves.

The 144 samples which were collected have been worked under strict quality control before being sorted, dried and grounded, the extraction of the analytes was performed by

acid digestion using a microwave oven and then was used to quantify a Perkin-Elmer Optima 2600.

To ensure the quality of results is optimized by selecting the equipment wavelength view and adequate flow of plasma and was used as reference material 1570a Standard Reference Material Spinach Leaves.

The final step was to quantify analytes and using a graph of concentration versus the samples for each of the two varieties of crop types visualized analyte behavior and the nutritional status of the plant, noting that the phosphorus, sulfur and boron in variety Maqueño and Dominico the values are within the reference levels considered optimal for the type of study, except samples 8 to 13 and 37 to 40 having phosphorus concentration below the minimum baseline.

Regarding samples variety Grandiflora and Híbridas de Té, the analytes have a minimum concentration below the reference level in the following samples: Samples 1 to 15, from 21 to 26 and 45 to the 48 in phosphorus, 21 to 26 in sulfur and 49 to 55 in boron.

## INTRODUCCIÓN

El Ecuador es un país netamente agrícola, la agricultura ha sido y es un factor determinante en la dinámica de la economía ecuatoriana.

Actualmente, esta actividad se ha convertido en un activo estratégico para la mayoría de las naciones en el mundo. Sin embargo, a medida que la agricultura se ha ido desarrollando, los aspectos que giran alrededor de esta actividad, sobre todo su relación con el medio ambiente, la industria, las finanzas, el comercio y los consumidores, se han vuelto más complejos, exigen nuevas políticas de control de calidad y análisis que fortalezcan este recurso y atiendan adecuadamente las necesidades de la seguridad alimentaria del siglo XXI.

La evaluación del nivel de disponibilidad de nutrientes a través del análisis químico de tejido foliar es todavía objeto de estudio en muchos países, actualmente el mercado ofrece equipos con nuevas tecnologías que permiten optimizar las técnicas de análisis para facilitar el diagnóstico de la fertilidad del suelo y del estado nutrimental de los cultivos.

Una de las técnicas alternativas de análisis de nutrientes en tejido foliar es la espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES); la cual permite el manejo de extractos con niveles de sensibilidad, exactitud, precisión y detección grandemente mejorados. Cabe además mencionar, que esta técnica permite el análisis simultáneo de varios elementos en menor tiempo; siendo por tanto más eficiente.

El tejido foliar de banano y rosas fueron escogidos para el análisis de fósforo, azufre y boro, por dos razones importantes detalladas a continuación:

1. El laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) de la Estación Experimental Santa Catalina (EESC) está comprometido con el desarrollo agropecuario y económico del país, mediante la prestación de servicios analíticos altamente confiables con el fin de determinar el estado nutricional de los cultivos. Su actividad se ha visto favorecida por el incremento en el número de muestras analizadas, siendo en su mayoría las de banano y rosas que le permiten mejorar su nivel económico, con la implementación de la técnica de análisis de espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES) se pretende que el número de análisis por día sea mayor [1].
2. Las excelentes condiciones de orden climático y ecológico que tiene nuestro país, han permitido que pequeños, medianos y grandes productores se dediquen al cultivo entre otros, de banano y rosas, de tal manera que aseguran la posibilidad de abastecer la demanda mundial los 365 días del año [2].

Con todos estos antecedentes es muy importante señalar la importancia del empleo de la técnica de análisis mediante espectroscopía de emisión atómica por acoplamiento de plasma inductivo en el análisis foliar, ya que constituye una herramienta esencial para el diagnóstico del estado nutricional de los cultivos, este análisis consiste en medir el contenido total de los nutrientes presentes en las hojas u otra parte de la planta; se considera actualmente como una referencia indispensable para confirmar los síntomas

visuales de la mal nutrición o toxicidad, conocer el estado nutricional de las plantas, complementar el análisis de suelo, y como guía de fertilización.

En el trabajo de disertación que se presenta a continuación se determina el contenido de fósforo, azufre y boro en tejido foliar de banano en las variedades Dominico y Maqueño y rosas en las variedades Grandiflora e Híbridas de té utilizando la técnica mencionada.

En los capítulos I se desarrollan aspectos relacionados con la nutrición mineral de las plantas, en el capítulo II se trata el fundamento teórico de la espectroscopia de emisión y se realiza una breve descripción del equipo empleado. En el capítulo III se detalla la metodología empleada para el muestreo, la optimización del equipo y la cuantificación de los analitos; los resultados y las discusiones correspondientes se detallan en el capítulo IV y finalmente en el capítulo V se presentan las conclusiones y recomendaciones respectivas.

# **CAPÍTULO I**

## **NUTRICIÓN MINERAL DE LAS PLANTAS**

El crecimiento y desarrollo de las plantas están determinados por numerosos factores del suelo y del clima, así como por factores inherentes a las plantas mismas. Algunos de éstos están bajo control del hombre, pero muchos de ellos no. Por ejemplo, el hombre tiene poco control sobre el aire, la luz y la temperatura, pero puede influir en la provisión de nutrientes del suelo, en la cantidad de nutrientes disponibles modificando las condiciones del suelo o añadiéndolos en forma de fertilizantes [3]. Para obtener del suelo buenas cosechas, entre otras cosas se necesita que esté provisto de una cantidad adecuada de todos los nutrientes necesarios, así como de la forma en que las plantas los pueden utilizar, debe existir entre ellos un equilibrio aproximado.

Hay nutrientes que son esenciales para el ciclo de vida de las plantas e intervienen directamente en la nutrición de la misma a más de corregir alguna condición desfavorable del suelo o del medio del cultivo [4].

### **1.1 MACRO Y MICRONUTRIENTES DE LAS PLANTAS**

En la actualidad se considera que hay por lo menos 16 elementos necesarios para el crecimiento de las plantas, indicados en la Tabla 1.1.

**Tabla 1.1 Elementos esenciales, formas de absorción y composición aproximada en las plantas [5].**

NUTRIENTE	FORMA DE ABSORCIÓN	NIVELES DESEABLES
<b>Macronutrientes</b>		
Nitrógeno	$\text{NO}_3^-$ , $\text{NH}_4^+$	1-3 %
Fósforo	$\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , $\text{HPO}_4^{2-}$	1.8-3.0 %
Calcio	$\text{Ca}^{2+}$	0.5-3.5 %
Potasio	$\text{K}^+$	0.3-3 %
Magnesio	$\text{Mg}^{2+}$	0.03-0.8 %
Azufre	$\text{SO}_4^{2-}$	0.1-6.0 %
<b>Micronutrientes</b>		
Cobre	$\text{Cu}^{2+}$	10-40 ppm
Hierro	$\text{Fe}^{2+}$	100-1000 ppm
Manganeso	$\text{Mn}^{2+}$	50-300 ppm
Molibdeno	$\text{MoO}_4^{2-}$	10-40 ppm
Zinc	$\text{Zn}^{2+}$	10-20 ppm
Boro	$\text{H}_2\text{BO}_3^-$	30-60 ppm

El carbono, hidrógeno y oxígeno que se combinan en las reacciones fotosintéticas, son obtenidos del aire y del agua y constituyen el 90 % de la materia seca. Los elementos restantes: nitrógeno, fósforo, potasio, calcio, magnesio, y azufre son requeridos en grandes cantidades y se los llama elementos principales o macroelementos; los nutrientes que se necesitan en cantidades considerablemente bajas se les denomina elementos menores o microelementos, incluyendo en ellos al manganeso, hierro, boro, zinc, cobre, molibdeno y cloro [5].

## 1.2 FUNCIONES DE LOS NUTRIENTES EN LAS PLANTAS

Cuando a las plantas les falta algún nutriente en particular, por lo general aparecen síntomas, es importante conocer y comprender la causa. Si el aspecto es poco saludable se

debe a alguna enfermedad, en estos casos es posible que se pueda salvar el cultivo con sólo rociar el fertilizante o si se trata de una deficiencia de nutrientes, estos se pueden aplicar al suelo en cobertera o en aspersiones foliares. Esas deficiencias de nutrientes aparecen sólo cuando la provisión de un elemento es tan escasa que la planta ya no puede funcionar normalmente, pero de ordinario resulta provechoso aplicar fertilizantes mucho antes de que aparezcan los síntomas de una carencia aguda [6].

Hay una diferencia considerable en la movilidad de los diversos nutrientes, cuando se presenta la escasez de un nutriente móvil, éste es sustraído de tejidos más viejos y es translocado a los puntos de crecimiento, por lo cual los síntomas aparecen en las hojas inferiores. El nitrógeno por ejemplo, es un nutriente muy móvil y aquellas partes de la planta que presentan deficiencia de este elemento tienen hojas inferiores de color amarillo y superiores verdes. Otros nutrientes móviles son: fósforo, potasio y magnesio. Elementos como el calcio, boro, hierro, cobre y manganeso tienen una movilidad limitada y producen síntomas en las hojas nuevas o en los puntos de crecimiento [7].

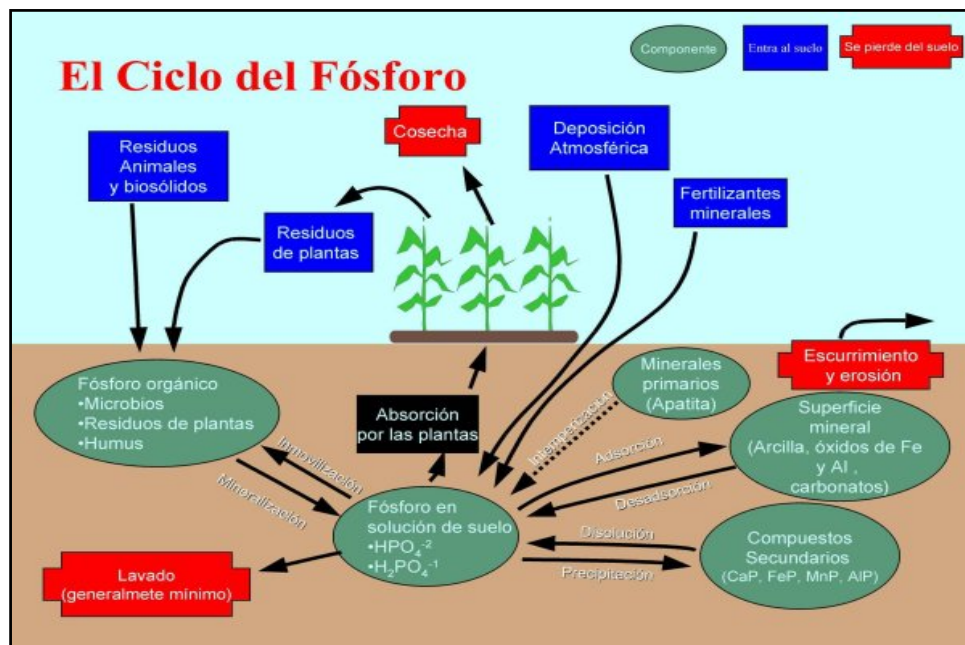
El azufre, el fósforo y el boro cumplen actividades específicas dentro de la planta, las mismas que se resumen a continuación.

### **1.3 FÓSFORO**

El fósforo desempeña un papel indispensable como combustible universal para todas las actividades bioquímicas de las células vivientes, es esencial para el crecimiento de las plantas y no puede ser sustituido por otro nutriente, la mayoría lo absorben casi exclusivamente como iones fosfato inorgánico en la forma  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ , ya que este es absorbido más fácilmente que el  $\text{HPO}_4^{=}$ , desgraciadamente el fósforo que se encuentra en

el material madre es de baja asimilabilidad para las plantas. Probablemente todas las formas de fósforo sean asimilables luego de un largo periodo de tiempo [8].

En la Figura 1.1 se puede apreciar el ciclo del fósforo en la naturaleza y la intervención del hombre en el mismo. El fósforo se pierde por escurrimiento, erosión y absorción por las plantas; por otro lado regresa al suelo por adición de fertilizantes minerales (que es la más importante y significativa), por el retorno de residuos de animales y vegetales en forma de fósforo orgánico y por deposición atmosférica [9].



**Figura 1.1 Representación del ciclo de fósforo en un sistema suelo-planta [9].**

### 1.3.1 EFECTO DEL pH EN LA DISPONIBILIDAD DE FÓSFORO

Los iones que se encuentran en la solución del suelo son función del pH, Figura 1.2, éste controla la abundancia relativa de las formas iónicas del fosfato. El ión  $H_2PO_4^-$  se favorece por debajo de pH 7 y el ión divalente  $HPO_4^{2-}$  por encima de pH 7. Si el pH es muy alcalino todo el fósforo se encuentra bajo la forma de  $PO_4^{3-}$  no absorbible por las plantas.

En suelos muy ácidos las concentraciones de hierro y aluminio disueltos son bastante altas como para precipitar el fosfato, como fosfatos de hierro y aluminio insolubles, como por ejemplo la strengita ( $\text{Fe}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ) y variscita ( $\text{Al}(\text{OH})_2\text{H}_2\text{PO}_4$ ). En suelos alcalinos y calcáreos el fósforo del suelo se encuentra presente como apatita  $\text{Fe}_2\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{Ca}_3$ , hidroxiapatita  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$  y carbonatoapatita  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2\text{CaCO}_3$  [8].

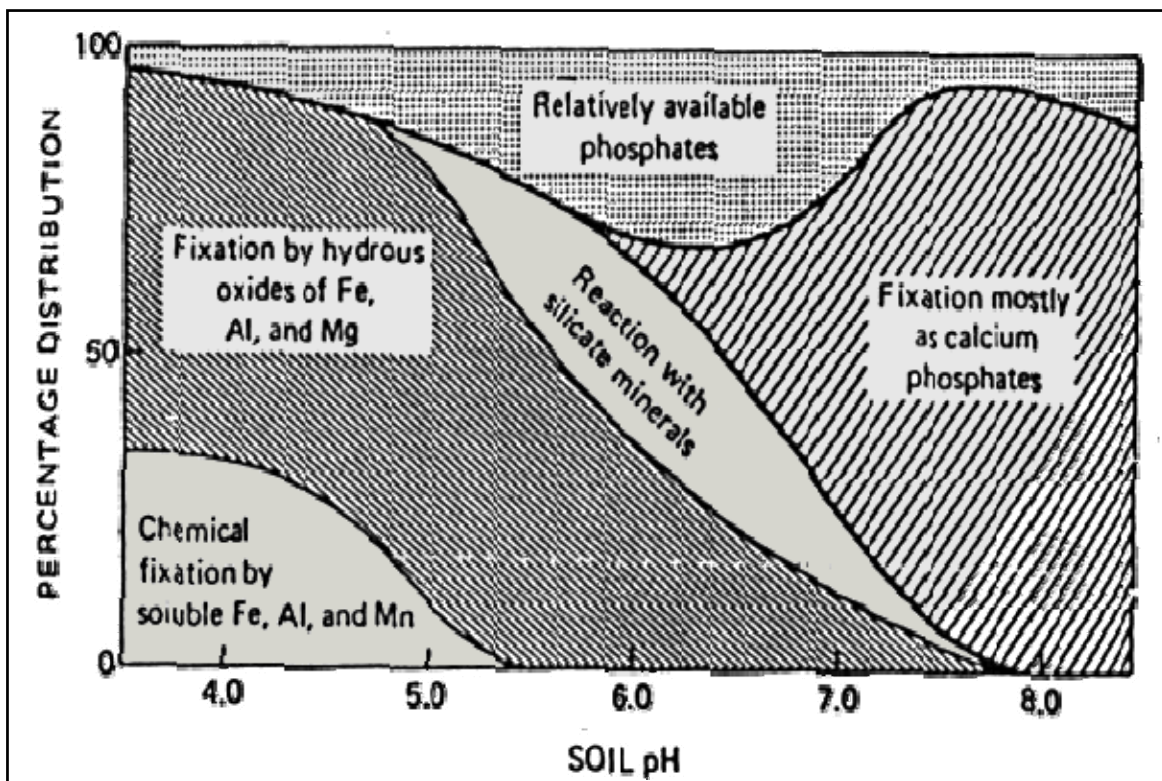


Figura 1.2 Porcentaje de distribución de iones en suelo según su pH [8].

### 1.3.2 EFECTO DEL FÓSFORO SOBRE EL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Los efectos de la deficiencia o exceso de fósforo son menos notables que los del nitrógeno o el potasio. El fósforo acelera la maduración de las plantas, mucho más que la mayoría de los nutrientes, la deficiencia de fósforo, por su parte, produce plantas muy pequeñas o achaparradas. Un síntoma de deficiencia de fósforo es un color verdinegro asociado con coloración púrpura en la etapa de crecimiento de la plántula, después las plantas se

vuelven amarillas. Ocasionalmente, cuando la falta de fósforo inhibe la utilización del nitrógeno, se desarrolla un color verde pálido o verde amarillento [6].

#### **1.4 AZUFRE**

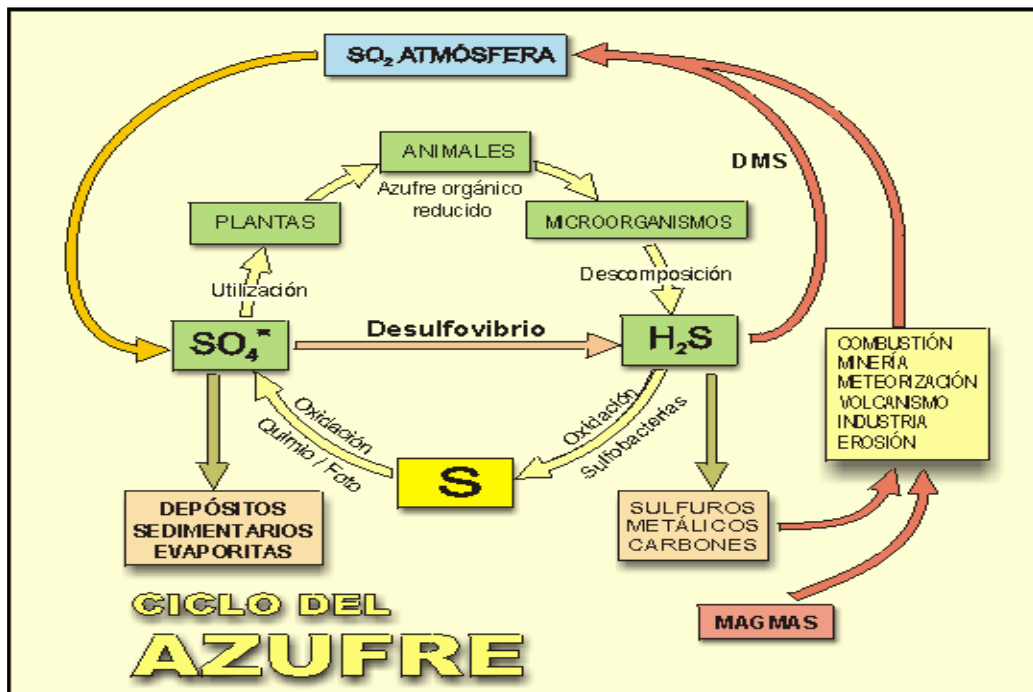
Las plantas obtienen la mayor parte del azufre del suelo en forma de sulfato ( $\text{SO}_4^-$ ) es incorporado al aminoácido cisteína en los tejidos fotosintéticos, las hojas absorben algo como dióxido de azufre ( $\text{SO}_2$ ) que se encuentra en la atmósfera, donde se concentra debido a los procesos naturales de descomposición de la materia orgánica, combustión de carburantes y fundición de metales [10].

A diferencia de lo que ocurre con el nitrógeno, el azufre presenta escasa movilidad dentro de la planta, determinando que los síntomas de deficiencia se observen en las hojas más nuevas, participa en importantes procesos bioquímicos y fisiológicos en las plantas superiores como la biosíntesis de proteínas y lípidos, fotosíntesis, asimilación y fijación biológica de nitrógeno, entre otras [11].

Como se puede apreciar en la Figura 1.3, el ciclo de azufre en el sistema suelo-planta está gobernado por procesos biológicos y físico-químicos, con activa participación de la biota del suelo. La fertilización con azufre ya sea en forma de sulfato,  $\text{SO}_4^-$ , o como azufre,  $\text{S}^0$ , representa el principal ingreso de éste, otros aportes que pueden ser importantes son el riego y las capas freáticas. La contribución de las formas gaseosas de azufre es poco significativa en áreas alejadas de centros urbanos, industriales o distantes del mar. Las principales pérdidas o salidas de azufre de los agro-ecosistemas corresponden a la remoción de los productos en las cosechas, lixiviación y escurrimiento. La adsorción y las

pérdidas gaseosas desde la superficie del suelo o desde las plantas presentan menor relevancia. Los principales biogeociclos internos del azufre en suelos son la mineralización-inmovilización y la oxidación [12].

Muchas de las reacciones de este elemento son similares a las del nitrógeno, los dos sufren cambios en oxidación y reducción y que al precipitar se agregan al suelo en cantidades significativas.



**Figura 1.3 Representación diagramática del ciclo de azufre en un sistema suelo-planta [12].**

Algunas especies como las crucíferas y entre ellas las liliáceas, absorben una gran cantidad de sulfatos, produciendo en su contenido celular gran cantidad de sulfuro de alilo que ocasiona el olor característico de algunos vegetales como la cebolla, es un componente insustituible de algunas grasas (mostaza y ajo). Este elemento contribuye en la formación de la clorofila, a un desarrollo más acelerado del sistema radicular y de las bacterias

nodulares, que asimilan el nitrógeno atmosférico, que viven en simbiosis con las leguminosas. Parte del azufre se encuentran en las plantas en forma oxidada de compuestos inorgánicos [13].

#### 1.4.1 SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA DE AZUFRE

Cuando el azufre se encuentra en escasa concentración para las plantas se alteran los procesos metabólicos y la síntesis de proteínas. La insuficiencia de azufre debido a los trastornos fisiológicos, influye en el desarrollo manifestándose en los siguientes aspectos [14].

- Crecimiento lento.
- Debilidad estructural de la planta, tallos cortos y pobres.
- Clorosis en hojas jóvenes principalmente en los nervios foliares e inclusive aparición de manchas oscuras (por ejemplo, en la papa).
- Desarrollo prematuro de las yemas laterales.
- Formación incompleta de los frutos.

Sin embargo, cuando se quema hulla y petróleo, se libera azufre a la atmósfera como  $\text{SO}_2$ , en muchas zonas, las lluvias arrastran de la atmosfera una cantidad de azufre suficiente para las necesidades de las plantas. Estudios han demostrado una relación entre la adición de azufre a los suelos, la precipitación ocasionada por las lluvias y la cercanía a centros industriales. De hecho en algunos suelos el exceso de azufre provoca la muerte de la vegetación [15].

## 1.5 BORO

El boro pertenece al grupo de los micronutrientes esenciales y afecta a numerosos procesos metabólicos. El requerimiento y respuesta de los cultivos al boro varía significativamente. Esto se debe a diferencias en la estructura y composición de la pared celular en la que el boro juega un papel esencial. Las plantas absorben el boro de la solución del suelo principalmente en forma de ácido bórico ( $H_3BO_3$ ) en forma pasiva [14].

### 1.5.1 FUNCIONES DEL BORO EN LA PLANTA

- Fomenta la formación de carbohidratos estabilizadores de la pared celular.
- Mejora la estabilidad de la membrana celular y su funcionamiento.
- Interviene en los procesos enzimáticos de síntesis de sacarosa y almidón, así como en el transporte de compuestos asimilados en el interior de la planta activando el ATP y manteniendo la funcionalidad del floema.
- Regula la formación de RNA. De esta manera es influenciada la síntesis del ácido nucleico y a su vez la síntesis total de las proteínas.
- Ayuda el crecimiento de la planta a través de su efecto en la división celular.

### 1.5.2 SÍNTOMAS DE DEFICIENCIA DE BORO

Los síntomas de deficiencia se presentan primero en tejidos apicales más jóvenes de la planta y provoca un crecimiento lento, las raíces y los ápices mueren, las hojas jóvenes se marchitan y los tallos se vuelven frágiles [11].

### 1.5.3 EXCESO DE BORO EN LA PLANTA

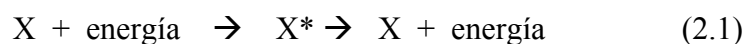
Los síntomas de toxicidad de boro incluyen clorosis y necrosis de los puntos de crecimiento que progresa hacia el centro de las hojas, y más tarde hojas que se caen e incluso muere la planta [14].

## CAPÍTULO II

### ESPECTROSCOPIA DE EMISIÓN ATÓMICA

La espectroscopia de emisión es una técnica analítica que hace uso de la radiación electromagnética emitida por una muestra material (sólido, líquido o gas) previamente excitada mediante una fuente de energía.

Cuando los átomos o moléculas absorben energía se excitan y en dicho estado permanecen un tiempo muy corto, del orden de  $10^{-6}$  segundos, luego el átomo o molécula vuelve a su estado fundamental emitiendo energía en forma de luz o cuantos luminosos en la región visible, ultravioleta o rayos X [16], en un proceso del tipo:



Donde:

X: átomos o moléculas en estado fundamental

X\*: átomos o moléculas excitados

Para obtener espectros atómicos en la región ultravioleta o visible las moléculas se descomponen y se convierten en partículas gaseosas elementales, este fenómeno se conoce como atomización, los espectros obtenidos están constituidos por una cantidad limitada de líneas discretas de longitud de onda características de cada elemento, que puede ser medida y utilizada para el análisis cualitativo y cuantitativo, ya que la intensidad de las líneas es proporcional a la cantidad de átomos excitados en dependencia de las condiciones de

excitación y la concentración de la muestra, permitiendo por lo tanto que los métodos basados en la atomización sean específicos, de amplio rango de aplicación, excelente sensibilidad, rapidez y conveniencia [17, 18].

La energía utilizada en el proceso de excitación puede proceder de diferentes fuentes dando lugar a distintas técnicas, como se muestra en la Tabla 2.1.

**Tabla 2.1 Métodos atómicos de emisión [19].**

<b>Técnica</b>	<b>Fuentes de energía</b>	<b>Cantidad medida</b>
Fotometría de llama	Llama	Intensidad de radiación
Fluorescencia atómica	Radiación electromagnética	Intensidad de radiación dispersada
Espectrometría de emisión	Eléctrica	Intensidad de radiación
Plasma acoplado inductivamente (ICP)	Plasma de argón producido por inducción a partir de un campo de alta frecuencia (6000-8500°C)	Intensidad de radiación
Fluorescencia de rayos X	Rayos X	Intensidad de radiación dispersada

La fuente menos energética es la llama, la fluorescencia atómica también utiliza la llama, pero como medio de atomización, en la espectrometría de emisión se emplea la energía eléctrica utilizando diferentes dispositivos: arco de corriente continua, chispa o el arco de corriente alterna. Los plasmas constituyen una fuente de excitación muy energética y finalmente cuando se utiliza un haz primario de rayos X para generar un haz secundario, se tiene la fluorescencia de rayos X [19].

## 2.1 ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN CON FUENTES DE PLASMA

Las fuentes de excitación consideradas como tradicionales presentan una serie de inconvenientes, la temperatura que se alcanza en la llama, por ejemplo, es relativamente baja, por lo que resulta difícil analizar elementos refractarios o elementos con grandes energías de excitación [20]. Para evitar estos inconvenientes, en época relativamente reciente, se ha desarrollado una técnica para el análisis multi-elemental basada en el empleo de plasmas [21].

La espectroscopia de emisión óptica con fuentes de plasma se basa en la vaporización, disociación, ionización y excitación de los diferentes elementos químicos de una muestra en el interior de un plasma, permitiendo determinar de forma cuantitativa la mayoría de los elementos de la tabla periódica a niveles de traza y ultra traza, partiendo de muestras en disolución acuosa. Esta técnica es aplicable a la determinación de un gran número de elementos en los cuales sus límites de detección son en general en  $\mu\text{g/L}$  (ppb).

La Figura 2.1., contiene una representación de la tabla periódica de los elementos que pueden ser determinados por espectroscopia de emisión óptica con fuentes de plasma (ICP-OES) con sus límites de detección expresados en  $\mu\text{g/L}$ .



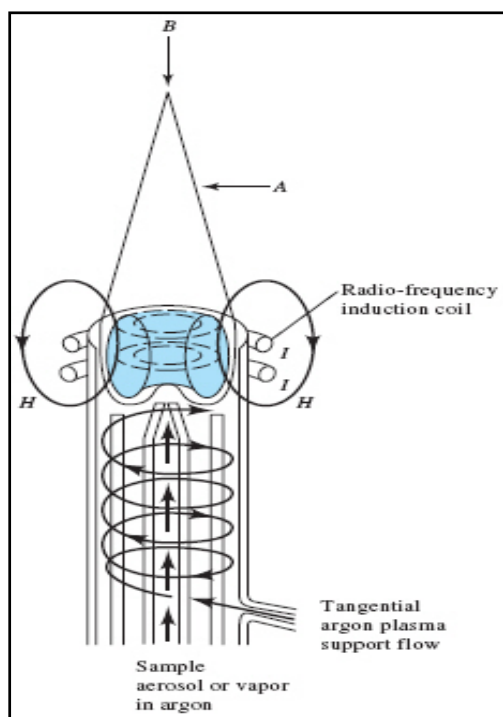
capaces de absorber suficiente potencia de una fuente externa, como para mantener un nivel de temperatura en el que la ionización adicional sustenta el plasma indefinidamente; la temperatura puede llegar a 10 000 K [21]. En función de cómo se aporte esta energía externa, se han desarrollado tres tipos de fuentes de alimentación: una fuente de corriente continua (DCP), capaz de mantener una intensidad de varios amperios entre los electrodos sumergidos en una corriente de argón; las otras utilizan potentes campos de microondas y de radiofrecuencia a través de las cuales fluye el argón. De las tres, la de radiofrecuencia o de plasma acoplado inductivamente es la más interesante desde el punto de vista analítico, ofrece mayores ventajas en cuanto a sensibilidad y la ausencia de interferencias.

#### 2.1.1 FUENTE DE PLASMA ACOPLADO POR INDUCCIÓN

La fuente de alimentación empleada para mantener un nivel de temperatura de 10000 K es la de plasma acoplado inductivamente (ICP) denominada antorcha, Figura 2.2 [22].

Consiste en tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluye una corriente de argón, el diámetro del tubo más grande es aproximadamente de 2.5 cm; rodeando la parte superior de este tubo se encuentra una bobina de inducción refrigerada por agua, alimentada por un generador de radiofrecuencia capaz de producir una potencia de 0.5 a 2 Kw a unos 27.12 o 41 MHz [23].

La ionización del argón se inicia mediante una chispa que proviene de la bobina Tesla. Los iones resultantes y sus electrones asociados interactúan con el campo magnético oscilante (H en la Figura 2.2) producido por la bobina de inducción, esta interacción provoca el movimiento de los iones y electrones dentro de la bobina en trayectorias circulares.



**Figura 2.2 Fuente de plasma acoplado por inducción.**

La temperatura del plasma formado es lo suficientemente elevada como para que el cilindro exterior de cuarzo requiera aislamiento térmico, por lo cual, se hace fluir argón de forma tangencial alrededor de las paredes del tubo central para enfriar la pared interior del tubo central y centrar el plasma radialmente [21].

## **2.2 ESPECTROFOTÓMETRO DE EMISIÓN CON FUENTES DE PLASMA**

Un espectrofotómetro es un instrumento usado en el análisis químico que sirve para medir, en función de la longitud de onda, la relación entre valores de concentración de un analito específico que se miden en una muestra [24].

En la actualidad se ofrecen varios diseños de espectrofotómetros de emisión de plasma, la mayoría abarca por completo el espectro ultravioleta y visible, desde 170 a 800 nm.

Algunos equipos están diseñados para trabajar en condiciones de vacío con lo que pueden llegar a longitudes de onda del ultravioleta de hasta 150 ó 160 nm. Esta región de longitudes de onda corta es importante porque elementos como el fósforo, azufre y carbono presentan líneas de emisión en dicha zona [25].

### 2.2.1 PARTES DEL EQUIPO ICP-OES

Un equipo ICP-OES, Figura 2.3, está formado por:

- Un sistema de introducción de la muestra (nebulizador, bomba peristáltica y cámara de nebulización).
- Sistema de producción de emisión (antorcha).
- Sistema de colección y detección de la radiación emitida (elementos de transferencia óptica, mecanismos de dispersión de longitud de onda, espectrómetro y detector).

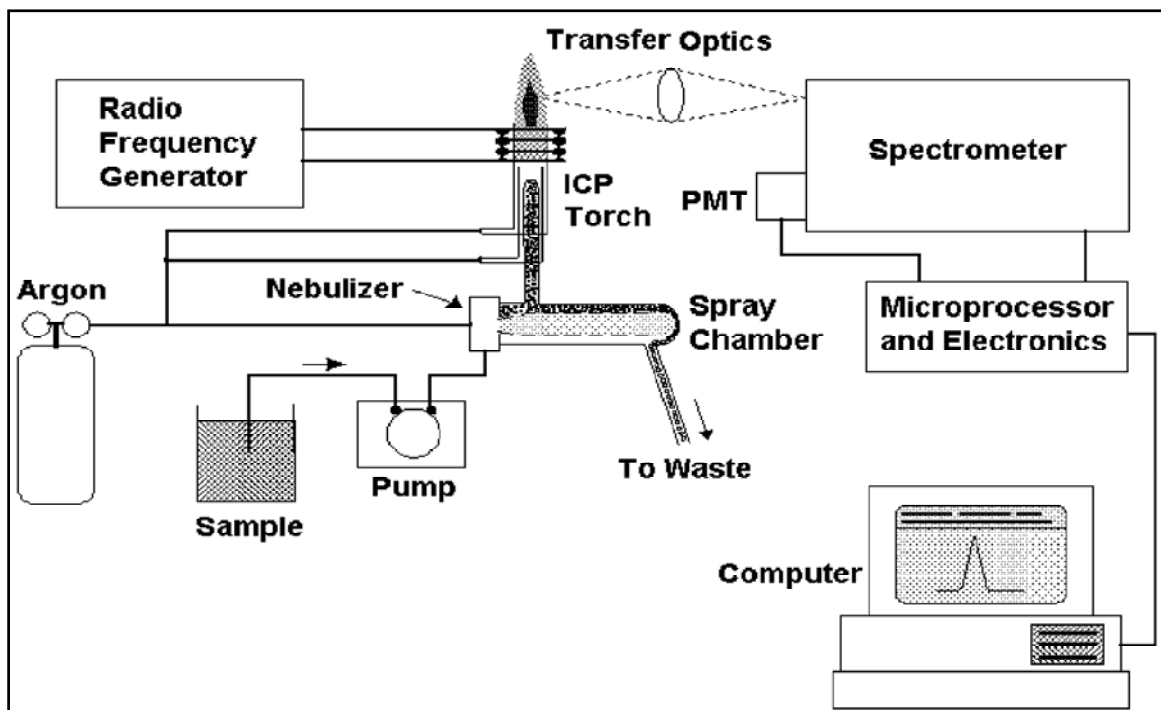


Figura 2.1 Componentes principales de un equipo típico ICP-OES.

### 2.2.1.1 SISTEMA DE INTRODUCCIÓN DE LA MUESTRA

En espectrometría de emisión por acoplamiento de plasma inductivo con detector óptico, la muestra suele ser transportada en el instrumento como una corriente líquida que en el interior del equipo se convierte en un aerosol a través de un proceso conocido como nebulización [24]. El aerosol de la muestra es luego desolvatado, vaporizado, atomizado, excitado y luego ionizado.

- Desolvatación: El plasma formado a altas temperaturas permite eliminar el disolvente y dejar la muestra en micropartículas de sal.
- Vaporización: Las micropartículas se disocian en moléculas individuales y pasan a estado gaseoso.
- Atomización: Las moléculas individuales se disocian en átomos.
- Excitación e ionización: Para que un átomo o ion pueda emitir su radiación característica, uno de sus electrones debe ser promovido a un nivel de energía mayor a través de un proceso de excitación.

### NEBULIZADORES

Son dispositivos que convierten la solución de la muestra en un aerosol y permiten transportar al plasma [21].

### BOMBA PERISTÁLTICA

Utiliza una serie de rodillos que empujan la solución de la muestra a la turbina en un proceso conocido como peristaltismo. La bomba no está en contacto directo con la solución, por lo tanto, se anula la posibilidad de contaminación [22].

## CÁMARA DE NEBULIZACIÓN

Una vez que se forma el aerosol de la muestra por el nebulizador, éste debe ser transportado a la antorcha para ser inyectada al plasma. Debido a que sólo gotas muy pequeñas del aerosol son apropiados para la inyección en el plasma, existe una cámara de pulverización colocada entre el nebulizador y la antorcha, su función principal es eliminar las gotas grandes de los aerosoles y su función secundaria es suavizar pulsos que a menudo se producen durante la nebulización debido al bombeo de la solución [24].

### 2.2.1.2 SISTEMA DE PRODUCCIÓN DE EMISIÓN

El sistema de producción de la emisión está compuesto únicamente por la antorcha que es el lugar en se genera el plasma, están formadas por tres tubos concéntricos para el flujo de argón y la inyección de los aerosoles. El espacio entre los tubos es estrecho con el fin de que el gas fluya a gran velocidad.

El flujo de gas que lleva el aerosol de la muestra se inyecta en el plasma a través del tubo central o inyector. Debido al diámetro pequeño en el extremo del inyector, la velocidad del gas es tal, que incluso 1 L/min de argón es utilizado para nebulización y es capaz de perforar un agujero a través del plasma [22].

### 2.2.1.3 SISTEMA DE COLECCIÓN Y DETECCIÓN DE RADIACION EMITIDA ELEMENTOS DE TRANSFERENCIA ÓPTICA

La radiación de emisión en la región del plasma conocida como zona de análisis es mostrado por la medida espectroscópica. La zona de análisis puede ser observada de costado, colocando el plasma de forma radial (vertical) o axial (horizontal), Esta radiación es colectada por un enfocador óptico, el cual es como un lente convexo o un espejo

cóncavo. Esta óptica enfoca la imagen del plasma en la rendija de la entrada del dispositivo de dispersión o de longitud de onda del espectrómetro [21]. En algunos casos la óptica de enfoque se utiliza en conjunción con espejos que permiten la medición de emisión a diferentes alturas dentro del plasma [20].

## MECANISMO DE DISPERSIÓN DE LA LONGITUD DE ONDA

La dispersión es la diferenciación de la emisión de radiación de un elemento de otros (elementos y moléculas), utilizando dispositivos de longitud de onda dispersa [22]. La discriminación de esta emisión se puede hacer de varias maneras, una de las más comunes es la dispersión física por una rejilla de difracción o de otros dispositivos tales como: prismas, filtros e interferómetros.

Una rejilla de difracción está formada por líneas muy próximas entre sí en su superficie. La mayoría de las rejillas utilizadas en instrumentos de ICP-OES tienen de 600 a 4200 líneas o ranuras por milímetro [25]. Cuando la luz incide en una de éstas se difracta en un ángulo que depende de la longitud de onda de la luz y la cantidad de líneas en la rejilla. En general, cuanto mayor sea la longitud de onda y mayor el número de líneas, mayor será el ángulo de difracción [21].

## ESPECTRÓMETRO

Un espectrómetro es un instrumento que sirve para medir las propiedades de la luz en una determinada porción del espectro electromagnético. La variable que se mide generalmente es la intensidad luminosa. Su función principal es formar un rayo de luz bien definido, el cual es dispersado con la rejilla de difracción, por lo que el espectrómetro recibe luz blanca o radiación policromática y la dispersa en radiación monocromática. Una o más de las

aberturas en el plano de salida o el círculo son usadas para permitir el paso de determinadas longitudes de onda al detector [24].

## DETECTORES

Los detectores miden la intensidad de la emisión, convirtiendo la energía radiante en una señal eléctrica. El detector más utilizado es el tubo fotomultiplicador, PMT, que es un tubo de vacío que contiene un material fotosensible, llamado fotocátodo, que expulsa electrones cuando es golpeado por un haz de luz. Estos electrones son acelerados hacia un dinodo que envía de 2 hasta 5 electrones secundarios de cada electrón que chocan contra su superficie.

Los electrones secundarios al chocar a otro dinodo, expulsan más electrones que provocan un efecto multiplicador en el camino [20]. Los detectores fotomultiplicadores típicos contienen de 9 a 16 dinodos, el paso final es la colección secundaria de los electrones del último dinodo por el ánodo. Se pueden obtener como resultado de un solo fotón en un fotocátodo de un PMT de nueve dinodos hasta 106 electrones secundarios [21]. La corriente eléctrica medida en el ánodo se utiliza entonces como una medida de intensidad de la radiación que llega al tubo fotomultiplicador.

## **CAPITULO III**

### **DETERMINACIÓN DE FÓSFORO, AZUFRE Y BORO**

Para la cuantificación de fósforo, azufre y boro en tejido foliar de banano y rosas se desarrollaron cuatro etapas:

1. Muestreo.
2. Preparación de la muestra.
3. Extracción de analitos, y
4. Cuantificación.

#### **3.1 MUESTREO**

##### **3.1.1 PROCEDENCIA DE LAS MUESTRAS**

El muestreo se realizó en plantaciones de banano ubicadas en la provincia de El Oro y de rosas en la provincia de Cotopaxi.

La plantación de banano está ubicada en el cantón Machala, parroquia Nueve de Mayo, en las calles Pichincha y 10 de Agosto, con una extensión aproximada de 100 hectáreas la cual se distribuye de la siguiente manera:

- 40 hectáreas para el cultivo banano de la variedad Dominico con 1800 plantas.
- 60 hectáreas para la variedad Maqueño con 2400 plantas.

La plantación de rosas se encuentra ubicada en la provincia de Cotopaxi, cantón Latacunga en la parroquia Tanicuchí en las calles Chimborazo y Palmito a 3500 msnm su extensión alcanza las 50 hectáreas, en ellas se cultivan las variedades Grandiflora e Híbridas de Té, con 270 plantas cada una.

Para la toma de muestras de hojas de plantas de banano y de rosas se utilizó la metodología del “Manual de tomas de muestras del Generalitat Valenciana de Agricultura, Pesca y Alimentación”, el cual considera la división del cultivo en subparcelas considerando la variedad de la planta [26].

### 3.1.2 SELECCIÓN DE LAS PLANTAS

Una vez identificadas las subparcelas, se procedió a la selección de las plantas de las cuales se tomaron las hojas para el análisis. En la Tabla 3.1 se muestra la relación aproximada entre el número de plantas que deben muestrearse en cada subparcela y el número total de las plantas de la misma. Se puede observar que en subparcelas con menos de 150 plantas se debe seleccionar una de cada tres; en parcelas de 150-250 plantas, se muestreara una de cada cinco; en las de 250-450 plantas una de cada nueve y así sucesivamente hasta parcelas superiores a los 1500 plantas en las que se pueden muestrearse una planta de cada cincuenta. Cuando la parcela supere las 2500 plantas es conveniente dividirla para efectuar más de un muestreo. En todos los casos el número de plantas a muestrear oscila entre 25 y 50 [27].

**Tabla 3.1 Relación entre el número de plantas a muestrear en una subparcela y las plantas totales de la misma [28].**

<b>N° de plantas /Subparcela</b>	<b>N° de plantas amuestrear/N° de plantas</b>
<150	1/3
150-250	1/5
250-450	1/9
450-750	1/15
750-1500	1/30
1500-2500	1/50

### 3.1.3 TOMA DE LA MUESTRA

Una vez localizadas las plantas para el muestreo se procedió a coleccionar las hojas, en el caso de las rosas se tomaron aquellas ubicadas alrededor de cada flor hasta obtener una cantidad mínima de 100 g y en el caso de banano se seleccionó una hoja, (la que se encuentra a la altura del hombro) de la cual se retiró y descartó la nervadura y el resto se cortó en pedazos de menor tamaño.

Las hojas se transportaron al laboratorio en fundas de papel biodegradable con una etiqueta en las que constan los siguientes datos: lugar de muestreo, nombre del coleccionador, fecha, hora y código de identificación de la muestra.

La Tabla 3.2 resume la procedencia de las muestras, así como las variedades, número de plantas por subparcela y número de plantas a muestrear.

**Tabla 3.2 Procedencia de las muestras.**

<b>Cultivo</b>	<b>Variedad</b>	<b>Parroquia</b>	<b>Cantón</b>	<b>Provincia</b>	<b>Número de plantas en la subparcela</b>	<b>Número de plantas a muestrear</b>
Banano	Dominico	Nueve de Mayo	Machala	El Oro	1800	36
	Maqueño				2400	48
Rosas	Grandiflora	Tanicuchí	Latacunga	Cotopaxi	270	30
	Híbridas de té				270	30

### **3.2 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

Las muestras que llegan al laboratorio se someten a un proceso de preparación, según los parámetros citados en “Métodos para análisis foliar” [28].

- **Limpieza:** El tejido foliar que contienen polvo se lava con agua corriente, luego con destilada y se deja secar al aire.
- **Secado:** Aproximadamente 100 g de muestra se secan en estufa durante 24 horas a una temperatura de 60°C para detener procesos enzimáticos y estabilizar la muestra.
- **Molienda:** La muestra seca se muele utilizando un molino Pulverisette 8, para asegurar la homogenización de la muestra.
- **Tamizado:** La muestra molida se tamiza a través de una malla de 2 mm, se descarta la fracción de mayor tamaño, en su mayoría son restos de pequeños tallos y venas de las hojas.
- **Almacenamiento:** Las fracciones menores a los 2 mm se almacenan en frascos plásticos a una temperatura de  $25 \pm 4$  °C debidamente identificados para sus respectivos análisis. Los datos que se incluyen para la identificación de las

muestras son: número de muestra, tipo de planta, variedad, lugar de muestreo, colector responsable, fecha y firma. Las muestras secas pueden almacenarse en las condiciones de laboratorio máximo por 10 años, para los siguientes elementos: Al, B, Ba, Ca, Cl, Cu, Fe, K, Mg, Mn, N, Na, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, P, S y Zn [29].

### **3.3 EXTRACCIÓN DE LOS ANALITOS**

Para la extracción de los analitos se utiliza el método de digestión húmeda con horno microondas, el método utilizado fue tomado del “Soil testing and plant analysis”, 3<sup>rd</sup> Ed. (SSSA BOOK SERIES: 3) [30].

#### **3.3.1 EQUIPO**

- Balanza Shimadzu modelo LIBROR AEG – 220 ( $\pm 0.0001$ ).
- Horno Microondas Milestone, Modelo Start D.

#### **3.3.2 REACTIVOS**

- Ácido nítrico al 65% p/p, grado analítico.
- Ácido perclórico al 70% p/p, grado analítico.
- Standard Reference Material 1570a Spinach Leaves (Anexo 1).

#### **3.3.3 MATERIALES**

- Pipeta automática de 5 mL, clase A.
- Viales de teflón, capacidad 25 mL.
- Filtros de papel Whatman No. 42.
- Matraz aforado de 50 mL, clase A.

### 3.3.4 PROCEDIMIENTO

- Pesar en el vial de teflón 0.40 g ( $\pm 0.01$  g) de muestra seca y molida.
- Agregar 5 mL de la mezcla de ácidos: nítrico al 65% - perclórico al 70%, en relación 5:1 y tapar herméticamente el vial.
- Colocar los viales para la digestión en el carrusel del horno microondas, asegurándose que los terminales del carrusel coincidan con la placa giratoria del horno.
- Cerrar la puerta principal del microondas, programar la temperatura a 250 °C, potencia al 90 % y tiempo 30 minutos y presionar la tecla START.
- Al final del ciclo de digestión, detener la rotación del carrusel y dejar en reposo durante 5 minutos.
- Después de enfriar la mezcla, retirar la tapa de los viales y enjuagar las paredes con agua destilada.
- Filtrar la solución sobre un filtro Whatman N° 42 y recibir en matraces aforados de 50 mL.
- Enjuagar nuevamente los viales (tres veces) y aforar.
- En el filtrado se pueden determinar las concentraciones de fósforo, azufre y boro.

En cada lote de 30 muestras se incluyó el material de referencia certificado 1570a Spinach Leaves.

### 3.4 CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO, AZUFRE Y BORO POR ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN POR ACOPLAMIENTO DE PLASMA INDUCTIVO Y DETECCIÓN ÓPTICA (ICP-OES)

Para asegurar la calidad de los resultados analíticos es necesario realizar una serie de etapas previas que se indican a continuación.

#### 3.4.1 CALIBRACIÓN DEL EQUIPO

Se realizaron diferentes ensayos para determinar el tiempo adecuado para el transporte de la muestra al nebulizador, el flujo de argón en un rango de 0–20 L/min con incrementos de 1 L/min y para el gas auxiliar de 0-2 L/min con incrementos de 0.1 L/min [21]. Se utilizó el Software “WinLab 32” (Anexo 2).

#### 3.4.2 SELECCIÓN DE LONGITUD DE ONDA Y VISTA DEL PLASMA

Para la selección de la longitud de onda y la vista del plasma apropiado se trabajó cualitativamente con soluciones de los analitos, preparadas a partir de los reactivos estándares certificados. Dichas soluciones se corrieron en el equipo a longitudes de onda consideradas como posibles y determinadas por la biblioteca del software; se seleccionó como adecuada aquella que presenta un pico de mejor resolución y mayor intensidad.

**Tabla 3.3 Posibles longitudes de onda del software “WinLab 32” para los analitos P, S y B [21].**

Analitos	Longitudes de onda (nm)		
	Fósforo	213,715	213,620
Azufre	180,669	181,975	182,007
Boro	249,678	249,769	249,772

Para seleccionar la vista del plasma se consideró aquella que presente el pico con mayor intensidad debido a que este parámetro es directamente proporcional a la concentración del analito.

### 3.4.3 DETERMINACIÓN DE LA LINEALIDAD

El término linealidad aplicado a un método analítico, define su aptitud para obtener resultados proporcionales a la concentración de analito.

La linealidad se evalúa mediante una inspección visual de la representación gráfica de un conjunto de puntos experimentales de las concentraciones de las soluciones estándar en función de la respuesta del equipo.

#### 3.4.3.1 REACTIVOS

- Phosphorous Standard Solution Traceable to SRM from NIST /10000 mg/L
- Sulfur Standard Solution Traceable to SRM from NIST /10000 mg/L
- Boron Standard Solution Traceable to SRM from NIST /1000 mg/L

#### 3.4.3.2 MATERIALES

- Pipetas automáticas de 0.5, 1, 5 y 10 mL, clase A.
- Balón aforado de 10 y 1000 mL, clase A.
- Probeta graduada.

#### 3.4.3.3 PROCEDIMIENTO

Por dilución de las soluciones estándares de referencia y de la solución stock de boro de 500 ppm, se prepararon soluciones estándares de concentraciones crecientes de 0 –

8000ppm para fósforo y azufre, y de 0 – 75 ppm para boro. Las concentraciones de las soluciones estándares se detallan en la Tabla 3.4.

**Tabla 3.4 Concentraciones de las soluciones estándares para el estudio de la linealidad.**

<b>Solución estándar</b>	<b>Fósforo mg/kg(ppm)</b>	<b>Azufre mg/kg(ppm)</b>	<b>Boro mg/kg(ppm)</b>
1	0	0	0
2	320	320	3
3	640	640	6
4	960	960	9
5	1280	1280	12
6	1600	1600	15
7	1920	1920	18
8	2240	2240	21
9	2560	2560	24
10	2880	2880	27
11	3200	3200	30
12	3520	3520	33
13	3840	3840	36
14	4160	4160	39
15	4480	4480	42
16	4800	4800	45
17	5120	5120	48
18	5440	5440	51
19	5760	5760	54
20	6080	6080	57
21	6400	6400	60
22	6720	6720	63
23	7040	7040	66
24	7360	7360	69
25	7680	7680	72
26	8000	8000	75

#### 3.4.4 DETERMINACIÓN DEL RANGO LINEAR

El rango lineal determina el intervalo de concentraciones de analito para las cuales el método brinda resultados proporcionales a la concentración[31].

En el extremo inferior del rango de concentraciones, los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o del límite de cuantificación.

En la gráfica en que se evalúa la linealidad se observa el comportamiento de la curva y se determinavisualmenteel rango lineal y se calcula el coeficiente de correlación apropiado.

El coeficiente de correlación indica el grado de relación entre la variable concentración (X) y la variable respuesta (Y) de la curva de calibración. Para una curva de calibración o trabajo se espera obtener un coeficiente de correlación con un valor  $\geq 0.998$ , esto significa que debe existiruna correlación con unaprobabilidad elevada[32].

#### 3.4.5 DETERMINACION DEL LÍMITE DE DETECCIÓN

El límite de detección (LD) es la cantidad oconcentración mínima de analito que se puede detectar con fiabilidad porun método analítico determinado.

El límite de detección es la concentración que da una señal mínima equivalente a la respuesta promedio de los blancos más tres desviaciones estándar [33].

Para su determinación se mide la intensidad de10 blancos y se aplica la siguiente fórmula para el cálculo:

$$LD = X + 3\delta \quad (3.4)$$

Donde:

LD = Límite de detección.

X = promedio de las mediciones del blanco.

$\delta$  = Desviación estándar de las mediciones efectuadas.

#### 3.4.6 DETERMINACION DEL LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

El límite de cuantificación es la concentración más baja de la sustancia en estudio que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, generalmente equivale a la media del blanco más diez veces su desviación estándar [34].

$$LC = X + 10\delta \quad (3.5)$$

Donde:

LC = Límite de cuantificación.

X = Promedio de las mediciones del blanco.

$\delta$  = Desviación estándar de las mediciones del blanco.

#### 3.4.7 DETERMINACIÓN DE LA PRECISIÓN

La precisión es el grado de concordancia entre los datos obtenidos de una serie de análisis al aplicar el método establecido.

Para evaluar datos en un amplio rango de concentraciones, es más útil calcular la desviación estándar relativa ya que está relacionada con la dispersión de las medidas alrededor de su valor medio o central.

La precisión de un método analítico se evalúa en base al análisis de la desviación estándar de los datos obtenidos al medir el Standard Reference Material fortificado en tres niveles de concentración conocida durante un periodo de tres días.

### 3.4.7.1 FORTIFICACIÓN DE MUESTRAS

Se prepara una solución fortificante que contiene 5000 ppm de fósforo, 4000 ppm de azufre y 100 ppm de boro.

Al filtrado de las muestras digeridas del material de referencia se añaden diferentes volúmenes de la solución fortificante (5, 10 y 15 mL), para obtener los tres niveles de concentración y realizar la lectura correspondiente, como se indica en la Tabla 3.5.

**Tabla 3.5 Concentración final en los niveles de fortificación.**

<b>Analito</b>	<b>Concentración de solución fortificante</b>	<b>Volumen (mL)</b>	<b>Nivel de concentración</b>	<b>Concentración Final mg/L (ppm)</b>
Fósforo	5000 ppm	5	1	500
		10	2	1000
		15	3	1500
Azufre	4000 ppm	5	1	400
		10	2	800
		15	3	1200
Boro	100 ppm	5	1	10
		10	2	20
		15	3	30

### 3.4.8 DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD

La exactitud se define como la diferencia entre el valor aceptado como verdadero y el valor experimental, se puede cuantificar a través del porcentaje de recuperación en las muestras fortificadas [35]:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{Concentración obtenida}}{\text{Concentración esperada}} \times 100 \quad (3.5)$$

### 3.4.9 LECTURA DE FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN TEJIDO FOLIAR DE BANANO Y ROSAS.

Una vez establecidas las condiciones óptimas de análisis, se procedió a determinar por duplicado el contenido de fósforo, azufre y boro en cada una de las muestras, y se realizó un análisis del comportamiento de los analitos en cada subparcela.

En cada lote de 30 muestras se analizó el Standard Reference Material 1570a Spinach Leaves y un blanco como parte del control de calidad de los resultados.

## CAPÍTULO IV

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 4.1 MUESTREO

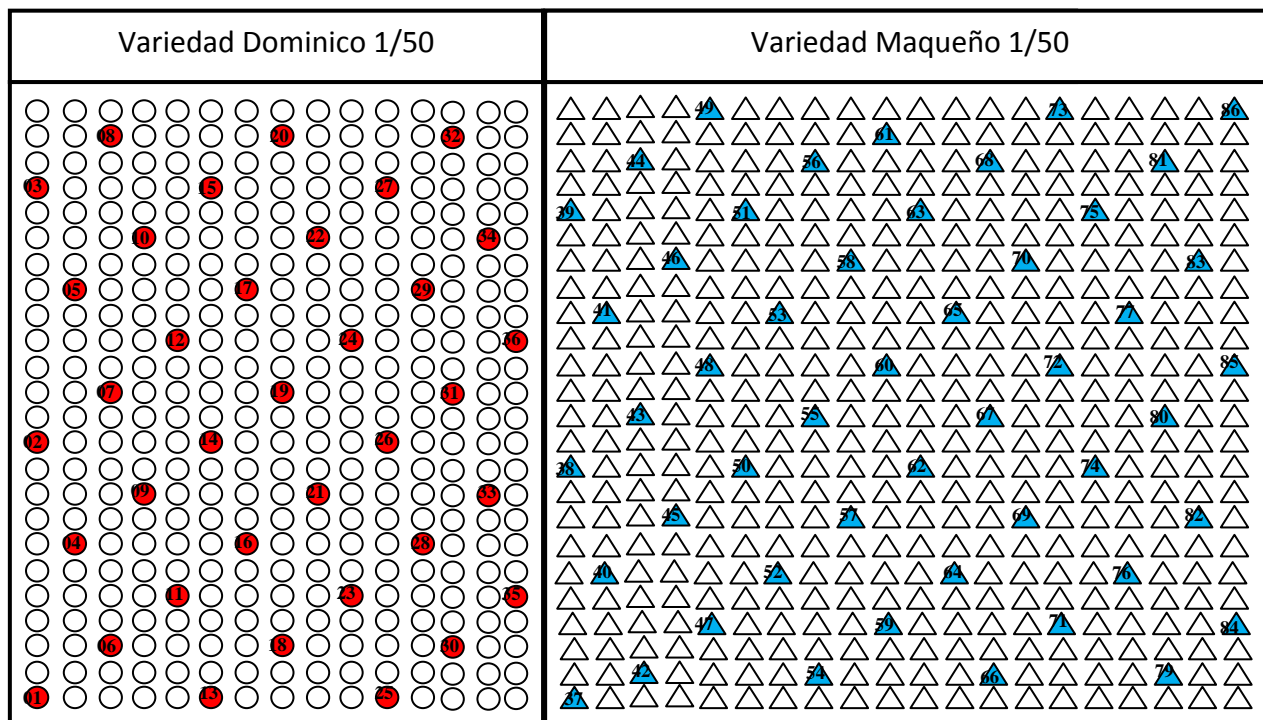
De acuerdo al plan fijado para la toma de muestras, se considera como una subparcela aquel espacio de terreno en el cual se cultiva una única variedad, tanto en el caso de banano como en el de rosas.

La Tabla 4.1 describe las subparcelas o variedades, número de plantas a muestrear y número total de muestras colectadas.

**Tabla 4.1 Número de muestras colectadas en cada subparcela.**

<b>Cultivo</b>	<b>Subparcela - Variedad</b>	<b>Número de plantas a muestrear</b>	<b>Número de muestras colectadas</b>
Banano	Dominico	36	36
	Maqueño	48	48
Rosas	Grandiflora	30	30
	Híbridas de té	30	30
Número total de muestras colectadas			<b>144</b>

A continuación se presenta un esquema resumido de los puntos de muestreo en las subparcelas o variedades Dominico y Maqueño del cultivo de banano, Figura 4.1.



**Figura 4.1 Puntos de muestreo en las subparcelas de banano**

En las Tabla 4.2 y 4.3 se detallan las características físicas de las muestras colectadas (hojas) para cada subparcela o variedad en el cultivo de banano.

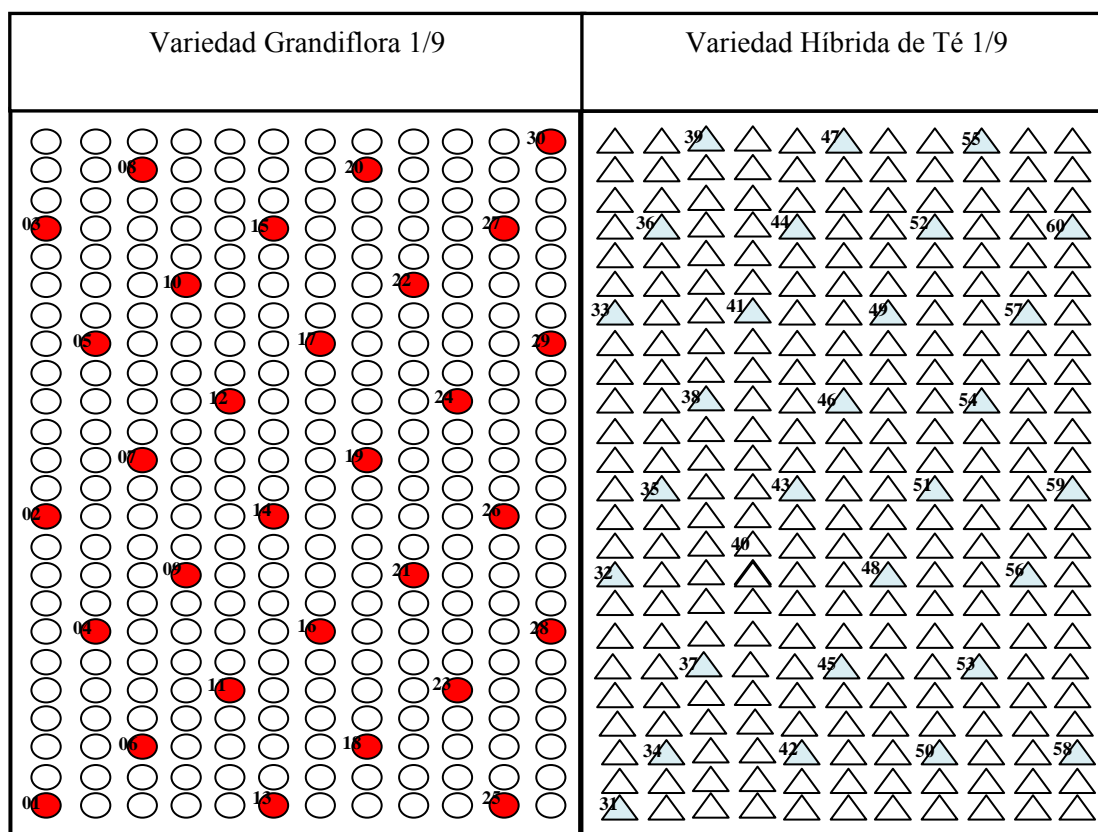
**Tabla 4.2 Características físicas de las muestras de banano variedad Dominico.**

Número de muestra	Características
01-03	Hoja de color verde, longitud 60 cm.
04-07	Hoja de color verde, longitud 80 cm.
08-10	Hoja de color verde amarillenta, longitud 78 cm
11-13	Hoja de color verde amarillenta, longitud 81 cm.
14-18	Hoja de color verde, longitud 65 cm.
19-23	Hoja de color verde, longitud 70 cm.
24-29	Hoja de color verde, longitud 69 cm.
30-32	Hoja de color verde, longitud 72 cm.
33-36	Hoja de color verde, longitud 68 cm.

**Tabla 4.3 Características físicas de las muestras de banana variedad Maqueño**

Número de muestra	Características
37-40	Hoja de color verde con pigmentación amarilla en los borde de 60 cm.
41-45	Hoja de color verde, longitud 75 cm.
46-52	Hoja de color verde, longitud 67 cm.
52-54	Hoja de color verde, longitud 69 cm.
55-60	Hoja de color verde, longitud 80 cm.
61-67	Hoja de color verde, longitud 69 cm.
68-79	Hoja de color verde, longitud 64 cm.
80-86	Hoja de color verde, longitud 60 cm.

En la Figura 4.2 se presenta un esquema de los puntos de muestreo en las subparcelas o variedades Grandiflora e Híbridas de Té del cultivo de rosas.



**Figura 4.2 Puntos de muestreo en las subparcelas de rosas**

A continuación se describe las características físicas de las muestras colectadas en la subparcela del cultivo de rosas variedad Grandiflora.

**Tabla 4.4 Características físicas de las muestras de rosas variedad Grandiflora.**

<b>Número de muestra</b>	<b>Características</b>
01-04	Hojas de color verde, levemente arrugadas y con pigmentación amarilla.
05-15	Hojas de color verde amarillentas.
16-20	Hojas de color verde.
21-26	Hojas de color verde con presencia de pigmentos amarillentos en los bordes.
27-30	Hojas de color verde oscuro.

La Tabla 4.5 presenta las características físicas colectas en la subparcela de rosas variedad Híbridas de té.

**Tabla 4.5 Características físicas de las muestras de rosas variedad Híbridas de Té.**

<b>Número de muestra</b>	<b>Características</b>
31-44	Hojas de color verde oscuro.
45-48	Hojas de color verde con presencia de pigmentación de color verde amarillento.
49-55	Hojas de color verde oscuro, arrugadas en los bordes.
56-60	Hojas de color verde oscuro.

## **4.2 CALIBRACIÓN DEL EQUIPO**

Antes de determinar la concentración de los analitos de interés, el espectrofotómetro Perkin Elmer, modelo óptima 2600 DV, se calibró para trabajar bajo condiciones óptimas que aseguran la validez de los resultados obtenidos en los análisis.

**Tabla 4.6 Condiciones de operación para el ICP-OES.**

<b>Parámetro</b>	<b>Analitos</b>		
	<b>Fósforo</b>	<b>Azufre</b>	<b>Boro</b>
Tiempo de bombeo	15 s	15 s	15 s
Réplicas	3	3	3
Flujo del plasma	20 L/min	20 L/min	20 L/min
Flujo auxiliar	0.2 L/min	0.2 L/min	0.2 L/min
Flujo del nebulizador	0.8 L/min	0.8 L/min	0.8 L/min
Potencia	1450 W	1450 W	1450 W
Longitud de onda	213,617 nm	180,669 nm	249,772 nm
Vista del plasma	Axial	Axial	Axial

El tiempo de bombeo de 15 segundos fue el adecuado para el transporte de la muestra, si se utilizantiempos menores la muestra no llega al nebulizador y con tiempos de bombeo más largos se produce la pérdida de reactivos, gas y volumen de muestra.

El equipo se programó para obtener tres lecturas y que reporte el valor promedio, si los valores presentan desviaciones estándares altas, el software alerta mediante una señal luminosa en la pantalla del computador.

El flujo del plasma y del gas auxiliar seleccionados (20 L/min y 0.2 L/min, respectivamente, permitieron obtener un plasma simétrico de color blanco brillante muy intenso en forma de lágrima; el flujo del nebulizador (0.8 L/min), responsable del transporte de la muestra al plasma fue capaz de perforar un agujero a través del centro de la descarga.

La longitud de onda seleccionada para cada analito, 213,617; 180,669 y 249,772 nm para fósforo, azufre y boro respectivamente, fueron las que presentaron mayor intensidad y una buena resolución de picos; por otro lado se seleccionó una vista de plasma axial por su alta sensibilidad y mejor detección de analitos a bajas concentraciones.

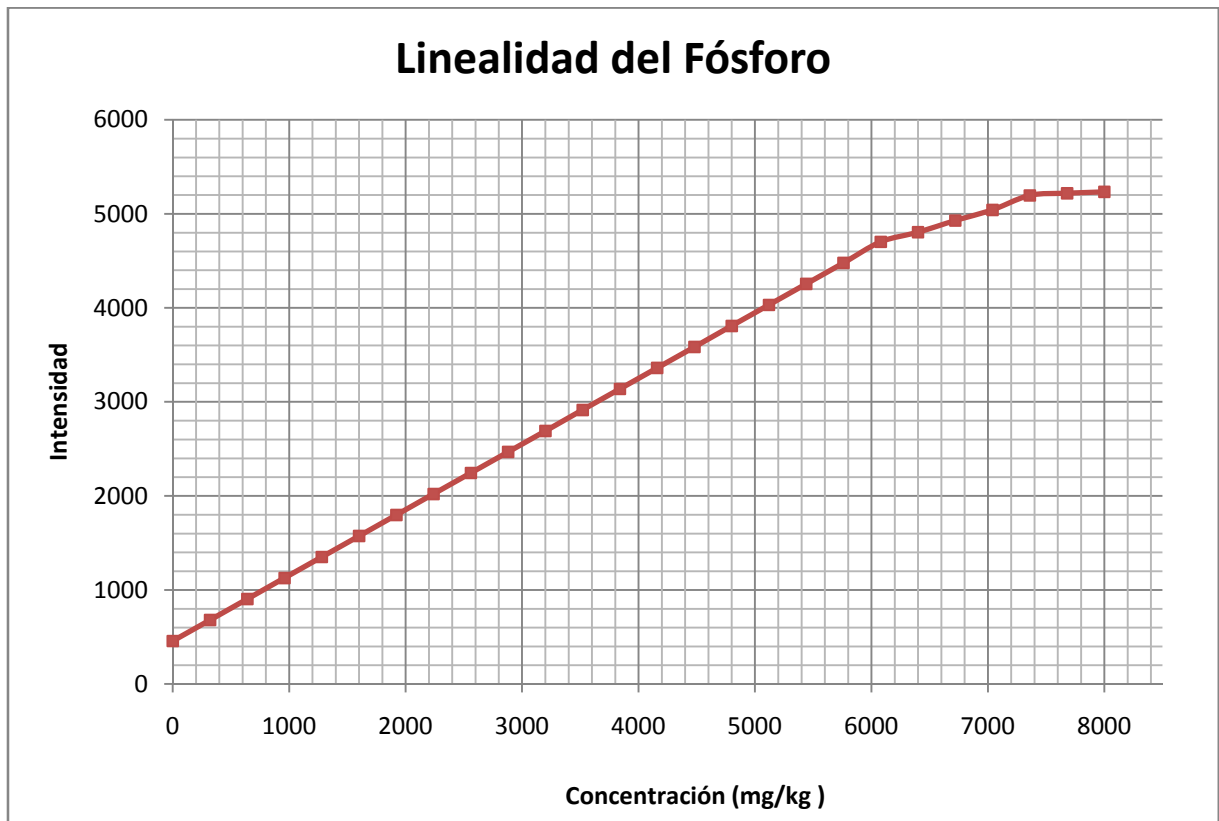
### 4.3 LINEALIDAD

Las soluciones estándares de fósforo con su concentración y los valores de intensidad correspondiente utilizadas para trazar la gráfica Intensidad versus Concentración se presentan en la Tabla 4.7 y el comportamiento del analito se observa en la Figura 4.3.

**Tabla 4.7 Soluciones estándares de fósforo y valores de intensidad.**

<b>Solución estándar</b>	<b>Concentración mg/kg(ppm)</b>	<b>Intensidad</b>
01	0	456.9
02	320	680.3
03	640	903.8
04	960	1127.2
05	1280	1350.6
06	1600	1574.0
07	1920	1797.5
08	2240	2020.9
09	2560	2244.3
10	2880	2467.8
11	3200	2691.2
12	3520	2914.6
13	3840	3138.1
14	4160	3361.5
15	4480	3584.9
16	4800	3808.4

Solución estándar	Concentración mg/kg (ppm)	Intensidad
17	5120	4031.8
18	5440	4255.2
19	5760	4478.6
20	6080	4702.1
21	6400	4805.5
22	6720	4928.9
23	7040	5042.4
24	7360	5195.8
25	7680	5219.2
26	8000	5278.9



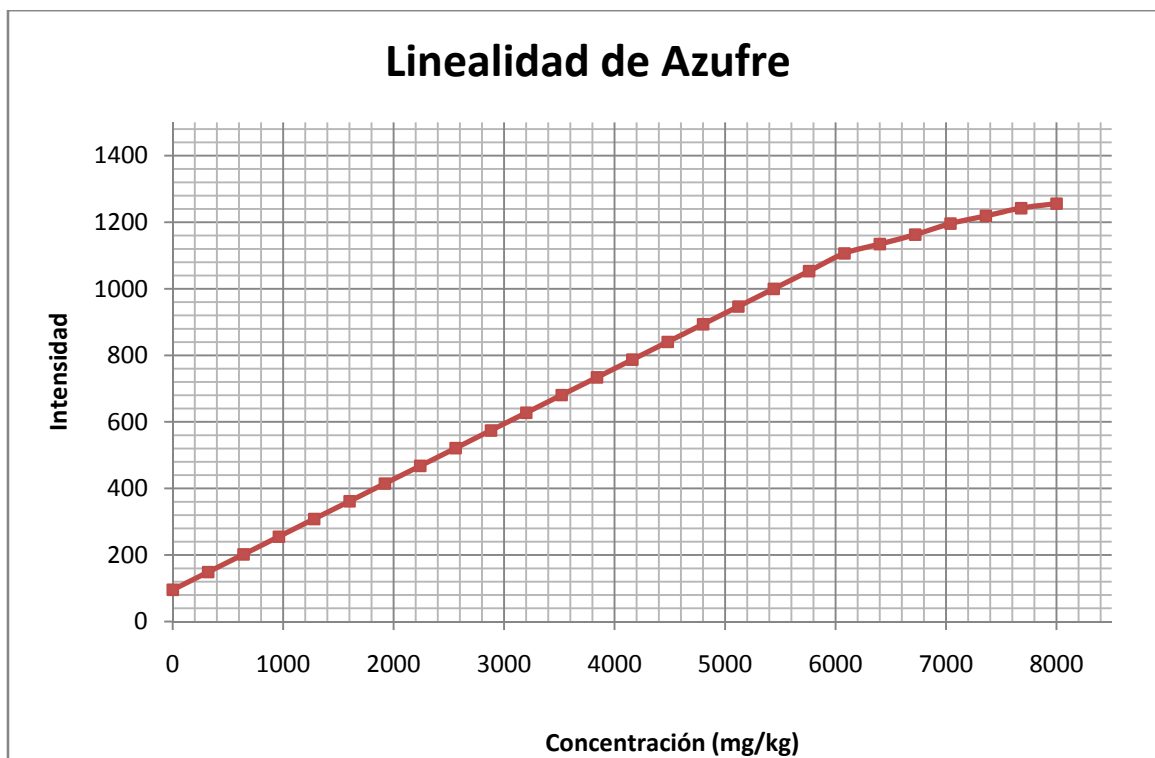
**Figura 4.3** Linealidad para fósforo.

Como se aprecia en la Figura 4.3 se mantiene la linealidad con valores que van de 0 a 6000 mg/kg (ppm).

Con los valores de concentración en ppm de las soluciones estándar de azufre y los valores de intensidad respectivos se trazó la curva Intensidad versus Concentración, Tabla 4.8.

**Tabla 4.8 Soluciones estándares de azufre y valores de intensidad.**

<b>Solución Estándar</b>	<b>Concentración mg/kg(ppm)</b>	<b>Intensidad</b>
01	0	95.6
02	320	148.8
03	640	202.0
04	960	255.2
05	1280	308.4
06	1600	361.6
07	1920	414.8
08	2240	468.0
09	2560	521.2
10	2880	574.4
11	3200	627.6
12	3520	680.8
13	3840	734.0
14	4160	787.2
15	4480	840.4
16	4800	893.6
17	5120	946.8
18	5440	1000.0
19	5760	1053.2
20	6080	1106.4
21	6400	1134.6
22	6720	1162.8
23	7040	1196.0
24	7360	1219.2
25	7680	1242.4
26	8000	1267.7



**Figura 4.4 Linealidad para azufre.**

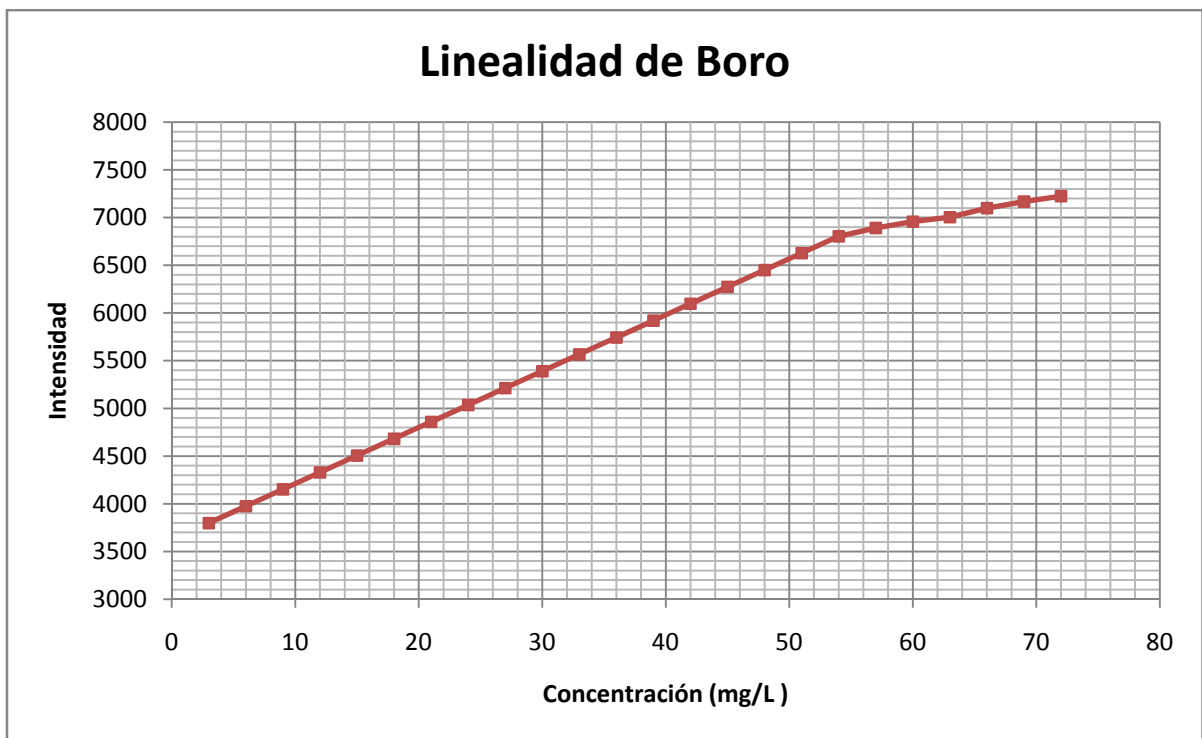
La linealidad para azufre comprende valores que van de 0 a 6000 mg/kg(ppm), la recta pierde su linealidad con valores superiores a los 6000 ppm.

A continuación se presentan los valores de intensidad que corresponden a cada una de las soluciones estándares empleadas para el análisis de boro. Tabla 4.9.

**Tabla 4.9 Soluciones estándar y valores de intensidad para boro.**

Solución Estándar	Concentración mg/kg (ppm)	Intensidad
01	0	3798.5
02	3	3975.3
03	6	4152.1
04	9	4328.9
05	12	4505.7
06	15	4682.5
07	18	4859.3

Solución Estándar	Concentración mg/kg (ppm)	Intensidad
08	21	5036.1
09	24	5212.9
10	27	5389.7
11	30	5566.5
12	33	5743.3
13	36	5920.1
14	39	6096.9
15	42	6273.7
16	45	6450.5
17	48	6627.3
18	51	6804.1
19	54	6890.9
20	57	6957.7
21	60	7004.5
22	63	7099.3
23	66	7168.1
24	69	7224.9
25	72	3798.5



**Figura 4.5** Linealidad para boro.

La recta mantiene una linealidad a un rango que comprende valores que van de 0 a 51 ppm, la misma que pierde a concentraciones superiores a 51 ppm.

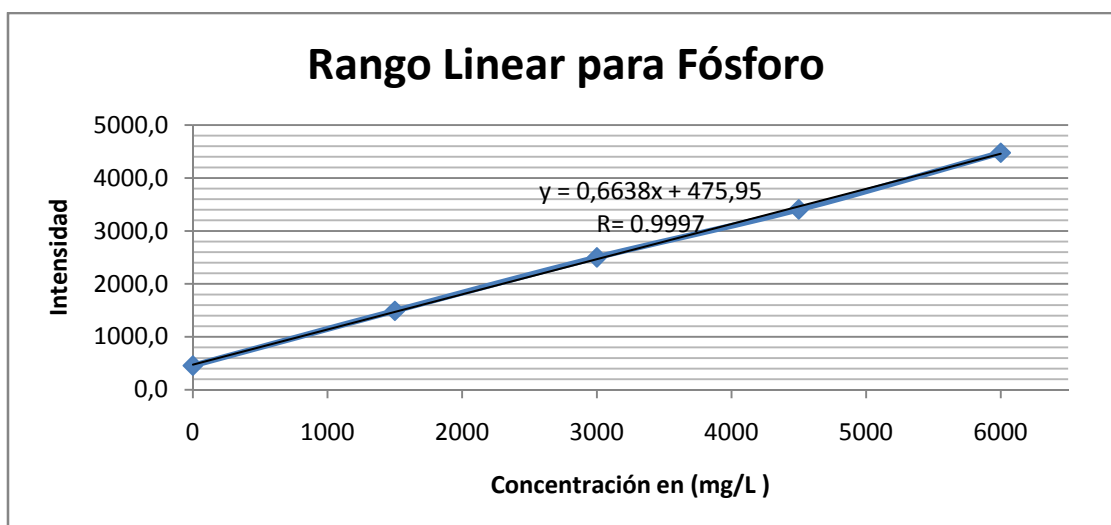
#### 4.4 RANGO LINEAR

La Tabla 4.10 presenta los resultados promedio de los valores de intensidad que corresponden a cada una de las soluciones estándares empleadas para el análisis.

**Tabla 4.10 Resultados de rango linear para fósforo**

Solución Estándar	Concentración mg/kg (ppm)	Intensidad
1	0	457.6
2	1500	1492.5
3	3000	2501.1
4	4500	3406.5
5	6000	4479.1
<b>Ecuación</b>	$y = 0.6638x + 475.95$	
<b>R</b>	0.9997	

En la Figura 4.6 se presenta la gráfica del rango linear para fósforo.



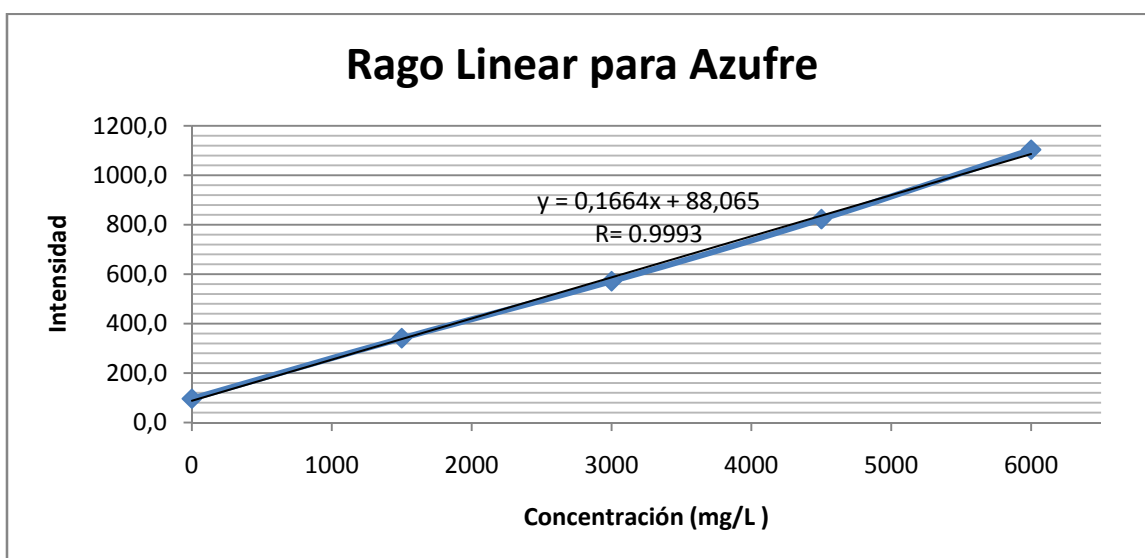
**Figura 4.6 Rango linear de fósforo.**

El coeficiente de correlación para el rango de concentraciones de 0 a 6000 ppm es de 0.9997 valor superior al planteado, si se incluye en la curva de calibración la solución estándar de 6400 ppm, el coeficiente de correlación presenta un valor menor al propuesto.

La Tabla 4.11 presenta los resultados promedio de la intensidad que corresponde a cada una de las soluciones estándares de azufre, y su curva en la Figura 4.7.

**Tabla 4.11 Resultados de rango linear para Azufre**

Solución Estándar	Concentración mg/kg (ppm)	Intensidad
1	0	96.9
2	0.75	341.1
3	1.42	571.4
4	2.10	808.1
5	2.85	1103.9
<b>Ecuación</b>	$y = 0.1664x + 88.065$	
<b>R</b>	0.9993	



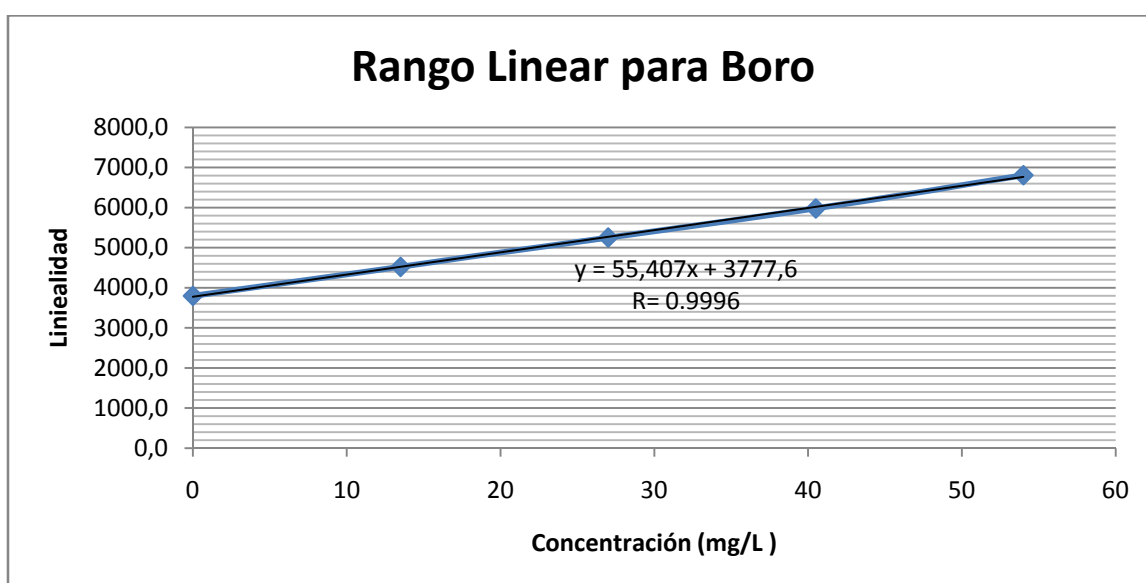
**Figura 4.7 Rango linear de azufre.**

El rango lineal para el azufre presenta un intervalo de concentraciones útil para este estudio entre 0 a 6000 ppm, el coeficiente de correlación es de 0.9993, a mayores concentraciones el coeficiente de correlación disminuye.

Los valores promedios de intensidad y las concentraciones de las soluciones empleadas para el estudio del rango lineal del boro se reportan en La Tabla 4.12 y representación en la Figura 4.8.

**Tabla 4.12 Resultados de rango lineal para Boro**

Solución Estándar	Concentración mg/kg (ppm)	Intensidad
1	0	3798.9
2	13.5	4523.2
3	27.0	5255.1
4	40.5	5980.4
5	54.0	6810.3
<b>Ecuación</b>	$y = 55.407x + 3777.6$	
<b>R</b>	0.9996	



**Figura 4.7 Rango lineal de Boro.**

El rango lineal para boro comprende un rango de concentraciones que va de 0 a 54.0 ppm, el coeficientes de correlación es 0.9996, superior al propuesto.

#### 4.5 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

Los valores de concentración correspondiente a la lectura de los blancos utilizados para determinar los límites de detección y cuantificación se presentan en la Tabla 4.13.

**Tabla 4.13 Concentración de blancos para la determinación del límite de detección y cuantificación.**

<b>Blanco</b>	<b>Fósforo mg/L (ppm)</b>	<b>Azufre mg/L (ppm)</b>	<b>Boro mg/L (ppm)</b>
1	103.65	299.12	0.01
2	103.76	298.98	0.01
3	104.98	297.30	0.02
4	104.32	297.30	0.02
5	103.45	298.30	0.02
6	102.23	298.30	0.01
7	102.87	299.32	0.01
8	103.09	297.30	0.02
9	103.49	298.00	0.01
10	103.87	297.88	0.02
Promedio X	103.57	150.00	0.02
Desviación estándar $\delta$	0.7616	0.7672	0.0053
<b>LD</b>	<b>105.86</b>	<b>152.30</b>	<b>0.031</b>
<b>LC</b>	<b>111.19</b>	<b>157.67</b>	<b>0.068</b>

LD = Límite de detección. LC = Límite de cuantificación.

La cantidad mínima detectable para fósforo es 105.86 ppm, azufre es 152.30 ppm y para boro 0.031 ppm y la cantidad mínima que se puede cuantificar utilizando este método es 111.19 ppm para fósforo, 157.67 ppm para azufre y 0.068 ppm para boro.

#### 4.6 PRECISIÓN Y EXACTITUD

En la Tabla 4.14 se presentan los resultados promedios de las mediciones del estudio de precisión y exactitud evaluadas para fósforo, azufre y boro en cada nivel. Los cuadros completos se encuentran en los Anexos 3, 4 y 5 para fósforo, azufre y boro respectivamente.

**Tabla 4.14 Precisión y exactitud para fósforo, azufre y boro.**

<b>Fósforo</b>		
<b>Nivel de concentración</b>	<b>Precisión (<math>\delta</math>)</b>	<b>Exactitud (%)</b>
1	0.49	99.77
2	0.29	99.76
3	0.51	99.82
<b>Azufre</b>		
1	0.49	99.85
2	0.49	99.19
3	0.47	99.84
<b>Boro</b>		
1	0.35	98.86
2	0.38	98.84
3	0.37	99.29

Los porcentajes de recuperación para los analitos fósforo, azufre y boro son los adecuados, debido a que los valores de para cada uno de los niveles de concentración analizados están próximos al 100 %.

#### 4.7 CUANTIFICACIÓN DE FÓSFORO AZUFRE Y BORO EN TEJIDO FOLIAR DE BANANO Y ROSAS

Una vez establecidas las condiciones adecuadas del equipo y del método se procedió a analizar cada una de las muestras por duplicado y en cada lote de 30 muestras se incluyó una muestra del Standard Reference Material y un blanco como parte del control de calidad.

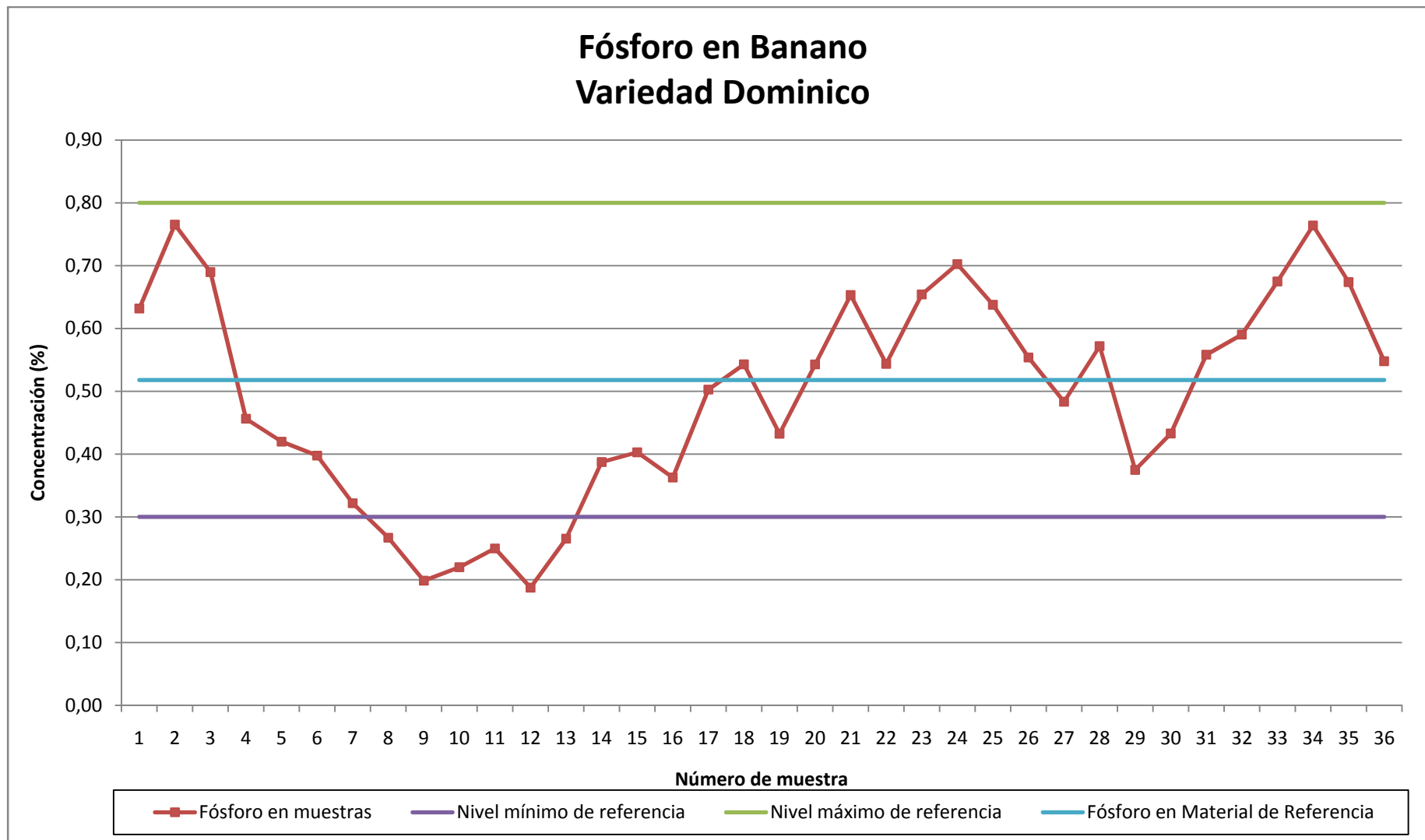
En la tabla 4.15 se aprecian las concentraciones en ppm y % m/v de los analitos fósforo y azufre, y en mg/kg(ppm) para boro de las variedades Dominico y Maqueño del cultivo de banano perteneciente a la provincia de El Oro, también se adjuntan las graficas del contenido de fósforo, azufre y boro por variedad.

**Tabla 4.15 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de banano, variedad Dominico.**

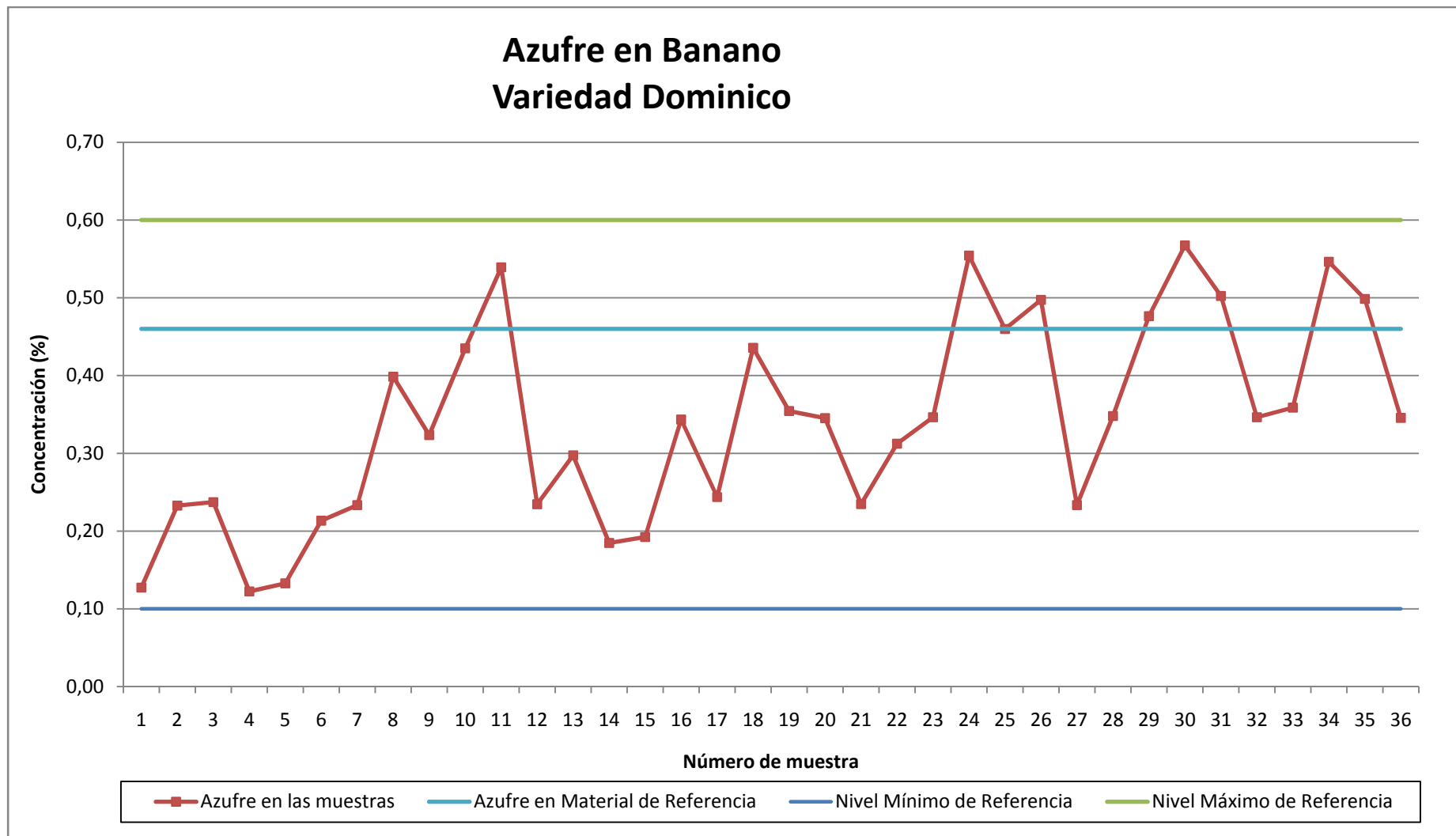
Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
01	0.63	6318.5	0.13	1273.0	32.45
02	0.77	7654.0	0.23	2327.4	37.36
03	0.69	6898.0	0.24	2372.0	39.40
04	0.46	4563.0	0.12	1223.0	41.62
05	0.42	4198.0	0.13	1327.0	42.43
06	0.40	3976.0	0.21	2133.2	50.51
07	0.32	3217.6	0.23	2334.0	49.27
08	0.27	2668.3	0.40	3984.6	44.63
09	0.20	1984.0	0.32	3234.0	48.06
10	0.22	2198.3	0.44	4350.0	47.48
11	0.25	2497.3	0.54	5392.0	53.96

Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
12	0.19	1873.0	0.23	2345.0	55.22
13	0.27	2653.0	0.30	2973.0	54.89
14	0.39	3874.0	0.18	1847.0	33.10
15	0.40	4028.0	0.19	1922.4	36.75
16	0.36	3627.3	0.34	3434.0	42.29
17	0.50	5027.3	0.24	2437.0	44.12
18	0.54	5428.7	0.44	4356.4	42.73
19	0.43	4323.2	0.35	3543.3	39.15
20	0.54	5428.0	0.35	3452.0	36.42
21	0.65	6532.0	0.23	2346.0	47.72
22	0.54	5437.2	0.31	3123.0	49.70
23	0.65	6543.0	0.35	3463.0	47.25
24	0.70	7024.3	0.55	5543.0	43.68
25	0.64	6378.0	0.46	4598.0	40.53
26	0.55	5539.0	0.50	4973.0	47.67
27	0.48	4834.0	0.23	2334.0	49.45
28	0.57	5720.0	0.35	3479.0	44.88
29	0.37	3748.5	0.48	4763.0	44.44
30	0.43	4328.0	0.57	5673.0	37.13
31	0.56	5583.0	0.50	5023.0	40.44
32	0.59	5903.0	0.35	3463.0	41.27
33	0.67	6749.3	0.36	3587.0	41.87
34	0.76	7639.2	0.55	5463.0	45.21
35	0.67	6739.0	0.50	4985.0	44.06
36	0.55	5478.3	0.35	3455.0	50.72

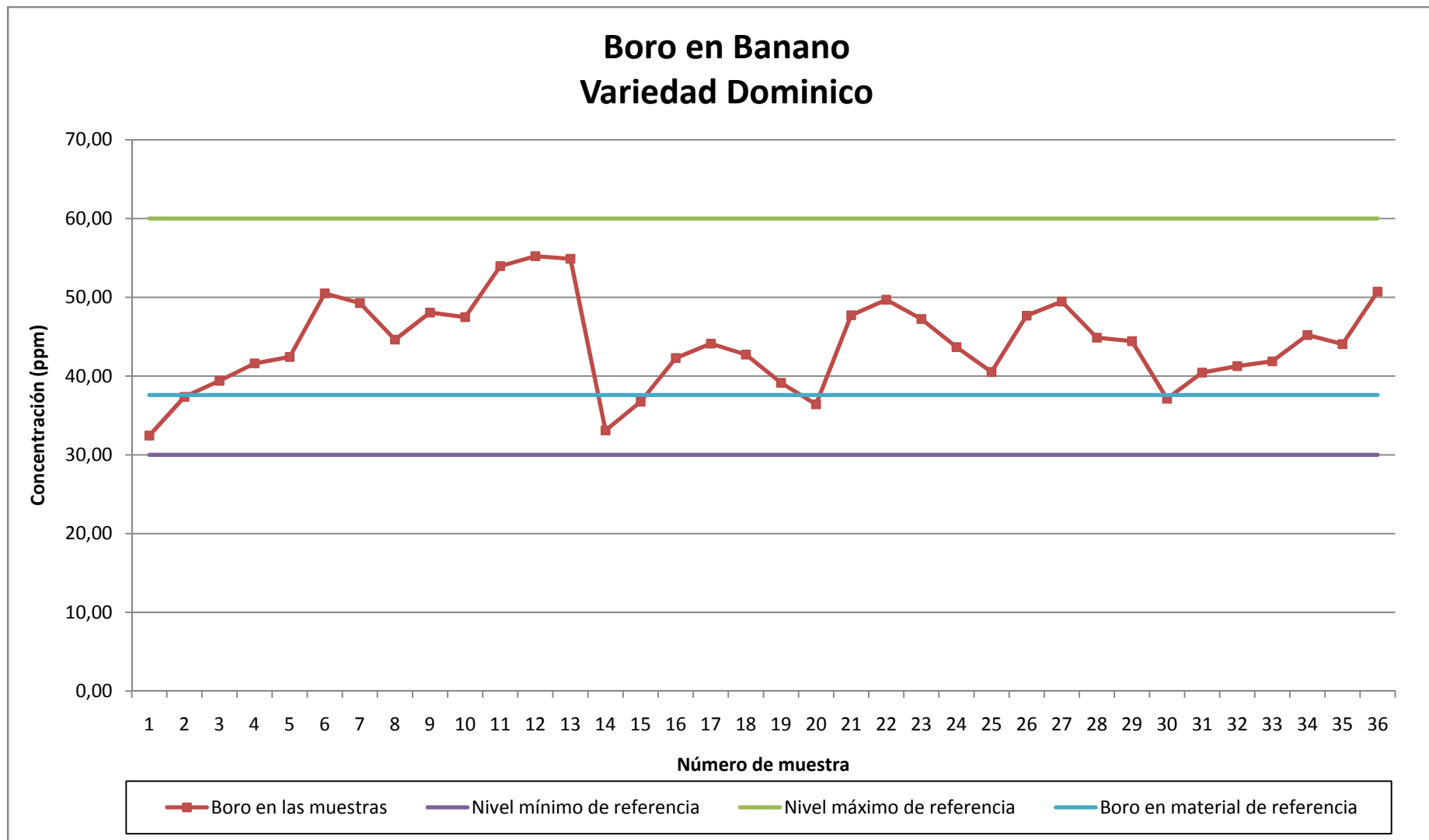
A continuación se presenta las gráficas de las concentraciones en % (m/v) de fósforo y azufre y ppm para boro de cada una las muestras del cultivo de banano variedad Dominico.



**Figura 4.9** Cuantificación de fósforo en banano variedad Dominico.



**Figura 4.10** Cuantificación de Azufre en banano variedad Dominico



**Figura 4.11** Cuantificación de Boro banano variedad Dominico.

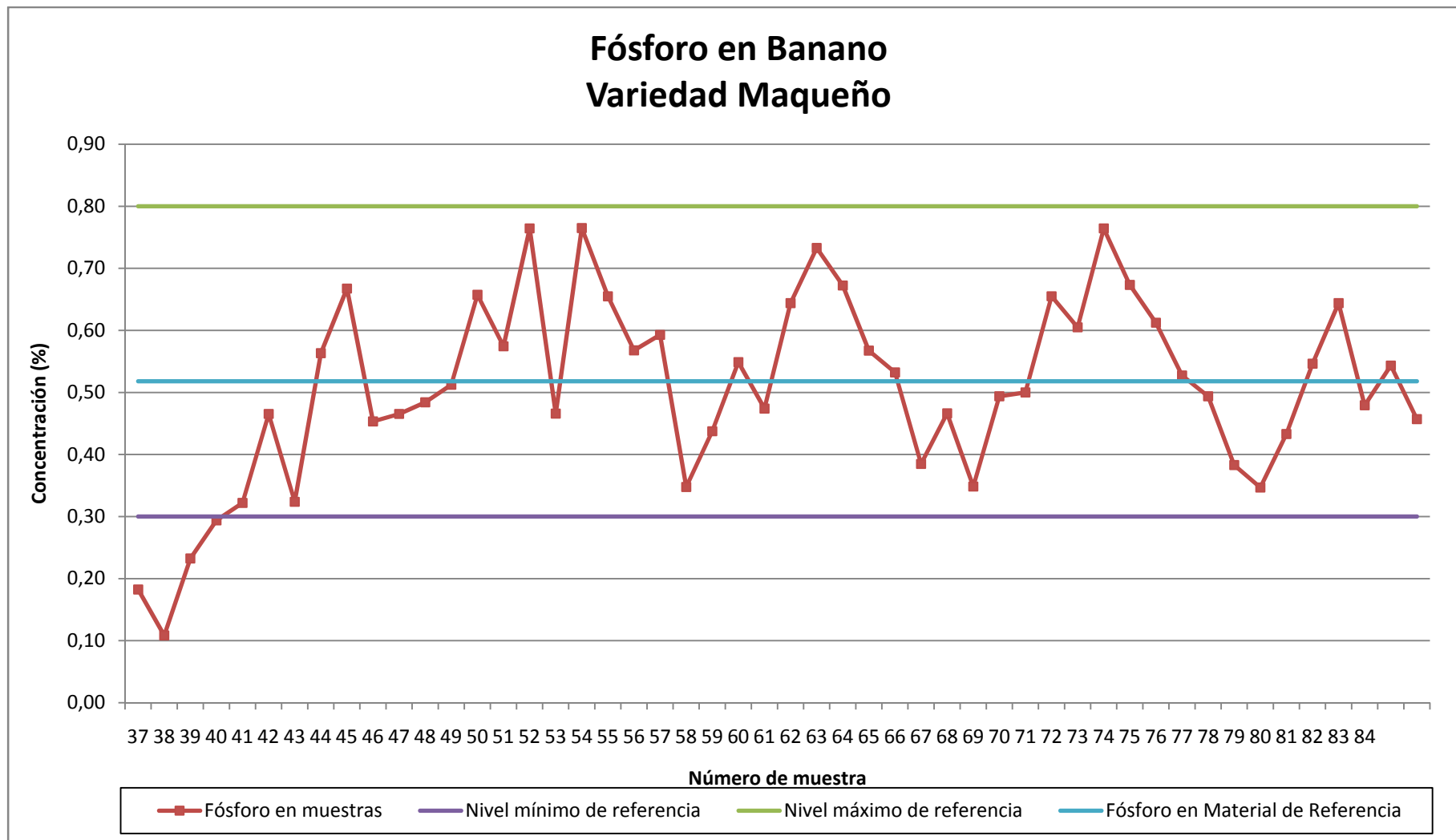
Se puede apreciar que los analitos en estudio se encuentran dentro de los niveles de referencia considerados como normales para el tipo de estudio, a excepción de las muestras 8 a la 13 que presentan una concentración de fósforo inferior al nivel mínimo de referencia.

La tabla 4.16 reporta los datos de las concentraciones de los analitos en estudio para de las muestras de banano, variedad Maqueño.

**Tabla 4.16 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de banano, Variedad Maqueño.**

Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
37	0.18	1823.0	0.35	3544.0	50.64
38	0.11	1083.0	0.39	3874.2	49.88
39	0.23	2324.0	0.29	2874.5	51.88
40	0.29	2937.4	0.47	4653.2	31.64
41	0.32	3219.3	0.38	3764.5	40.55
42	0.47	4653.0	0.35	3468.2	42.00
43	0.32	3237.0	0.48	4764.3	44.64
44	0.56	5632.0	0.35	3487.2	41.74
45	0.67	6673.4	0.25	2473.8	44.69
46	0.45	4532.0	0.20	1974.4	49.20
47	0.47	4653.0	0.12	1232.0	49.72
48	0.48	4839.8	0.24	2378.0	48.85
49	0.51	5124.0	0.23	2343.6	48.44
50	0.66	6573.0	0.44	4352.0	47.43
51	0.57	5743.0	0.51	5103.3	54.79
52	0.76	7643.0	0.46	4592.0	56.43
53	0.47	4658.0	0.58	5778.4	52.83
54	0.76	7648.3	0.50	5038.4	47.79
55	0.65	6548.3	0.46	4567.4	45.75

Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
56	0.57	5678.0	0.23	2348.6	48.12
57	0.59	5927.0	0.35	3457.0	45.04
58	0.35	3476.0	0.47	4678.0	38.63
59	0.44	4374.0	0.57	5734.0	32.75
60	0.55	5487.3	0.36	3627.8	37.30
61	0.47	4739.0	0.35	3475.6	44.54
62	0.64	6438.7	0.37	3650.0	44.31
63	0.73	7327.4	0.57	5735.0	42.63
64	0.67	6723.0	0.53	5298.4	45.81
65	0.57	5673.0	0.46	4563.0	47.48
66	0.53	5322.0	0.52	5234.0	55.17
67	0.38	3847.0	0.54	5434.0	50.09
68	0.47	4663.0	0.35	3457.0	47.90
69	0.35	3483.0	0.22	2246.0	45.98
70	0.49	4937.4	0.25	2479.0	42.78
71	0.50	5000.0	0.33	3286.4	46.55
72	0.65	6549.3	0.44	4365.0	46.64
73	0.60	6048.7	0.36	3567.0	41.89
74	0.76	7643.0	0.54	5434.0	39.00
75	0.67	6732.0	0.37	3746.0	37.95
76	0.61	6123.0	0.36	3587.3	41.18
77	0.53	5272.0	0.54	5372.0	35.41
78	0.49	4937.0	0.39	3857.0	33.77
79	0.38	3829.0	0.34	3420.0	32.12
80	0.35	3467.3	0.23	2347.0	33.90
81	0.43	4329.0	0.43	4324.0	42.21
82	0.55	5463.0	0.35	3476.0	44.65
83	0.64	6438.0	0.46	4563.0	44.17
84	0.48	4793.0	0.39	3875.0	48.02
85	0.54	5432.7	0.35	3487.0	49.34
86	0.46	4569.0	0.49	4947.0	50.39



**Figura 4.12** Cuantificación de Fósforo en banano variedad Maqueño.

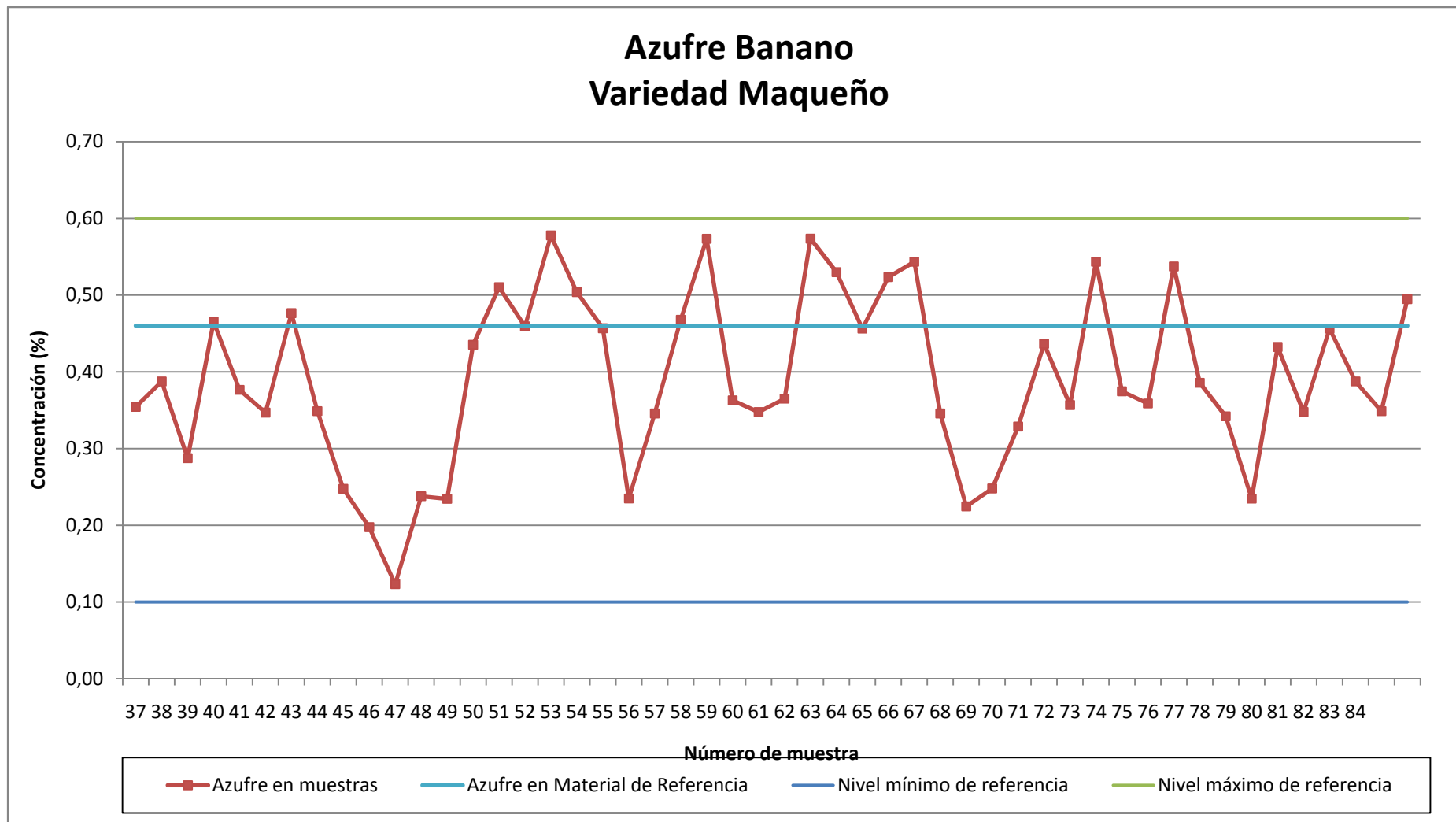
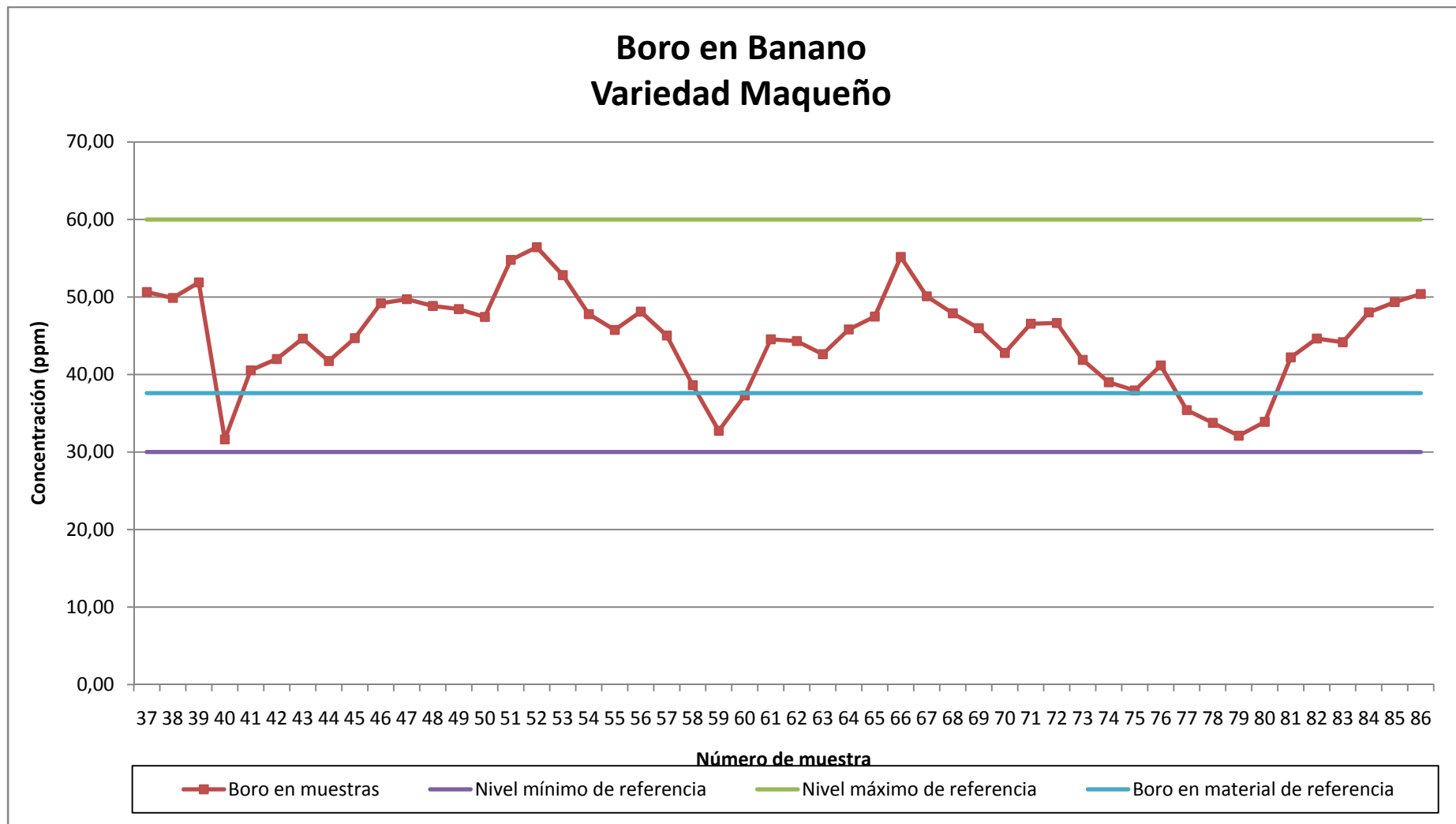


Figura 4.13 Cuantificación de Azufre banano variedad Maqueño.



**Figura 4.14** Cuantificación de Boro en banano variedad Maqueño.

La concentración de los analitos presentes en las muestras colectadas de banano variedad Maqueño se encuentran dentro de los niveles de referencia óptimos para el buen desarrollo de la planta, sin embargo se observa una deficiencia de fósforo en las muestras 37 a la 40.

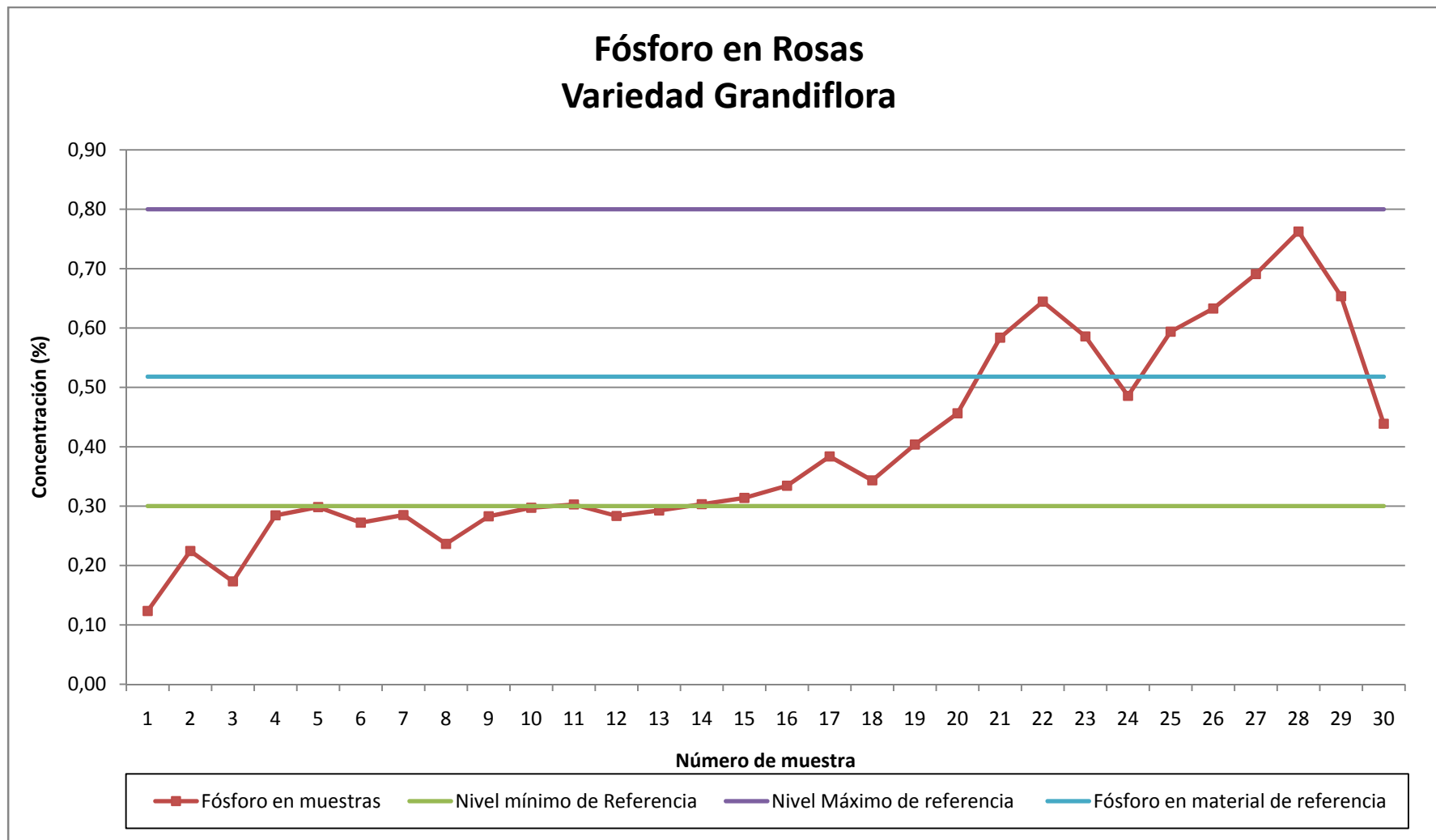
Los datos de las concentraciones de los analitos en estudio para de las muestras de rosas, variedad Grandiflora, se reporta en la siguiente Tabla.

**Tabla 4.17 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de rosas, variedad Grandiflora.**

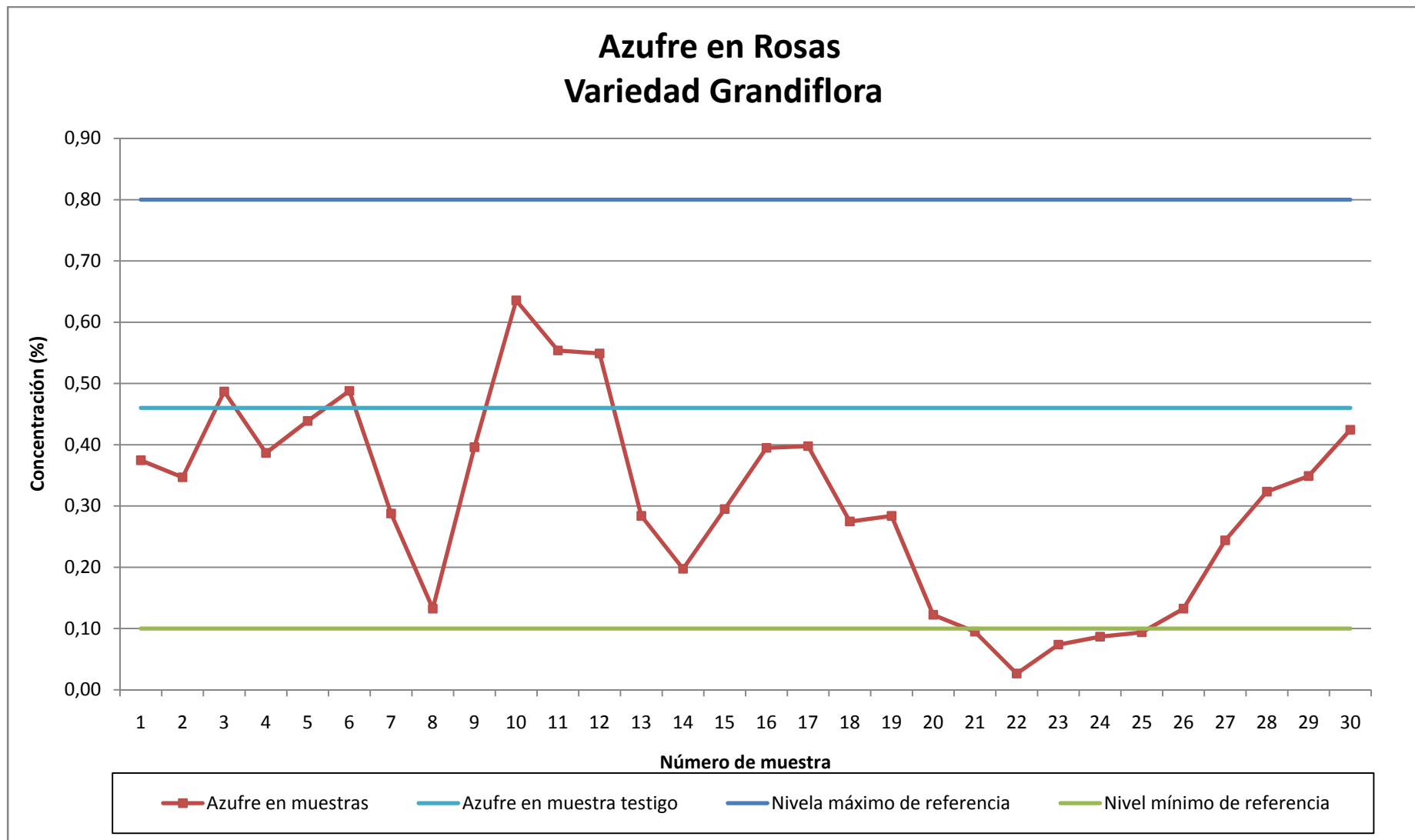
Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
01	0.12	1234.0	0.37	3745.0	28.14
02	0.22	2245.0	0.35	3467.0	19.27
03	0.17	1732.5	0.49	4867.0	25.72
04	0.28	2845.0	0.39	3865.7	23.03
05	0.30	2984.0	0.44	4387.4	28.03
06	0.27	2722.4	0.49	4878.3	27.52
07	0.28	2849.7	0.29	2876.6	31.03
08	0.24	2364.9	0.13	1323.6	23.59
09	0.28	2828.4	0.40	3958.9	37.55
10	0.30	2973.4	0.64	6354.6	31.99
11	0.30	3028.3	0.55	5537.2	37.86
12	0.28	2834.7	0.55	5488.0	38.52
13	0.29	2927.4	0.28	2837.8	43.35
14	0.30	3032.7	0.20	1974.3	42.27
15	0.31	3138.2	0.29	2948.7	49.43
16	0.33	3343.4	0.39	3947.8	48.92
17	0.38	3836.4	0.40	3975.8	51.79
18	0.34	3434.0	0.27	2746.7	51.96

Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
19	0.40	4037.4	0.28	2837.4	54.49
20	0.46	4563.2	0.12	1223.4	49.79
21	0.58	5837.0	0.09	948.4	53.89
22	0.64	6443.0	0.03	264.5	55.08
23	0.59	5857.8	0.07	736.4	53.29
24	0.49	4856.8	0.09	866.3	51.52
25	0.59	5937.5	0.09	937.5	52.13
26	0.63	6327.4	0.13	1323.4	45.04
27	0.69	6908.4	0.24	2438.4	44.22
28	0.76	7624.0	0.32	3233.4	42.07
29	0.65	6534.2	0.35	3487.9	43.05
30	0.44	4387.4	0.42	4243.3	40.67

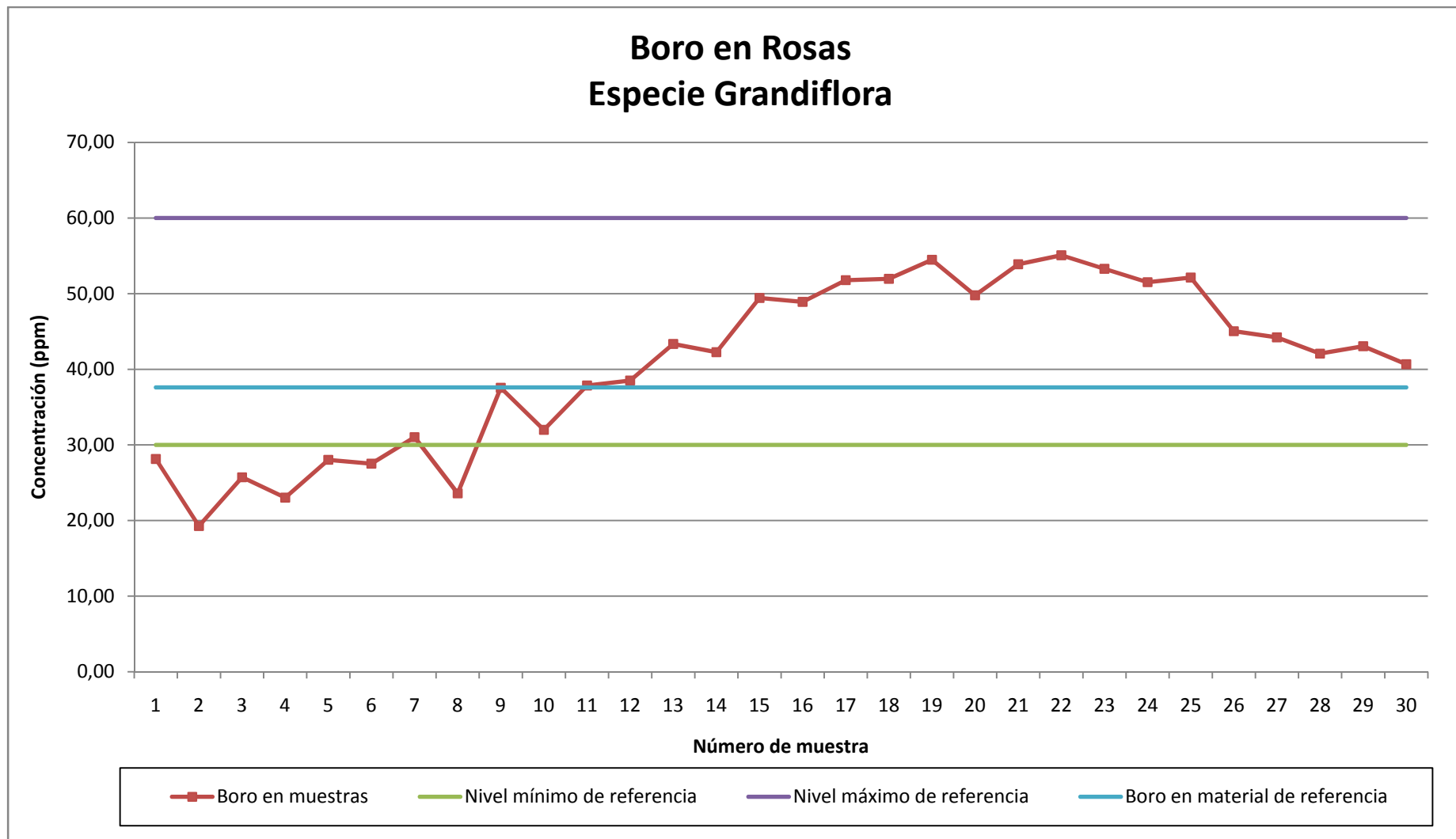
En las Figuras 4.14, 4.15 y 4.16, se puede apreciar el comportamiento de cada analito en las muestras colectadas en el cultivo de rosas en la subparcela perteneciente a la variedad Grandiflora.



**Figura 4.15** Cuantificación de Fósforo en rosas variedad Grandiflora.



**Figura 4.16** Cuantificación de Azufre en rosas variedad Grandiflora.



**Figura 4.17** Cuantificación de Boro en rosas variedad Grandiflora.

La concentración de los analitos presentes en las muestras colectadas de rosas variedad Grandiflora se encuentran dentro de los niveles de referencia óptimos para el buen desarrollo de la planta, sin embargo existe algunas muestras con deficiencia de fósforo, azufre y boro.

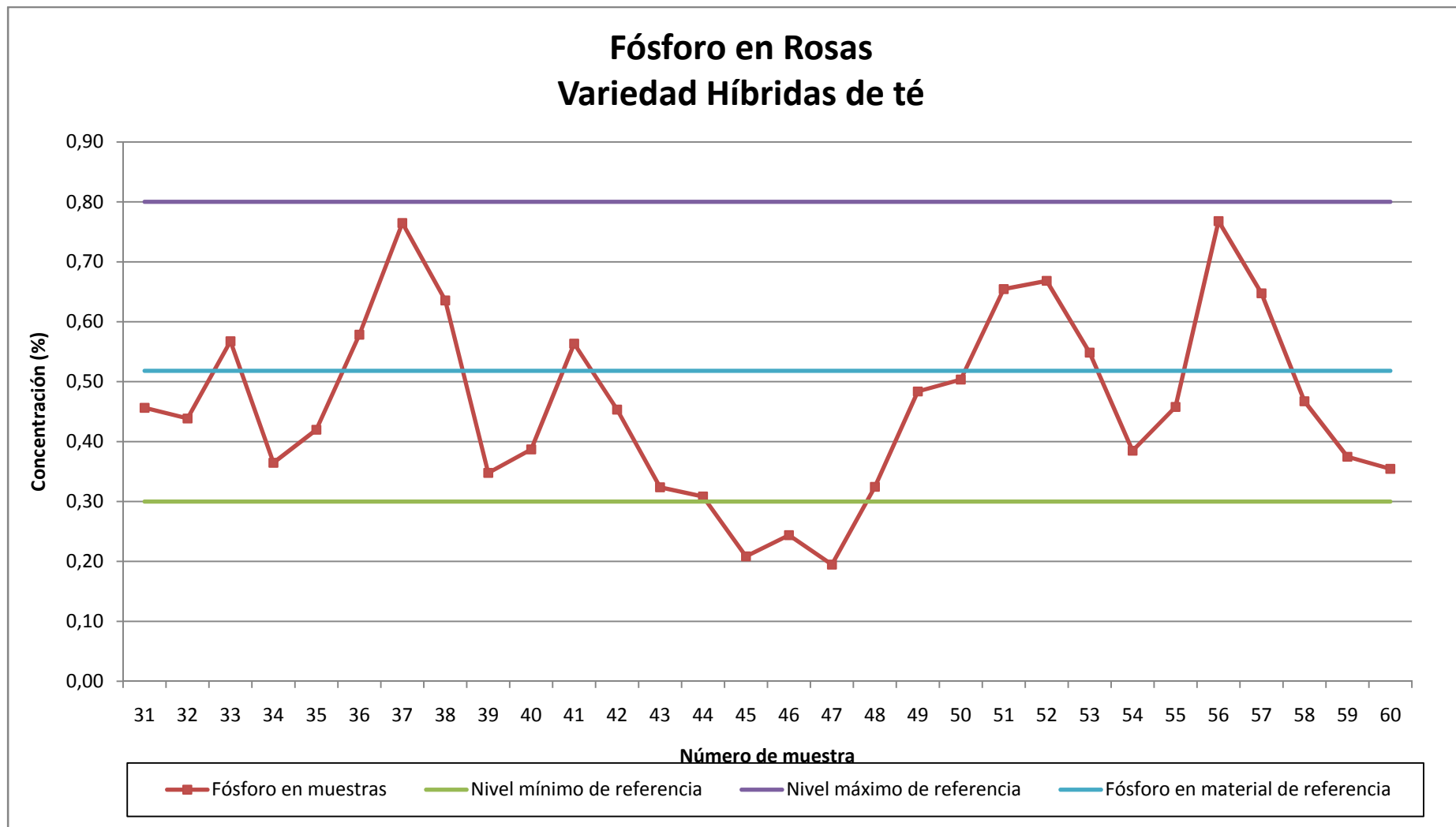
La Tabla 4.18 reporta los datos de las concentraciones de los analitos en estudio para de las muestras de rosas, variedad Híbridas de Té.

**Tabla 4.18 Cuantificación de fósforo, azufre y boro en cultivo de rosas, variedad Híbridas de Té.**

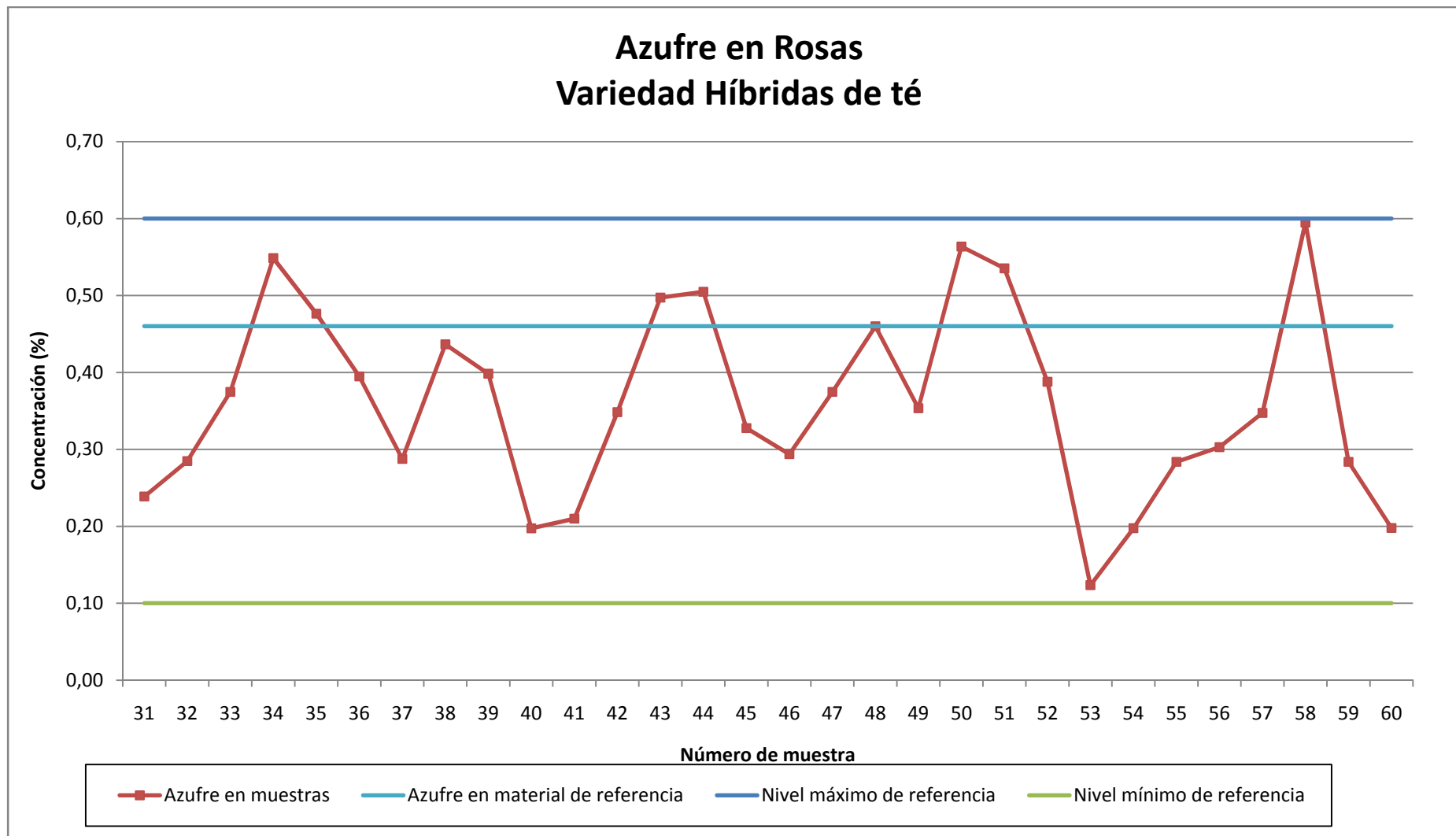
Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
31	0.46	4563.0	0.24	2387.0	39.05
32	0.44	4385.6	0.28	2847.4	31.57
33	0.57	5674.6	0.37	3746.7	55.44
34	0.36	3646.0	0.55	5485.0	47.44
35	0.42	4198.0	0.48	4763.7	49.53
36	0.58	5783.7	0.39	3947.7	48.99
37	0.76	7647.0	0.29	2874.7	47.88
38	0.64	6354.0	0.44	4365.3	40.85
39	0.35	3478.3	0.40	3983.0	45.64
40	0.39	3870.0	0.20	1973.7	42.05
41	0.56	5634.0	0.21	2098.4	55.66
42	0.45	4534.3	0.35	3483.6	54.06
43	0.32	3237.4	0.50	4972.3	46.18
44	0.31	3084.8	0.50	5048.3	41.65
45	0.21	2084.8	0.33	3276.3	47.71
46	0.24	2438.7	0.29	2937.7	36.50
47	0.19	1947.8	0.37	3746.6	31.63
48	0.32	3245.0	0.46	4598.9	35.27

Número de muestra	Fósforo		Azufre		Boro
	% m/v	mg/kg (ppm)	% m/v	mg/kg (ppm)	mg/kg (ppm)
49	0.48	4836.4	0.35	3534.8	27.76
50	0.50	5034.8	0.56	5636.4	22.67
51	0.65	6543.8	0.54	5352.8	28.93
52	0.67	6682.4	0.39	3878.2	44.77
53	0.55	5483.9	0.12	1234.1	40.62
54	0.38	3847.8	0.20	1974.9	33.06
55	0.46	4578.0	0.28	2837.4	46.07
56	0.77	7678.3	0.30	3028.5	42.53
57	0.65	6473.8	0.35	3473.9	44.25
58	0.47	4673.6	0.59	5947.6	43.43
59	0.37	3746.7	0.28	2837.3	44.36
60	0.35	3546.0	0.20	1977.3	52.68

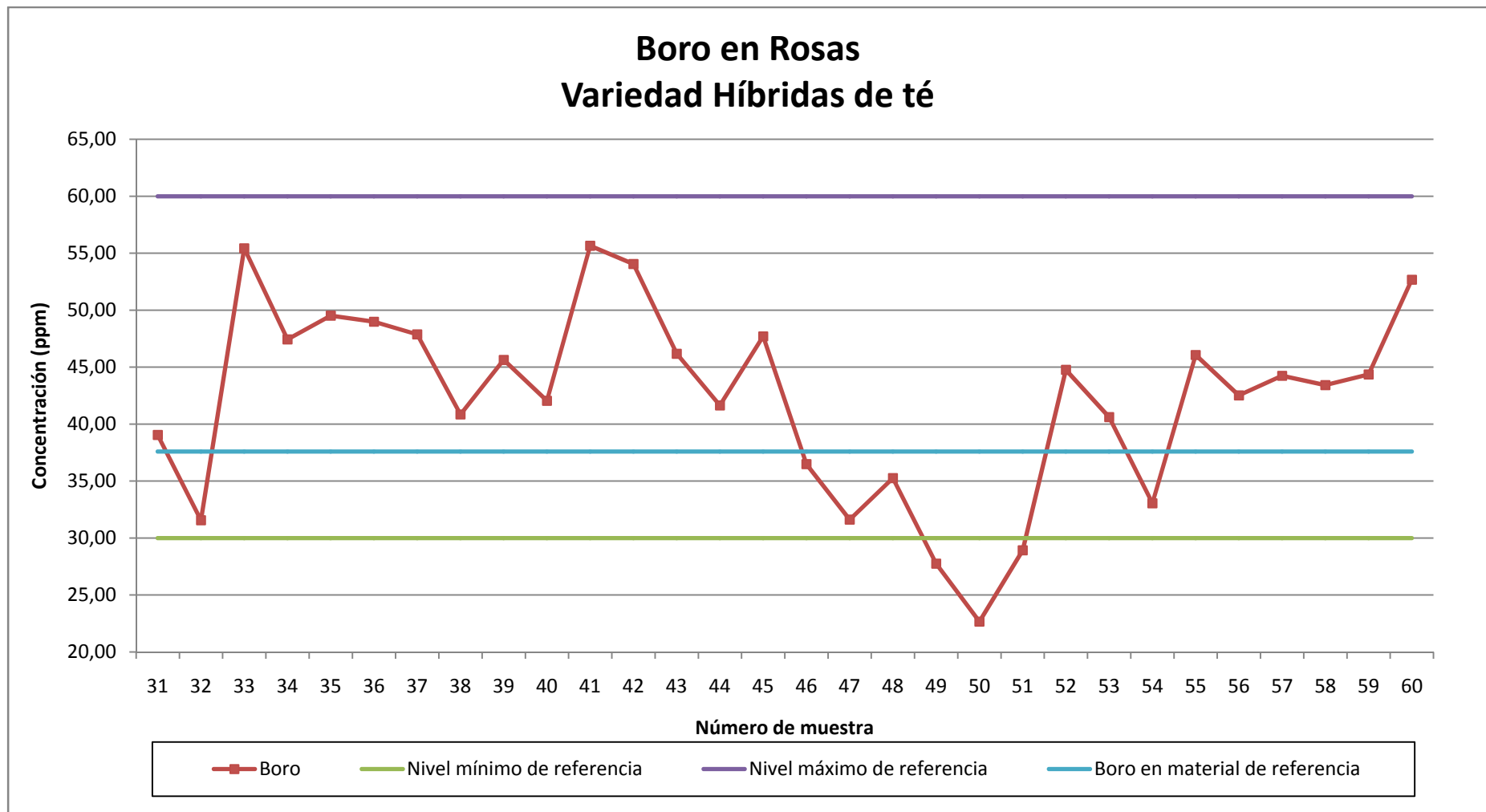
A continuación se presentan el comportamiento de cada analitos en la subparcela perteneciente a las variedad Híbridas de té del cultivo de rosas.



**Figura 4.18** Cuantificación de Fósforo en rosas variedad Híbridas de Té.



**Figura 4.19** Cuantificación de Azufre en rosas variedad Híbridas de Té.



**Figura 4.20** Cuantificación de Boro en rosas variedad Híbridas de Té.

En lo referente a las muestras de rosas variedad Híbridas de Té, los analitos en estudio se encuentran dentro de los niveles de referencia, a excepción de las muestras: de la 45 a la 48 y de la 49 a la 55 que presentan deficiencia de fósforo y boro respectivamente.

Al comparar el contenido de fósforo en las dos variedades de rosas analizadas se observa una gran diferencia, el 50 % de las muestras de la variedad Grandiflora contienen valores menores al 0.3 % m/v, se encuentran bajo el nivel mínimo de referencia, no así en el caso de la variedad Híbridas de Té en las cuales se llegan tan sólo el 10 %.

Con respecto al contenido de azufre la variedad Híbridas de Té, estas presentan un comportamiento regular (dentro de los niveles de referencia), en el caso de la variedad Grandiflora el 16.6 % están fuera de los rangos de referencia.

En el caso del contenido de boro en las rosas analizadas, el 23 % de la variedad Grandiflora presenta valores de boro fuera de los rangos de referencia (bajo el nivel mínimo), en el caso de las Híbridas de Té el 10 % presenta un comportamiento similar.

El bajo contenido de fósforo y de boro en la variedad Grandiflora corresponde a aquellas muestras ubicadas en la primera mitad de la subparcela, por lo tanto se podría pensar que se trata de alguna deficiencia del suelo, sistema de riego o tipo de fertilización. En el caso de la variedad Híbridas de Té esta deficiencia se presenta en un sector muy limitado de la subparcela.

## **CAPÍTULO V**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **5.1 CONCLUSIONES**

1. La técnica de espectroscopía de emisión atómica por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica presenta baja susceptibilidad a las interferencias químicas, debido a las altas temperaturas, y por lo tanto los límites son óptimos para la cuantificación de fósforo, azufre y boro en tejido foliar.
2. La utilización del horno microondas para la digestión de los analitos permite mejorar los tiempos de trabajo.
3. La técnica de espectroscopía de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica permite el análisis simultáneo de los analitos
4. Los porcentajes de recuperación obtenidos, superiores al 90 %, demuestran que las condiciones utilizadas para la digestión de las muestras fueron las adecuadas.
5. La cuantificación de los analitos en los diferentes cultivos y variedades permiten conocer si éstos se encuentran o no en condiciones óptimas para el desarrollo normal de las plantas en lo referente a fósforo, azufre y boro. Sin embargo, en la variedad Dominico se observa una disminución en el contenido de fósforo, en las muestras número 8 a la 13, este descenso se refleja en las

características físicas de las hojas, las mismas que presentaron una coloración verde amarillenta.

6. La pigmentación verde amarillento en los bordes de las hojas de banano, variedad maqueño, se debe a la baja concentración de fósforo (muestras 37 - 40).
7. En lo referente a las muestras colectadas de la variedad Grandiflora del cultivo de rosas de la provincia Cotopaxi, existe en general deficiencia de los analitos en estudio.
8. En las muestras de la 1 a la 15 y de la 21 a la 26, existe una deficiencia de fósforo que se manifiesta por la pigmentación amarillenta, en el caso de rosas variedad Grandiflora, además en las cuatro primeras existe deficiencia de boro, motivo por el cual las hojas colectadas son arrugadas en los bordes y finalmente las bajas concentraciones de azufre en las muestras 21 a la 26 producen una coloración amarillenta en las hojas colectadas.
9. Los analitos fósforo, azufre y boro cuantificados en las rosas variedad Híbridas de Té se encuentra en mejores condiciones, pero todavía existe deficiencia de fósforo (muestras 45 a la 48), responsable de la pigmentación verde amarillenta y de boro (muestras 49 a la 55) razón por la cual las hojas aparecen arrugadas y con una pigmentación verde amarillenta.

10. Los resultados del presente estudio servirán como antecedente en futuras investigaciones en la relación nutrientes-planta-suelo.

## **5.2 RECOMENDACIONES**

1. Cuantificar en diferentes partes de la planta los analitos fósforo, azufre y boro y correlacionar con los datos obtenidos en este estudio con el fin de determinar en qué parte de la planta estos analitos se acumulan en mayor cantidad.
2. Utilizar la vida axial del plasma en la cuantificación de los analitos estudiados en esta investigación con la finalidad de realizar un estudio comparativo.
3. Determinar el contenido de fósforo, azufre y boro, en diferentes etapas de crecimiento de las plantas para analizar si hay concentración de los analitos en otras partes de la planta.
4. Determinar en el suelo los analitos fósforo, azufre y boro para analizar la relación suelo-planta.
5. Determinar el estado nutrimental de la planta, mediante un análisis completo de los nutrientes.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas INIAP. (2000). *Metodologías de Análisis Físico Químico de Suelos. Aguas y Foliaves*. Quito. Ecuador.
- [2] Instituto de Promoción de Exportaciones e Inversiones Proecuador. (2011). *Análisis Sectorial de Banano*. Ecuador.
- [3] Sánchez, J. (2007). Fertilidad del Suelo y Nutrición Mineral de Plantas. <http://www.fertitec.com/PDF/FERTILIDAD%20DEL%20SUELO%20Y%20NUTRICION.pdf> f. 08 de abril del 2012.
- [4] Navarro, G. (2003). *Química Agrícola*. 2ª edición. Editorial Mundi. Madrid. España.
- [5] Fassbender, H. W. (1975). *Química de suelos con énfasis en suelos de América Latina*. Instituto Interamericano de Ciencias Agrícolas de la OEA. Turrialba. Costa Rica.
- [6] Potash & Phosphate Institute. (1997). *Manual Internacional de fertilidad de suelos. en: Micronutriente*. U.S.A.
- [7] Sanzano, A. (2008). Disponibilidad del Fósforo para las Plantas. <http://www.edafo.com.ar/Descargas/Cartillas/Fosforo%20del%20Suelo.pdf>. 08 de abril del 2012.
- [8] International Plant Nutrition Institute (IPNI). (2012). Importancia del Fósforo en el Suelo. [http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/\\$webindex/0D2745E9793640FD062-56AAE00136ECB?opendocument&navigator=home+page](http://www.ipni.net/ppiweb/mexnca.nsf/$webindex/0D2745E9793640FD062-56AAE00136ECB?opendocument&navigator=home+page). 02 de abril del 2012.
- [9] Hernández, R. (2002). Nutrición Mineral de las Plantas. [http://www.forest.ula.ve/rubenhg/nutricionmineral/#nutrición mineral](http://www.forest.ula.ve/rubenhg/nutricionmineral/#nutrición%20mineral). 08 de abril del 2012.
- [10] Benavides, A. (1998). El azufre en las Plantas. [http://www.abenmen.com/a/azufre-en\\_plantas.pdf](http://www.abenmen.com/a/azufre-en_plantas.pdf). 08 de Abril 2012.

- [11] Tecnoagro SRL y Comité de fertilidad y nutrición Vegetal-Asociación Argentina. (2009). *Ciclo del azufre en agroecosistemas y reacción de los fertilizantes azufrados en el suelo*. Argentina.
- [12] Profesor en línea. (2010). Ciclo del Azufre. [http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias-/Ciclo\\_del\\_azufre.htm](http://www.profesorenlinea.cl/Ciencias-/Ciclo_del_azufre.htm). 02 de enero 2011
- [13] Von Suttner, B. (2012). Azufre. [http://www.kali-gmbh.com/eses/fertiliser/advisory-service/nutrients/sulphur.html#](http://www.kali-gmbh.com/eses/fertiliser/advisory-service/nutrients/sulphur.html#.). 20 de Abril de 2012.
- [14] Pombo, R. (1984). Manual de Análisis Instrumental. Instituto Superior de Ciencias Agropecuarias de la Habana. <http://www.monografias.com/trabajos75/espectroscopia-emisionatomica/espectroscopia-emision-atmica2.shtml>. 07 de marzo de 2012.
- [15] Summers, R. (2000). Importancia del Magnesio y del Azufre en una Fertilización Equilibrada. <http://www.traderargentina.com.ar/Papa.pdf>. 10 de Septiembre de 2012.
- [16] Skoog, D., Holler, F., Nieman, T. (2001). *Principios de Análisis Instrumental*. 5ª edición. Mc Graw Hill. España.
- [17] Rouessac, F. (2003). Análisis Químico. Editorial McGraw-Hill. 2ª Edición, England.
- [18] González, C. (2010). Espectroscopia Atómica. [http://ocw.usal.es/cienciasexperimentales/analisis-aplicado-a-la-ingenieriaquimica/contenidos/course-files/Tema\\_6.pdf](http://ocw.usal.es/cienciasexperimentales/analisis-aplicado-a-la-ingenieriaquimica/contenidos/course-files/Tema_6.pdf). 07 de marzo de 2012.
- [19] Rodoreda, M. (2003). Espectroscopía de Emisión de Plasma Acoplada inductivamente. [http://www.xtec.net/gjimene2/licencia/students/bscw.gmd.de\\_bscw\\_bscw.cgi\\_d32817119-3\\_\\_\\_\\_\\_ICP\\_final.html](http://www.xtec.net/gjimene2/licencia/students/bscw.gmd.de_bscw_bscw.cgi_d32817119-3_____ICP_final.html). 10 de Septiembre de 2012.
- [20] Servicio técnico de investigación. (2012). Espectroscopia de Emisión por Plasma de Acoplamiento Inductivo. <http://ssti.ua.es/es/instrumentacion-cientifica/unidad-de->

[análisis/espectroscopia-de-emision-por-plasma-de-acoplamiento-inductivo.html.09](#)  
de septiembre de 2011.

- [21] Boss, C., Fredeen, K. (1997). *Concepts. Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. 2ª edición. Perkin Elmer Corporation. USA.
- [22] Gomis, V. (2008). *Espectroscopia de Emisión y Absorción Atómica* <http://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8252/4/T7Abasorc.pdf>. 10 de Octubre de 2012.
- [23] Boss, C., Fredeen, K. (1997). *Concepts. Instrumentation and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*. segunda edición. USA.
- [24] Flores, J. (2009). *Espectrómetro*. <http://www.acmor.org.mx/cuam/2009/FisicoMate/101-CUM-%20Espectrometro.pdf>. 28 de julio 2012.
- [25] Gonzáles, C. (1998). *Métodos Atómicos de Emisión*. <http://ocw.usal.es/ciencias-experimentales/análisisaplicado-a-la-ingeniería-química/contenidos/course-files/tema-6.pdf>. 6 del agosto de 2011.
- [26] Morales, A. (2011). *Toma de Muestras de Foliare*s, [Http://www.slideshare.net/Marayta/microsoft-word-toma-de-muestra](http://www.slideshare.net/Marayta/microsoft-word-toma-de-muestra), 12 de Noviembre de 2012.
- [27] Legaz, F., Serna, M., y colaboradores. (2012). *Análisis de Hojas, Suelos y Aguas para el Diagnóstico Nutricional de Plantaciones de Cítricos*. [http://infoagro.com/citricos/\\_diagnostico\\_nutricional\\_citricos.htm](http://infoagro.com/citricos/_diagnostico_nutricional_citricos.htm). 02 del Febrero del 2012.
- [28] Calderón, F. (2004). *Metodologías de Análisis Foliar*. [http://www.drcalderon-labs.com/Metodos/Analisis\\_Foliar/Metodos\\_Analisis\\_Foliales.htm](http://www.drcalderon-labs.com/Metodos/Analisis_Foliar/Metodos_Analisis_Foliales.htm). 07 del febrero de 2012.
- [29] Kalra, Y. (1998). *Handbook of Reference Methods for Plant Analysis*, editorial CRC Press, Londres.

- [30] Waterman, R. (1990). *Soil Testing and Plants Analysis (SSSA)*. Tercera edición. USA.
- [31] Soso, A. y Marbán L. (1998). Validación de métodos analíticos, [http://www-suelos.org.ar/adjuntos/validacion\\_metodos\\_analiticos.pdf](http://www-suelos.org.ar/adjuntos/validacion_metodos_analiticos.pdf), 07 de febrero de 2012.
- [32] Metas y metrólogos asociados, (2008). Linealidad, Curvas de ajuste, Interpolación y Extrapolación, <http://www.metas.com.mx/guiametas/la-guia-metas-08-01-linealidad-.pdf>, 07 de Febrero de 2012.
- [33] Boqué, R. (2004). El Límite de Detección de un Método Analítico. <http://argo.urv.es/quimio/general/lod.pdf>. 20 de Enero de 2012.
- [34] Ospina, L. (1995). El método de Análisis para los Estudios de Estabilidad y de Biodisponibilidad de Medicamentos. *Revista Colombiana de Ciencias Químico-Farmacéuticas*. N° 23. pp 16 – 17.
- [35] Harris, D. (2003). *Quantitative Chemical Analysis*. 7ª Edición, USA.

## **ANEXO 1**

Certificado del Standard Reference Material 1570a Spinach Leaves Otorgado por el National Institute of Standards & Technology.

## **ANEXO 2**

SOFTWARE UTILIZADO “WINLAB 32”



## PRODUCT NOTE

### AA and ICP-OES

#### Key Capabilities

- Multiple user levels
- Login/password support provided by Microsoft® Windows®
- Method (and IIC or MSF file in the case of ICP) saved with the data in the results database
- Reprocessing doesn't change stored data
- Master event log records all significant actions performed by each user
- Files and data objects are automatically assigned version numbers and changes between versions are recorded
- Old versions of files or data objects are automatically moved to a history directory

## WinLab32 for AA and ICP – Enhanced Security Option

### Introduction

WinLab32™ for AA and ICP redefined the software standard for high-performance instrumentation for inorganic analysis. Now an Enhanced Security™ version is available which meets the special needs of highly regulated labs such as those that must comply with the U.S. FDA's 21 CFR Part 11 regulations.

### Basic WinLab32

The basic WinLab32 package includes a number of features designed to help today's laboratories cope with regulations mandated by government agencies or quality protocols. Features for this purpose included in this version of WinLab32 include the following:

- WinLab32 leverages the powerful security features of Microsoft® Windows® to provide the protection your laboratory needs. Personnel can be divided into groups with each group assigned a level of permission. The "administrator" group can install and configure the software and perform any WinLab32 task while other groups may be restricted from performing certain tasks. With WinLab32 software you define the groups and permissions assigned to each – passwords control access (Figure 1).

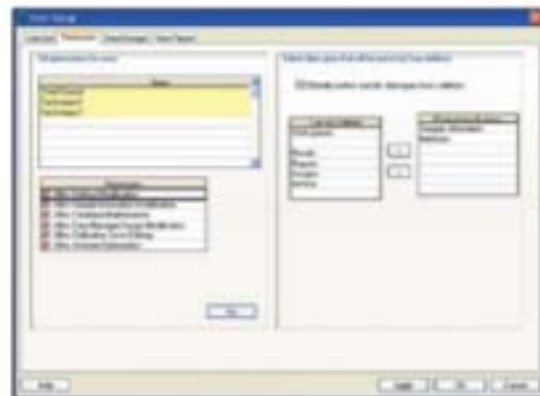


Figure 1. WinLab32 User Setup utility.



### ANEXO 3

#### DATOS DE PRECISI3N Y EXACTITUD PARA F3SFORO

Día	F3sforo												
	Rep.	Nivel Uno 500 ppm				Nivel Dos 1000 ppm				Nivel Tres 1500 ppm			
		Te3rico	Pr3ctico	$\delta$	Recuperaci3n (%)	Te3rico	Pr3ctico	$\delta$	Recuperaci3n (%)	Te3rico	Pr3ctico	$\delta$	Recuperaci3n (%)
Día Uno	1	5680	5676.1			6180	6181.2			6680	6678.9		
	2	5680	5677.1	0.50	99.9	6180	6180.9	0.21	100.02	6680	6679.7	0.42	99.99
	3	5680	5676.5			6180	6181.3			6680	6679.1		
Día Dos	1	5680	5679.1			6180	6171.2			6680	6671.9		
	2	5680	5680.1	0.50	100.0	6180	6170.9	0.15	99.86	6680	6672.2	0.40	99.88
	3	5680	5679.5			6180	6171.1			6680	6671.4		
Día Tres	1	5680	5644.2			6180	6143.2			6680	6652.9		
	2	5680	5644.8	0.46	99.4	6180	6144.2	0.51	99.41	6680	6653.7	0.70	99.60
	3	5680	5643.9			6180	6143.9			6680	6652.3		

Valor te3rico= 0.518 %, 5180 ppm.

$\delta$ = Desviaci3n est3ndar.

## ANEXO 4

### DATOS DE PRECISIÓN Y EXACTITUD PARA AZUFRE

Día	Azufre												
	Rep.	Nivel Uno 400 ppm				Nivel Dos 800 ppm				Nivel Tres 1200 ppm			
		Teórico	Práctico	$\delta$	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	$\delta$	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	$\delta$	Recuperación (%)
Día Uno	1	5000	4995.9			5400	5364.9			5800	5789.2		
	2	5000	4995.2	0.51	99.9	5400	5365.2	0.51	99.36	5800	5788.2	0.50	99.80
	3	5000	4994.9			5400	5365.9			5800	5788.6		
Día Dos	1	5000	4992.6			5400	5355.9			5800	5793.2		
	2	5000	4993.4	0.40	99.9	5400	5356.2	0.46	99.19	5800	5794.2	0.51	99.89
	3	5000	4992.9			5400	5356.8			5800	5793.9		
Día Tres	1	5000	4988.2			5400	5347.9			5800	5789.2		
	2	5000	4988.9	0.56	99.8	5400	5347.3	0.50	99.03	5800	5789.9	0.40	99.82
	3	5000	4989.3			5400	5346.9			5800	5789.2		

Valor teórico= 0.460 %, 4600 ppm.

$\delta$ = Desviación estándar.

## ANEXO 5

### DATOS DE PRECISIÓN Y EXACTITUD PARA BORO

Día	Boro												
	Rep.	Nivel Uno 10 ppm				Nivel Dos 20 ppm				Nivel Tres 30 ppm			
		Teórico	Práctico	$\delta$	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	$\delta$	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	$\delta$	Recuperación (%)
Día Uno	1	47.6	46.2			57.6	56.8			67.6	66.9		
	2	47.6	47.1	0.55	98.4	57.6	56.9	0.61	99.31	67.6	67.2	0.17	99.26
	3	47.6	47.2			57.6	57.9			67.6	67.2		
Día Dos	1	47.6	46.9			57.6	56.9			67.6	66.7		
	2	47.6	47.2	0.30	99.2	57.6	56.4	0.40	98.67	67.6	66.9	0.36	99.11
	3	47.6	47.5			57.6	57.2			67.6	67.4		
Día Tres	1	47.6	46.9			57.6	56.9			67.6	67.1		
	2	47.6	47.2	0.21	99.0	57.6	56.7	0.12	98.55	67.6	66.8	0.57	99.51
	3	47.6	47.3			57.6	56.7			67.6	67.9		

Valor teórico= 37.6 ppm.

$\delta$ = Desviación estándar.