

**PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DEL ECUADOR**

**FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES**

**ESCUELA DE CIENCIAS QUÍMICAS**

**Determinación multielemental de macro y micro nutrientes catiónicos en tejidos  
vegetales de banano, palma y rosas, por espectroscopía 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**

**LUIS HUMBERTO CACUANGO PUMISACHO**

**Quito, 2015**

## **CERTIFICACIÓN**

Certifico que la disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, especialidad Química Analítica, del candidato Sr. Luis Humberto Cacuango Pumisacho, 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 Dios, por haberme permitido llegar hasta aquí y darme salud para lograr mis objetivos, además de su infinita bondad y amor.

A mis padres, quienes con su apoyo, consejos y amor incondicional han sido el pilar fundamental en todo lo que soy. Gracias por nunca dejar de creer en mí y alentarme para la culminación de este proyecto.

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Escuela de Ciencias Químicas de la Pontificia Universidad Católica y a sus docentes, quienes nos brindaron sus conocimientos que nos han permitido desarrollarnos profesionalmente.

Un especial agradecimiento para la Mtr. Yolanda Jibaja, por tomar la dirección de esta tesis y ayudarme a llegar hasta este punto; gracias por sus consejos, motivación y sobre todo por su tiempo para culminar este trabajo.

A la M.Sc. Verónica Carrera y Mtr. Gabriela Cueva, por su ayuda en la revisión y colaboración brindada para la ejecución de este trabajo.

Al Departamento de Manejo de Suelos y Aguas de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP, en especial a la Dra. Soraya Alvarado y al Dr. Fabián Moscoso por guiarme en la realización y desarrollo de este proyecto.

A mis padres, por todo su apoyo y por ser un ejemplo de superación, esfuerzo y trabajo constante. Gracias por darme una carrera para mi futuro.

A mis hermanos, por estar conmigo y apoyarme en los momentos difíciles.

A Alejandra Herrera por nunca perder la fe en mí, gracias por estar a mi lado brindándome tu cariño y por tantas cosas que vivimos.

A mis compañeros y amigos, Rusbel, Daniel y Katty, porque me permitieron ser parte de su equipo de trabajo y me han brindado todo el apoyo para finalizar este proyecto.

## TABLA DE CONTENIDOS

Dedicatoria.....	iii
Agradecimientos.....	iv
Resumen.....	1
Abstract.....	3
Introducción.....	5

### CAPÍTULO I

MARCO TEÓRICO.....	8
1.1 Nutrientes vegetales.....	8
1.1.1 Macro-nutrientes catiónicos.....	8
1.1.2 Micro-nutrientes catiónicos.....	12
1.1.3 Disponibilidad de nutrimentos para las plantas.....	17
1.2 Cultivos en el Ecuador.....	17
1.3 Cultivos de banano.....	17
1.3.1 Áreas bananeras.....	18
1.3.2 Niveles óptimos de nutrientes.....	18
1.4 Cultivos de palma.....	19
1.4.1 Zonas productoras.....	20
1.4.2 Niveles óptimos de nutrientes.....	20
1.5 Cultivos de rosas.....	21
1.5.1 Zonas productoras.....	22

1.5.2	Niveles óptimos de nutrientes.....	23
1.6	Análisis foliar.....	24
1.6.1	Usos .....	25
1.6.2	Métodos de cuantificación de macro y micro-nutrientes.....	27
1.7	Características del método.....	39
1.7.1	Exactitud .....	39
1.7.2	Precisión.....	40
1.7.3	Linealidad .....	41
1.7.4	Límite de detección ( $L_d$ ) .....	42
1.7.5	Límite de cuantificación ( $L_c$ ).....	42
1.8	Análisis estadístico .....	43
1.8.1	Prueba $t$ de student.....	43
1.8.2	Análisis de varianza (Anova).....	44
1.8.3	Hipótesis nula .....	45
1.8.4	Significancia .....	45
1.8.5	Grados de libertad.....	46

## **CAPÍTULO II**

PARTE EXPERIMENTAL.....	47
2.1 Preparación de las muestras.....	47
2.2 Extracción de los analitos .....	48
2.2.1 Materiales.....	48
2.2.2 Equipos .....	49
2.2.3 Reactivos.....	49

2.2.4	Estándares .....	49
2.2.5	Procedimiento .....	49
2.3	Cuantificación de macro y micro-nutrientes catiónicos.....	50
2.3.1	Calibración del equipo .....	50
2.3.2	Linealidad .....	51
2.3.3	Límites de detección y cuantificación.....	52
2.3.4	Precisión.....	52
2.3.5	Exactitud .....	53
2.3.6	Lectura de macro y micro-nutrientes catiónicos en tejidos vegetales .....	54
2.4	Análisis estadístico .....	56
2.4.1	Comparación de métodos.....	56
2.4.2	Análisis funcional .....	57

### **CAPÍTULO III**

RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	58	
3.1	Calibración del equipo .....	58
3.2	Linealidad .....	59
3.3	Límites de detección y cuantificación.....	67
3.4	Precisión y exactitud .....	76
3.5	Cuantificación de macro y micro-nutrientes catiónicos en tejidos vegetales de banano, palma y rosas.....	87

## CAPÍTULO IV

CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES .....	97
4.1 Conclusiones .....	97
4.2 Recomendaciones .....	98
BIBLIOGRAFÍA .....	101
ANEXOS .....	107

## LISTA DE TABLAS

Tabla 1.1 Contenido óptimo de nutrientes en banano .....	19
Tabla 1.2 Contenido óptimo de nutrientes en palma aceitera.....	21
Tabla 1.3 Niveles de referencia de nutrientes en hojas de rosas .....	24
Tabla 1.4 Esquema para el estudio de precisión.....	41
Tabla 1.5 Esquema para el estudio de linealidad.....	42
Tabla 1.6 Análisis de varianza.....	44
Tabla 1.7 Simbología del valor de $F$ calculado .....	46
Tabla 2.1 Concentración de las soluciones estándar para el estudio de linealidad de macro- nutrientes .....	51
Tabla 2.2 Concentración de las soluciones estándar para el estudio de linealidad de micro- nutrientes .....	51
Tabla 2.3 Niveles de fortificación .....	53
Tabla 2.4 Esquema de análisis de varianza para las variables: precisión y exactitud .....	56
Tabla 3.1 Condiciones de operación del equipo de Absorción Atómica AA-680 .....	58
Tabla 3.2 Condiciones de operación del equipo ICP-OES Optima 5300 DV .....	59
Tabla 3.3 Resultados de linealidad de potasio.....	60
Tabla 3.4 Resultados de linealidad de calcio.....	61
Tabla 3.5 Resultados de linealidad de magnesio.....	62
Tabla 3.6 Resultados de linealidad de zinc.....	63
Tabla 3.7 Resultados de linealidad de cobre .....	64
Tabla 3.8 Resultados de linealidad de hierro.....	65

Tabla 3.9 Resultados de linealidad de manganeso .....	66
Tabla 3.10 Determinación del límite de detección y cuantificación de potasio .....	67
Tabla 3.11 Prueba t-Student en potasio .....	68
Tabla 3.12 Determinación del límite de detección y cuantificación de calcio .....	68
Tabla 3.13 Prueba t-Student en calcio .....	69
Tabla 3.14 Determinación del límite de detección y cuantificación de magnesio .....	70
Tabla 3.15 Prueba t-Student en magnesio .....	70
Tabla 3.16 Determinación del límite de detección y cuantificación de zinc .....	71
Tabla 3.17 Prueba t-Student en zinc .....	71
Tabla 3.18 Determinación del límite de detección y cuantificación de cobre.....	72
Tabla 3.19 Prueba t-Student en cobre.....	73
Tabla 3.20 Determinación del límite de detección y cuantificación de hierro .....	73
Tabla 3.21 Prueba t-Student en hierro .....	74
Tabla 3.22 Determinación del límite de detección y cuantificación de manganeso.....	75
Tabla 3.23 Prueba t-Student en manganeso.....	75
Tabla 3.24 Precisión y exactitud de potasio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.....	76
Tabla 3.25 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de potasio.....	77
Tabla 3.26 Precisión y exactitud de calcio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.....	78
Tabla 3.27 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de calcio.....	78
Tabla 3.28 Precisión y exactitud de magnesio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES .....	79
Tabla 3.29 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de magnesio .....	80
Tabla 3.30 Precisión y exactitud de zinc en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.....	81
Tabla 3.31 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de zinc.....	81
Tabla 3.32 Precisión y exactitud de cobre en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.....	82

Tabla 3.33 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de cobre .....	83
Tabla 3.34 Precisión y exactitud de hierro en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.....	84
Tabla 3.35 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de hierro.....	84
Tabla 3.36 Precisión y exactitud de manganeso en tejidos vegetales por AA e ICP-OES .....	85
Tabla 3.37 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de manganeso .....	86
Tabla 3.38 Estudio de exactitud en el Material de Referencia Certificado (MRC).....	87
Tabla 3.39 Análisis de la concentración de potasio.....	88
Tabla 3.40 Análisis de la concentración de calcio.....	90
Tabla 3.41 Análisis de la concentración de magnesio.....	91
Tabla 3.42 Análisis de la concentración de zinc .....	92
Tabla 3.43 Análisis de la concentración de cobre .....	93
Tabla 3.44 Análisis de la concentración de hierro.....	95
Tabla 3.45 Análisis de la concentración de manganeso .....	96

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1 Síntomas de deficiencia de potasio .....	9
Figura 1.2 Síntomas de deficiencia de calcio .....	10
Figura 1.3 Síntomas de deficiencia de magnesio .....	12
Figura 1.4 Síntomas de deficiencia de hierro .....	13
Figura 1.5 Síntomas de deficiencia de manganeso.....	14
Figura 1.6 Síntomas de deficiencia de cobre.....	15
Figura 1.7 Síntomas de deficiencia de zinc .....	16
Figura 1.8 Crecimiento de las exportaciones de flores naturales .....	22
Figura 1.9 Ubicación de las principales zonas de producción florícola en el Ecuador .....	23
Figura 1.10 Representación esquemática de las relaciones entre el rendimiento relativo y la concentración foliar de nutrientes.....	26
Figura 1.11 Combinación del ICP radial y axial .....	29
Figura 1.12 Principales componentes y el mecanismo de un instrumento de ICP-OES .....	30
Figura 1.13 Esquema de un fototubo multiplicador .....	32
Figura 1.14 Esquema del equipo de Absorción Atómica .....	34
Figura 3.1 Curvas de calibración de potasio por AA e ICP-OES.....	60
Figura 3.2 Curva de calibración de calcio por AA e ICP-OES .....	61
Figura 3.3 Curva de calibración de magnesio por AA e ICP-OES .....	62
Figura 3.4 Curva de calibración de zinc por AA e ICP-OES .....	63
Figura 3.5 Curva de calibración de cobre por AA e ICP-OES.....	64
Figura 3.6 Curva de calibración de hierro por AA e ICP-OES .....	65

Figura 3.7 Curva de calibración de manganeso por AA e ICP-OES.....	66
Figura 3.8 Potasio en muestras de tejido vegetal .....	88
Figura 3.9 Calcio en muestras de tejido vegetal.....	89
Figura 3.10 Magnesio en muestras de tejido vegetal.....	90
Figura 3.11 Zinc en muestras de tejido vegetal .....	92
Figura 3.12 Cobre en muestras de tejido vegetal .....	93
Figura 3.13 Hierro en muestras de tejido vegetal.....	94
Figura 3.14 Manganeso en muestras de tejido vegetal.....	95

## LISTA DE ANEXOS

ANEXO 1 Certificado del Material de Referencia Certificado procedente del “National Institute of Standards and Technology” (NIST): Standard Reference Material 1515, Apple Leaves.....	108
ANEXO 2 Espectrofotómetro de Absorción Atómica, marca shimadzu, modelo AA-680....	109
ANEXO 3 Espectrofotómetro de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica ICP-OES, marca Perkin Elmer, modelo Optima 5300 DV.....	110
ANEXO 4 Datos de precisión y exactitud de potasio, calcio, magnesio, zinc, cobre, hierro y manganeso, por AA e ICP-OES .....	111

## RESUMEN

En el presente estudio se determinó la concentración de macro y micro-nutrientes catiónicos: K, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe y Mn, en muestras de tejido vegetal de banano, palma y rosas, por espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES).

La parte experimental de esta investigación se desarrolló en los laboratorios del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) de la Estación Experimental Santa Catalina del INIAP, los cuales utilizan la técnica de Absorción Atómica para el análisis de elementos en muestras foliares; dicha técnica presenta limitaciones en cuanto a límites de detección, efectos de matriz, rango lineal y número de elementos que pueden ser analizados en forma simultánea.

En cambio, la espectroscopia de emisión con plasma acoplado inductivamente, ha llegado a estar a la vanguardia como herramienta analítica para la determinación multielemental en tejidos foliares. El sistema de emisión con plasma es mucho más adaptable a los cambios de matriz y al tipo de muestra, el rango lineal que se alcanza permite llevar a cabo análisis a bajas y altas concentraciones, además presenta la posibilidad de efectuar análisis multielementales rápidos, características que han permitido el empleo exitoso de la técnica de emisión con plasma en el análisis foliar.

Por esta razón se optimizó la técnica de espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica, ICP-OES, para el análisis de macro y micro-nutrientes

cati6nicos en muestras de tejido vegetal, ya que con el uso de este equipo se mejorar6 la eficiencia y el incremento de la capacidad operativa del laboratorio.

Los an6lisis se realizaron con muestras de tejidos vegetales de banano, palma y rosas, las cuales son utilizadas por el DMSA como material de referencia interno en los an6lisis de rutina de muestras vegetales; se utiliz6 como Material de Referencia Certificado el Standard Reference Material 1515, Apple Leaves. Las muestras y el MRC fueron sometidas a digesti6n h6meda para luego proceder a cuantificar los analitos en estudio por medio de las t6cnicas de AA e ICP para realizar un estudio comparativo de las variables: exactitud, precisi6n, linealidad, l6mites de detecci6n y cuantificaci6n para determinar si existen o no diferencias significativas entre las t6cnicas.

## **ABSTRACT**

This study is focus on determine the concentration of macro and micro cationic nutrients: K, Ca, Mg, Zn, Cu, Fe and Mn in plant tissue samples banana, palm, roses, by emission spectroscopy by plasma inductive coupling and optical detection (ICP-OES).

The experimental part of this research was developed in the laboratories of the Department of Soil and Water Management (DMSA) in the Santa Catalina Experimental Station of INIAP, which use atomic absorption technique for the analysis of elements in leaf samples; this technique has limitations in terms of limits of detection, matrix effects, linear range, and number of elements that can be analyzed simultaneously.

However, emission spectroscopy with inductively coupled plasma, has come to be at the forefront as an analytical tool for multielement determination in leaf tissues. The plasma emission system is more adaptable to changes in matrix and sample type, the linear range that is reached allows to perform analysis at low and high concentrations, also it presents the possibility of rapid multielement analysis. This characteristic has enabled the successful technique plasma emission in use for foliar analysis.

For this reason the technique emission spectroscopy is optimized by coupling inductive plasma and optical detection, ICP-OES, for analysis of macro and micro cationic nutrients in samples of plant tissue, since the use of this equipment will improve efficiency and increase the operational capacity of the laboratory.

Analyses were carried out on samples of plant tissues of banana, palm and roses, which are used by the DMSA as internal reference material in routine analysis of plant samples; It was used as a Certified Reference Material Standard Reference Material 1515, Apple Leaves. Samples and MRC were subjected to wet digestion and then proceeded to quantify the analytes under study through the techniques of AA and ICP for a comparative study of the variables: accuracy, precision, linearity, limits of detection and quantification to determine whether there are significant differences between the techniques.

## INTRODUCCIÓN

El Ecuador es un país eminentemente agrícola, el sector agropecuario es uno de los motores de la economía ecuatoriana con un enorme impacto en el ámbito social. No obstante, el desarrollo de este sector requiere, entre otros, de un manejo adecuado de la nutrición de los cultivos. Una de las herramientas de diagnóstico del estado nutricional de los cultivos es el análisis de tejido vegetal, la cual es sumamente eficiente para evaluar el contenido de nutrientes en la planta, y es un valor que resulta de la interacción entre el cultivo, el ambiente y el manejo que reciben la planta y el suelo [1].

El análisis de tejido vegetal se refiere al análisis químico cuantitativo de los nutrientes esenciales en los tejidos de la planta. Por varios años, este tipo de análisis fue recomendable para determinar el estado nutricional de los cultivos arbustivos, debido a su naturaleza perenne y al extenso sistema radicular; sin embargo, el análisis de tejido vegetal ha adquirido mayor importancia a medida que se ha desarrollado el conocimiento acerca de la nutrición de las plantas, de los requerimientos de nutrientes durante todo el ciclo del cultivo, y la posibilidad de aplicar nutrientes mediante los sistemas de riego [2].

En la actualidad, el análisis de tejido vegetal es un complemento al análisis de suelos y se realiza para conocer la concentración y la cantidad de nutriente que es absorbido por un cultivo para producir un rendimiento dado en un tiempo definido [3].

Específicamente, los resultados del análisis de tejido vegetal son utilizados para confirmar el diagnóstico de síntomas visuales de deficiencia en el campo, identificar problemas de deficiencia escondida cuando no se observa sintomatología aparente en la planta, localizar las áreas en los lotes de producción donde ocurren deficiencias de uno o más nutrientes, determinar si los nutrientes aplicados han ingresado en la planta, conocer las interacciones entre varios nutrientes, estudiar las funciones internas de los nutrientes en la planta y sugerir análisis y estudios adicionales para identificar problemas particulares en la producción de un cultivo [4].

La parte foliar de las plantas es la más utilizada para realizar el análisis de tejido vegetal ya que es el órgano principal donde se elaboran las sustancias nutritivas y refleja el estado nutricional de la planta [5]. Además, varias investigaciones han documentado una alta correlación entre el contenido de nutrientes a nivel foliar y el desarrollo y producción del cultivo [6].

El análisis de tejido vegetal es capaz de determinar si el nivel de fertilidad del suelo y la aplicación de fertilizantes son suficientes para suplir los requerimientos de un cultivo. Por lo que el desarrollo de técnicas analíticas más rápidas y precisas en esta área aporta directamente a la implementación de un manejo sustentable de la nutrición de los cultivos.

Desde hace muchas décadas se ha venido utilizando la técnica de Absorción Atómica de llama para la determinación de elementos en muestras foliares, esta técnica es afectada en distintos grados por el tipo de matriz y el rango de concentración de cada elemento por analizar. Adicionalmente, los digeridos de las muestras usualmente requieren una manipulación

considerable para llevar la concentración elemental dentro del rango analítico adecuado para el instrumento. Todo esto hace que sea una técnica lenta y problemática comparada con técnicas instrumentales de tipo multi-elemental como la espectroscopia de emisión de plasma inductivamente acoplado [7].

La espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma se ha vuelto una técnica ampliamente utilizada para el análisis de soluciones, incluyendo los digestados de tejidos vegetales, está relativamente libre de los efectos de matriz y tiene una excelente sensibilidad en concentraciones muy bajas (partes por billón) con un rango de concentración utilizable de cuatro a cinco cifras [8].

Otra de las ventajas que presenta la espectroscopia de emisión acoplada inductivamente a plasma, ICP-OES, se debe a las altas temperaturas que alcanza el equipo, alrededor de 10000 K, a esa temperatura se reducen o eliminan muchas interferencias químicas que se pueden presentar en Absorción Atómica. Estas temperaturas permiten mejorar la eficiencia de la excitación e ionización de las partículas, lo que ayuda a reducir los límites de detección [9].

# **CAPÍTULO I**

## **MARCO TEÓRICO**

### **1.1 NUTRIENTES VEGETALES**

Las plantas necesitan una serie de elementos químicos que son esenciales para vivir y desarrollarse. Dichos elementos se obtienen de dos medios distintos: el aire y el suelo; por ello, el término nutriente vegetal se aplica específicamente a los elementos esenciales que la planta obtiene del suelo a través del agua absorbida por las raíces.

#### **1.1.1 MACRO-NUTRIENTES CATIONICOS**

Los nutrientes esenciales para la planta se agrupan en dos categorías: macro y micro-nutrientes. Los macro-nutrientes son aquellos que las plantas necesitan en mayor proporción, ya que constituyen los elementos químicos más abundantes de su composición orgánica, como el potasio, calcio y magnesio [10].

##### **1.1.1.1 POTASIO**

El potasio es el tercero de los tres nutrientes primarios requeridos por las plantas, junto al nitrógeno y el fósforo, es un elemento esencial que se encuentra implicado en el mantenimiento del estado del agua de la planta y la presión de turgencia de sus células, la

apertura y el cierre de sus estomas. Además, es necesario en la acumulación y translocación de los carbohidratos recién formados. El potasio se encuentra alrededor del 1 al 5% de la materia seca del tejido foliar, con valores de suficiencia del 1,5 al 3,0% en los tejidos de las hojas recién maduras. Las concentraciones más altas se encuentran en las hojas nuevas, en sus pecíolos y en los tallos de las plantas. La mayoría de las plantas absorben más potasio de lo que necesitan, este exceso se denomina como el “*consumo de lujo*” [11].

En la Figura 1.1 se puede observar los síntomas de deficiencia de potasio en los cultivos de banano y palma.



**Figura I.1 Síntomas de deficiencia de potasio**

#### 1.1.1.2 CALCIO

El calcio es un elemento vital en la nutrición de las plantas. Desempeña un papel importante en el mantenimiento de la integridad celular y la permeabilidad de la membrana. Mejora la germinación y crecimiento del polen y activa numerosas enzimas para la mitosis, división y

elongación de las células. Puede ser importante para la síntesis de proteínas y la transferencia de los carbohidratos, y su presencia puede servir para desintoxicar la planta de metales pesados.

El contenido de calcio en las plantas oscila entre 0,2 a 3,0% del peso seco en el tejido de las hojas, con valores de suficiencia de 0,3 a 1,0% en el tejido foliar de la mayoría de los cultivos. Las concentraciones más altas se encuentran en las hojas más viejas. Se ha sugerido que el contenido de calcio total no se refiere a la suficiencia de manera efectiva, ya que el calcio se acumula en algunas plantas en forma de cristales de oxalato de calcio. Por lo tanto, el calcio extraíble puede ser un mejor indicador de suficiencia [12].

En la Figura 1.2 se puede observar los síntomas de deficiencia de calcio en los cultivos de banano y rosas.



**Figura I.2 Síntomas de deficiencia de calcio**

### 1.1.1.3 MAGNESIO

El magnesio es un nutriente esencial de los vegetales, el cual es un componente de la molécula de clorofila. Este elemento sirve como un cofactor en la mayoría de las enzimas que activan los procesos de fosforilación, actúa como un puente entre las estructuras de pirofosfato de ATP o ADP y la molécula de la enzima, y estabiliza las partículas de los ribosomas en la configuración de la síntesis de proteínas [13].

El contenido de magnesio en la planta se encuentra entre 0,15 a 1,00% del peso seco en el tejido foliar, con valores de suficiencia de 0,25% en la mayoría de los cultivos. Los valores críticos para el magnesio pueden variar entre las diferentes especies de cultivos, siendo los más bajos para los cultivos de cereales y los más altos para leguminosas y algunas hortalizas y frutas. Las concentraciones más altas se encuentran en las hojas más viejas. El contenido de magnesio en la cosecha de los cultivos será considerablemente menor para los cereales y algunos cultivos frutales, cuando sólo se remueve el grano o la fruta, dejando la mayor parte del magnesio en la planta [11].

En la Figura 1.3 se puede observar los síntomas de deficiencia de magnesio en los cultivos de palma y rosas.



**Figura I.3 Síntomas de deficiencia de magnesio**

### 1.1.2 MICRO-NUTRIENTES CATIONICOS

Los micro-nutrientes u oligoelementos, en cambio, son necesarios en muy pequeñas cantidades y, por ello, su presencia en las plantas es más reducida que en el caso de los macronutrientes; sin embargo, tanto unos como otros son esenciales para el buen desarrollo de los vegetales. Estos micro-nutrientes desempeñan un papel fundamental para determinadas reacciones bioquímicas [14]. Los micro-nutrientes vegetales más importantes son el hierro, cobre, zinc y manganeso.

#### 1.1.2.1 HIERRO

El hierro es un componente importante en muchos sistemas de enzimas vegetales, tales como la citocromo oxidasa (transporte de electrones) y el citocromo (etapa terminal de la respiración). El hierro es un componente de las proteínas ferredoxinas y es necesario para la reducción de nitratos y sulfatos, la asimilación de nitrógeno y la producción de energía.

Funciona como un catalizador o parte de un sistema enzimático asociado a la formación de clorofila. Se cree que el hierro está involucrado en la síntesis de proteínas y el crecimiento del meristema de la raíz [15].

El contenido de hierro en las hojas está entre 10 a 1000 ppm de materia seca, con rangos de suficiencia que van desde 50 a 75 ppm, a pesar de que el hierro total no se relaciona con la suficiencia. La mayoría de hierro en la planta está en la forma férrica ( $\text{Fe}^{+3}$ ) como fosfoproteína, aunque el ion ferroso ( $\text{Fe}^{+2}$ ) se cree que es la forma metabólicamente activada.

En la Figura 1.4 se puede observar los síntomas de deficiencia de hierro en los cultivos de banano y rosas.



**Figura I.4 Síntomas de deficiencia de hierro**

### 1.1.2.2 MANGANESO

El manganeso es un importante micro-nutriente para las plantas y después del hierro es el que las plantas requieren en mayor cantidad, su deficiencia o su toxicidad pueden representar un limitante para el desarrollo de las plantas. Está involucrado en los procesos de oxidación-reducción en el sistema de transporte de electrones fotosintéticos. Es esencial en el fotosistema II para la fotólisis, actúa como un puente para el ATP y el complejo enzimático, este es el caso de las fosfoquinasas y fosfotransferasas; además activa el ácido indol acético oxidasa [16].

El rango de suficiencia de manganeso en el tejido foliar está entre 10 a 50 ppm de materia seca en las hojas maduras. Los niveles en el tejido pueden llegar a 200 ppm o más antes de desarrollar síntomas de toxicidad severa.

En la Figura 1.5 se puede observar los síntomas de deficiencia de manganeso en los cultivos de banano y rosas.



**Figura I.5 Síntomas de deficiencia de manganeso**

### 1.1.2.3 COBRE

El cobre es un micro-nutriente esencial, es un componente de la proteína plastocianina cloroplasto además de servir como parte del sistema de transporte de electrones que une el fotosistema I y II. Este elemento participa en el metabolismo de las proteínas y los carbohidratos y la fijación de nitrógeno. Es una parte de las enzimas que reducen los átomos de oxígeno molecular. Además, está involucrado en la desaturación y la hidroxilación de los ácidos grasos [17].

El rango de suficiencia de cobre en las hojas está entre 3 a 7 ppm de materia seca, mientras que el rango de toxicidad comienza a los 20 a 30 ppm. Valores mucho más altos, 20 a 200 ppm, pueden ser tolerados si el cobre se ha aplicado como fungicida.

En la Figura 1.6 se puede observar los síntomas de deficiencia de cobre en los cultivos de palma y rosas.



**Figura I.6 Síntomas de deficiencia de cobre**

#### 1.1.2.4 ZINC

El zinc es un micro-nutriente esencial que interviene en las mismas funciones enzimáticas como el manganeso y el magnesio. Sólo la anhidrasa carbónica es activada específicamente por el zinc.

El rango de suficiencia de zinc en las hojas maduras es de 15 a 50 ppm de materia seca, mientras que con algunas especies, la deficiencia no se producirá hasta que el contenido de zinc sea tan bajo como 12 ppm. Algunas plantas pueden acumular cantidades considerables de zinc, sin daño a la planta [11].

En la Figura 1.7 se puede observar los síntomas de deficiencia de zinc en los cultivos de banano y rosas.



**Figura I.7 Síntomas de deficiencia de zinc**

### 1.1.3 DISPONIBILIDAD DE NUTRIMENTOS PARA LAS PLANTAS

La fracción de un elemento en el suelo que es accesible a las raíces de las plantas, hace referencia al término “disponibilidad” de ese elemento.

Dentro del concepto de disponibilidad se encuentran involucrados los factores físico-químicos del suelo que afectan la habilidad para suministrar los nutrientes a la planta y por los factores que afectan a ésta para tomar y utilizar estos nutrientes [18].

## 1.2 CULTIVOS EN EL ECUADOR

Las características geográficas del Ecuador le permiten generar variedad de productos, tanto para el consumo interno como para la exportación. En los últimos años se han producido cambios fundamentales con la introducción de productos no tradicionales como la palma africana y las flores.

A nivel nacional, los principales y más rentables cultivos son: el banano, el café, el cacao, el maíz, la papa y el arroz, además de la actividad florícola. La superficie agrícola abarca aproximadamente el 14% del total de la superficie del país [19].

## 1.3 CULTIVOS DE BANANO

El banano es una planta herbácea gigante originaria del sur de Asia, pertenece al género *Musa*, familia de las Musáceas, posee algunas especies como *Musa sapientum*, *Musa paradisiaca*,

*Musa textiles*, *Musa ornamental*, de las cuales las dos primeras son las más cultivadas en nuestro medio [20].

A partir de 1940, comenzó a cultivarse a gran escala en nuestro país y con el tiempo su exportación se convirtió en la principal fuente generadora de divisas para el estado ecuatoriano. En la década de los años 50 se dio el “boom” bananero convirtiéndose el Ecuador en el primer exportador mundial de la fruta, reemplazó a los países productores de Centro América y El Caribe que estaban siendo azotados por plagas y huracanes. Los productores centroamericanos gozan de una ventaja geográfica con respecto al Ecuador porque están más cerca de los países consumidores como Estados Unidos y Europa [21].

### 1.3.1 ÁREAS BANANERAS

Las excelentes condiciones de orden climático y ecológico que tiene nuestro país, han permitido que pequeños, medianos y grandes productores desarrollen su actividad económica mediante el cultivo de banano en diez provincias del país: El Oro, Guayas, Los Ríos, Cotopaxi, Esmeraldas, Cañar, Santo Domingo de los Tsáchilas, Azuay, Bolívar y Manabí, que aseguran la posibilidad de abastecer la demanda mundial los 365 días del año [22].

### 1.3.2 NIVELES ÓPTIMOS DE NUTRIENTES

En la Tabla 1.1 se presentan los contenidos óptimos de nutrientes en los cultivos de banano.

**Tabla I.1 Contenido óptimo de nutrientes en banano [23]**

<b>Macroelementos</b>	<b>Niveles deseables (%)</b>
Nitrógeno	2,50 - 4,00
Fósforo	0,20 - 0,40
Potasio	3,00 - 5,00
Calcio	0,50 - 1,00
Magnesio	0,25 - 0,80
<b>Microelementos</b>	<b>Niveles deseables (ppm)</b>
Cobre	6 - 25
Hierro	75 - 300
Manganeso	100 - 1000
Zinc	20 - 200
Boro	11- 50

#### **1.4 CULTIVOS DE PALMA**

La palma de aceite es una planta tropical propia de climas cálidos que crece en tierras por debajo de los 500 metros sobre el nivel del mar. Su origen se ubica en el golfo de Guinea en África occidental. De ahí su nombre científico, *Elaeis guineensis Jacq.*, y su denominación popular: palma africana de aceite.

El origen de las plantaciones de palma africana en el Ecuador se remonta a 1953-1954 en Santo Domingo de los Colorados, provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas y en Quinindé, provincia de Esmeraldas, donde se establecen cultivos a pequeña escala [24]. Su expansión comercial se inició en 1965 con el apoyo del Estado ecuatoriano, a través del Banco

Nacional de Fomento y el Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP) [25].

La labor efectuada por los productores y las asociaciones de palmicultores ha permitido ubicar a la palma como uno de los cultivos más prometedores de la Costa; cada vez se incorporan nuevas plantaciones de alta productividad que permiten al Ecuador exportar aceite de palma a Colombia, Chile, México y Panamá. Después de Colombia, Ecuador es el segundo productor de aceite de palma africana en América [26].

#### 1.4.1 ZONAS PRODUCTORAS

En la actualidad, las principales plantaciones están ubicadas principalmente desde el norte de la provincia de Esmeraldas en San Lorenzo, Quinindé, Viche, La Unión, Las Golondrinas, Monterrey, La Concordia; en Santo Domingo de los Tsáchilas; en Quevedo, La Manga del Cura; en Machala, El Oro y en la Amazonía en Sucumbios y Orellana. [27].

#### 1.4.2 NIVELES ÓPTIMOS DE NUTRIENTES

Los niveles óptimos de diferentes elementos en las hojas expresados en porcentaje de materia seca se resumen en la Tabla 1.2; por debajo de estos porcentajes se considera deficiencia.

**Tabla I.2 Contenido óptimo de nutrientes en palma aceitera [28]**

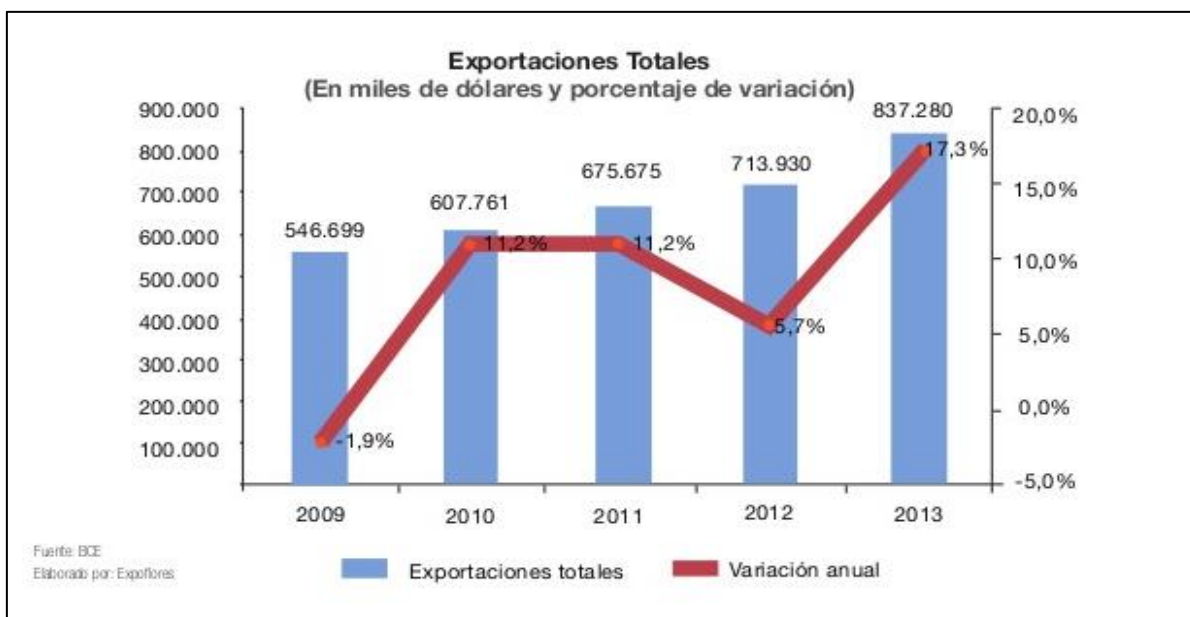
<b>Macroelementos</b>	<b>Niveles deseables (%)</b>
Nitrógeno	2,40 - 2,80
Fósforo	0,15 - 0,19
Potasio	0,90 - 1,20
Calcio	0,50 - 0,75
Magnesio	0,25 - 0,40
<b>Microelementos</b>	<b>Niveles deseables (ppm)</b>
Cobre	5 - 8
Hierro	80 - 200
Manganeso	100 - 200
Zinc	15 - 50
Boro	25 - 30

## **1.5 CULTIVOS DE ROSAS**

Las flores más vendidas en el mundo son las rosas, seguidas por los crisantemos, tulípanes, claveles y lirios. Ninguna flor ornamental ha sido y es tan estimada como la rosa. A partir de la década de los 90 su liderazgo se ha consolidado debido principalmente a una mejora de las variedades, ampliación de la oferta durante todo el año y a su creciente demanda; sus principales mercados de consumo son Alemania, Estados Unidos y Japón.

Las exportaciones siempre han mantenido su tendencia creciente a lo largo de todos los años; los datos del Banco Central del Ecuador (BCE) que se representan en la Figura 1.8 pueden

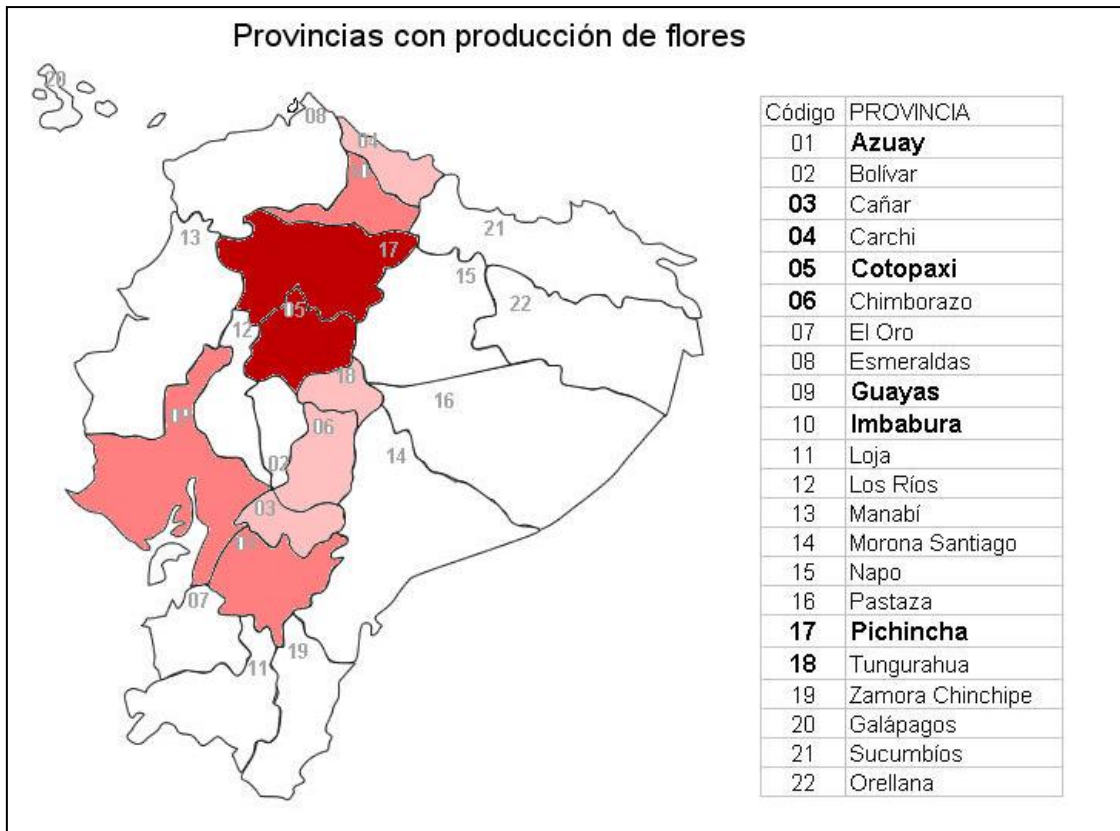
afirmar que en el año 2013 el Ecuador registró un ingreso de USD 338 millones por concepto de exportación de flores a EEUU.



**Figura I.8 Crecimiento de las exportaciones de flores naturales**  
**Fuente: Banco Central del Ecuador [29]**

### 1.5.1 ZONAS PRODUCTORAS

En el siguiente gráfico se representan las principales zonas de producción de flores en el Ecuador, las cuales se encuentran en las provincias de Pichincha y Cotopaxi (en color oscuro en el gráfico); le siguen en importancia las provincias de Azuay, Imbabura y Guayas; finalmente en el grupo de provincias con alguna producción de flores se incluyen entre otras las provincias de Tungurahua, Carchi, Cañar y Chimborazo [30].



**Figura I.9 Ubicación de las principales zonas de producción florícola en el Ecuador [31]**

### 1.5.2 NIVELES ÓPTIMOS DE NUTRIENTES

En la Tabla 1.3 se presentan los contenidos óptimos de nutrientes en los cultivos de rosas. Se toman como referencia los de la primera hoja totalmente madura debajo de la flor [32].

**Tabla I.3 Niveles de referencia de nutrientes en hojas de rosas [32]**

<b>Macroelementos</b>	<b>Niveles deseables (%)</b>
Nitrógeno	3,00 - 4,00
Fósforo	0,20 - 0,30
Potasio	1,80 - 3,00
Calcio	1,00 - 1,50
Magnesio	0,25 - 0,35
<b>Microelementos</b>	<b>Niveles deseables (ppm)</b>
Zinc	15 - 50
Manganeso	30 - 250
Hierro	50 - 150
Cobre	5 - 15
Boro	30 - 60

## **1.6 ANÁLISIS FOLIAR**

El análisis de tejido vegetal, usualmente conocido como análisis foliar o diagnóstico foliar, es la técnica analítica mediante la cual se mide el contenido total de nutrientes en los tejidos vegetales, habitualmente las hojas; es útil para evaluar el estado nutricional de los cultivos e indirectamente la fertilidad del suelo, ayuda a establecer si el grado de absorción de algún nutriente ha sido adecuado, pues asume que el órgano muestreado es el que mejor refleja el estado nutricional de la planta y que existe una relación estrecha y directa entre la disponibilidad de nutrientes, la concentración de nutrientes en hojas y el rendimiento.

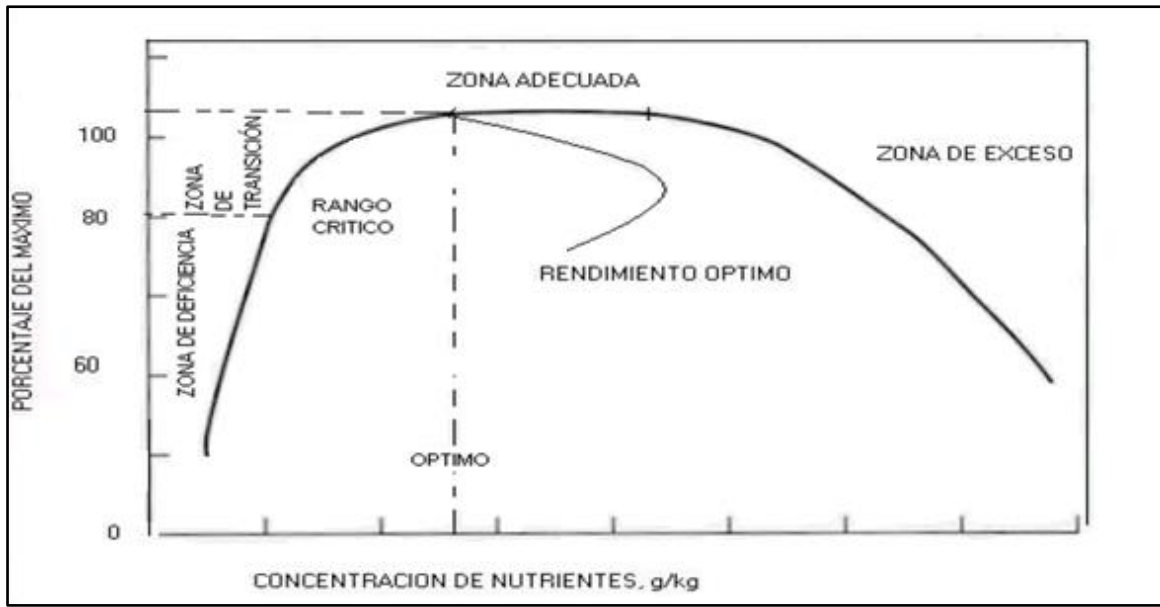
El análisis foliar permite una mayor precisión en el programa de fertilización, confirma el origen de síntomas visibles o prevé la detección de condiciones no sintomáticas en la planta, permite comprobar el origen de anomalías causadas por deficiencias nutricionales o por exceso de fertilización o contaminación [33].

Se emplea también para verificar la ausencia de elementos potencialmente tóxicos para el crecimiento de las plantas o animales y evitar su ingreso en la cadena alimenticia.

Para saber si la planta ha recibido una nutrición adecuada, se comparan los niveles presentes en el tejido foliar con los rangos de suficiencia publicados para esa especie.

#### 1.6.1 USOS

La interpretación del análisis foliar se basa en el establecimiento de rangos de suficiencia, como se muestra en la Figura 1.10.



**Figura I.10 Representación esquemática de las relaciones entre el rendimiento relativo y la concentración foliar de nutrientes [34]**

La zona adecuada o rango normal es aquella en que la concentración de nutrientes es apropiada para su crecimiento, y por debajo de la cual dicha concentración resulta inadecuada. El límite inferior se conoce como zona de deficiencia o rango crítico de deficiencia. El límite superior al rango adecuado es la zona de exceso o nivel de toxicidad, en el cual las plantas pueden disminuir su crecimiento por una concentración de toxicidad del elemento. El grado en el cual un nutriente se encuentra por encima o por debajo del rango aceptable determina la severidad de los síntomas de deficiencia o toxicidad.

## 1.6.2 MÉTODOS DE CUANTIFICACIÓN DE MACRO Y MICRO-NUTRIENTES

### 1.6.2.1 ESPECTROMETRÍA DE EMISIÓN ATÓMICA

En esta técnica la muestra se vaporiza y se excita hasta el punto de emisión de luz. Esto puede lograrse por medio de un arco eléctrico o una chispa, un plasma de descarga luminiscente de argón, un plasma de argón con acoplamiento de inducción o un láser. Una vez seleccionada la fuente, el espectro de emisión se enfoca sobre la rendija de entrada del espectrofotómetro. La luz originada por el material vaporizado y excitado se dispersa en las partes componentes en el espectrómetro. Un sistema óptico de espejos descentrados permite seleccionar una zona de la descarga de la fuente, sin necesidad de mover la unidad de excitación; también elimina las aberraciones cromáticas y esféricas que se producen con los lentes ópticos. En la abertura de salida, esta luz se registra con un fotodetector [35].

Puesto que cada elemento produce una serie de líneas espectrales a longitudes de onda específicas, que son características de dicho elemento, el estudio de las líneas de acuerdo a sus posiciones permite la identificación del elemento. La determinación cuantitativa se basa en la intensidad de las líneas en cualquier matriz, desde aleaciones hasta minerales, o en las cenizas de materiales orgánicos o polvos atmosféricos [35].

La espectroscopia de emisión atómica tiene capacidad para la emisión simultánea de multielementos, conservando los límites de detección del horno de grafito [36].

#### 1.6.2.1.1 PLASMA DE ARGÓN ACOPLADO INDUCTIVAMENTE

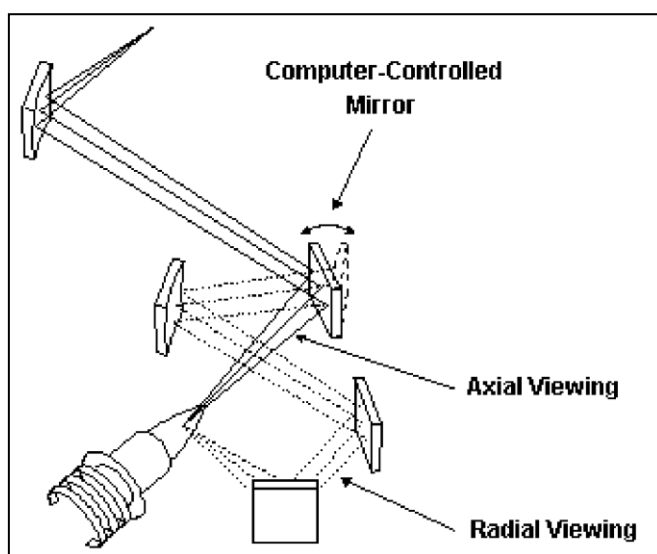
La antorcha de plasma de argón acoplada inductivamente, es un tipo especial de plasma que obtiene su poder de sustentación energética por inducción de un campo magnético de alta frecuencia. El plasma es un gas parcialmente ionizado, se forma de manera electromagnética por el acoplamiento inductivo de radiofrecuencia con argón gaseoso [37].

El argón se excita e ioniza por medio de la energía de radiofrecuencia que se emite desde una bobina de inducción situada en la base del plasma. El plasma que se forma es hueco, y el analito pasa a través de la región hueca mediante una corriente de gas. Los gases que transportan la muestra nebulizada fluyen de abajo hacia arriba junto con otra corriente de gas refrigerante para enfriar la antorcha de cuarzo.

Comúnmente, las antorchas de ICP se incorporan a los instrumentos de emisión tanto verticales (vista radial), como rotadas a  $90^\circ$  para una alineación horizontal (vista axial) con el paso óptico. La razón dada para rotar la antorcha es que esta orientación permite que la emisión sea detectada más directamente y con la longitud total de la antorcha en lugar de una ruta más corta vista desde la antorcha de posición vertical. En la práctica, la ruta más larga puede ser beneficiosa, en el sentido de que produce límites de detección menores, pero las variaciones de temperatura a lo largo de la ruta pueden llevar a producir efectos de fondo y a tener más problemas causados por las interferencias espectrales. Por tanto, la elección depende en parte de las concentraciones de analito y de los interferentes de la matriz. Sin embargo, algunas diferencias pueden compensarse variando la preparación de las muestras; por ejemplo,

diluirlo a una concentración diferente. En la actualidad, para medidas de emisión, no parece haber razones que obliguen a escoger una orientación sobre la otra [35].

Sin embargo, un desarrollo comercial combina la configuración axial y radial en una sola unidad como se muestra en la Figura 1.11. Con este sistema, existe la posibilidad de optimizar la configuración adecuada para el tipo de muestra sin el gasto de dos ICPs separados.



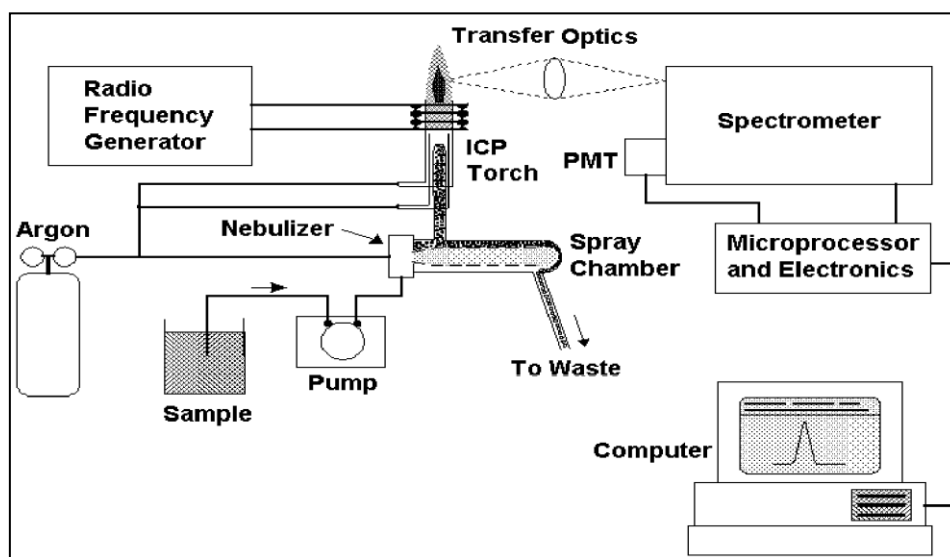
**Figura I.11 Combinación del ICP radial y axial**

Los plasmas se utilizan para la excitación de muestras tanto líquidas como sólidas, existen antorchas con diseños especiales que permiten la introducción de suspensiones o disoluciones con alto contenido en sólidos sin que se produzca el bloqueo de las mismas. El disolvente preferido es el agua, aunque también se pueden emplear disoluciones acuosas con baja proporción de disolventes orgánicos. Sin embargo, la presencia de disolventes orgánicos disminuye la eficiencia de ionización y en último término puede llegar a apagarlo [37].

### 1.6.2.1.2 INSTRUMENTACIÓN ICP-OES

En espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES), la muestra suele transportarse en el instrumento como una corriente de muestra líquida. En el interior del instrumento, el líquido se transforma en aerosol de finas gotas a través de un proceso conocido como nebulización. Posteriormente el aerosol de la muestra es transportado al plasma donde es desolvatado, vaporizado, atomizado, y excitado y/o ionizado por el plasma.

Los iones y átomos excitados emiten su radiación característica la cual es recogida por un dispositivo que separa la radiación por longitud de onda. La radiación se detecta y se convierte en señales electrónicas las cuales se transforman en información acerca de la concentración del analito en la muestra [37]. Una representación de las partes de un instrumento típico de ICP-OES se muestra en la Figura 1.12.



**Figura I.12 Principales componentes y el mecanismo de un instrumento de ICP-OES**

### 1.6.2.1.3 INSTRUMENTACIÓN CONVENCIONAL DEL ICP

#### DISPOSITIVOS DE DISPERSIÓN DE LAS LONGITUDES DE ONDA

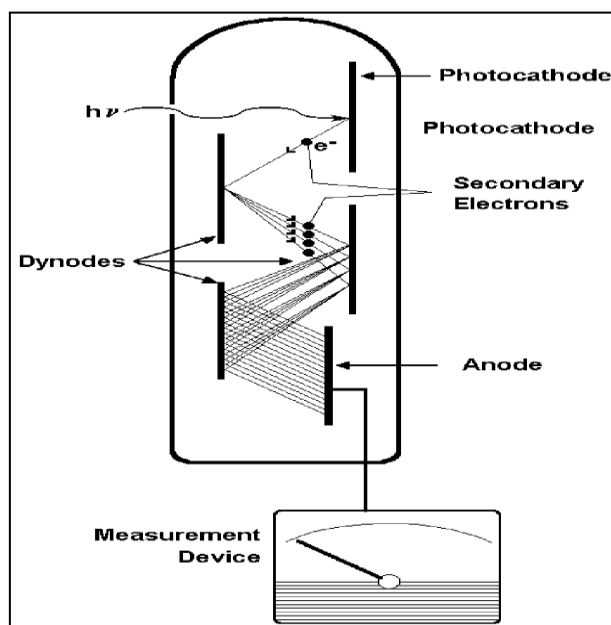
El siguiente paso en el ICP-OES es la diferenciación de la emisión de radiación de un elemento, de la radiación emitida por otros elementos y moléculas. La discriminación de esta emisión puede realizarse de varias maneras, siendo el más común de los mecanismos la dispersión física de las diferentes longitudes de onda de una red de difracción. Otros dispositivos menos usados son prismas, filtros e interferómetros [38].

Para el análisis multielemental, la medición de varios elementos en una misma muestra, se realiza con dispositivos convencionales de dispersión los cuales pueden ser un policromador o un monocromador. Cuando múltiples aberturas de salida y detectores son usados en el mismo espectrómetro, el dispositivo se llama policromador, cada abertura de salida en un policromador se ajusta a una línea de emisión atómica o iónica de un elemento específico que permite el análisis multielemental simultáneo.

Un monocromador, por otra parte, utiliza sólo una abertura de salida y el detector. Los monocromadores se utilizan en análisis multielementales mediante el escaneo rápido, o de rotación, de una línea de emisión a otra, esto se realiza ya sea cambiando el ángulo de la rejilla de difracción, haciéndola girar o moviendo el detector en el plano de salida del monocromador, dejando la reja en una posición fija [37].

## DETECTORES

Una vez que la línea de emisión adecuada ha sido aislada por el espectrómetro, el detector y su electrónica asociada, son utilizadas para medir la intensidad de la línea de emisión. El detector más utilizado para el ICP-OES es el fototubo multiplicador, el cual es un tubo al vacío que contiene un material fotosensible, llamado fotocátodo, que expulsa electrones cuando es golpeado por la luz, estos electrones expulsados son acelerados hacia un dínodo el cual expulsa de dos a cinco electrones secundarios por cada electrón que golpea la superficie, los electrones secundarios golpean otro dínodo, expulsando más electrones que golpean otro dínodo, causando un efecto multiplicador a lo largo del camino [38].



**Figura I.13 Esquema de un fototubo multiplicador**

En la Figura 1.13 se esquematiza cómo un fototubo multiplicador amplifica la señal producida por un fotón al golpear un fotocátodo. Las principales ventajas del fototubo multiplicador

sobre otros dispositivos de detección se basan en que se pueden utilizar para medir la luz en un rango de longitudes de onda relativamente amplio, puede incrementar los niveles de emisión muy débiles, y su rango de respuesta se puede extender en el orden de nueve veces la magnitud en la intensidad de luz.

#### 1.6.2.2 ESPECTROMETRÍA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

La espectrometría de Absorción Atómica es una técnica instrumental con un amplio campo de aplicación en la Química Analítica y está basada en la medida de la cantidad de radiación electromagnética absorbida por átomos en estado libre.

En Absorción Atómica existe una fuente independiente de luz monocromática, específica para cada elemento y que pasa a través del vapor atómico, para luego medir la radiación absorbida [39].

La técnica analítica de Absorción Atómica es muy específica debido a que las líneas de absorción son estrechas, además las energías de transición electrónica son únicas para cada elemento, por lo cual se puede reconocer y cuantificar alrededor de 70 de ellos.

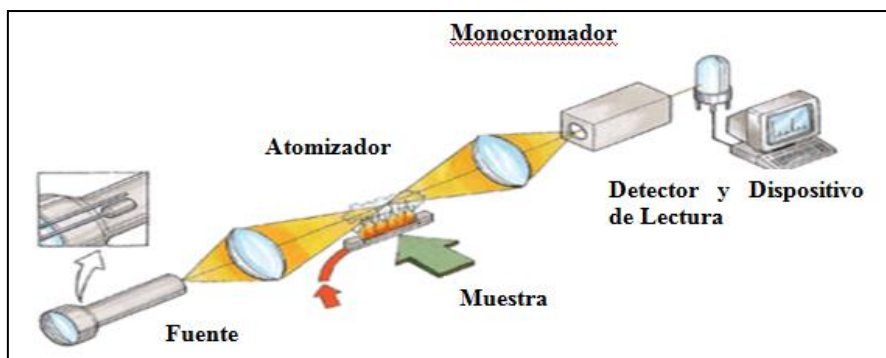
Cada elemento tiene un número de electrones que se relaciona con el núcleo atómico. Estos electrones rodean al átomo en una estructura orbital específica para cada elemento. Un átomo puede sufrir una serie de transiciones electrónicas debido a su distribución electrónica y niveles energéticos, estas transiciones son exclusivas de cada elemento y tienen su propia

energía, frecuencia y longitud de onda que son utilizadas para las mediciones en espectrofotometría de Absorción Atómica [40].

Otra ventaja importante es que se pueden obtener espectros sencillos debido a la baja energía de excitación de la llama, y con esto se disminuyen las interferencias espectrales, además los resultados cuantitativos tienden a ser reproducibles [41].

#### 1.6.2.2.1 COMPONENTES DE UN EQUIPO DE ABSORCIÓN ATÓMICA

Un equipo de Absorción Atómica está constituido por una fuente de radiación, un sistema de producción de vapor atómico, un monocromador, un detector y un sistema de lectura e interpretación de la señal, como se observa en la Figura N° 1.14.



**Figura I.14 Esquema del equipo de Absorción Atómica [42]**

## FUENTE DE RADIACIÓN

Las fuentes más comunes para las mediciones son las lámparas de cátodo hueco y las de descarga gaseosa. Las lámparas de descarga proporcionan mayor potencia, brillantez y vida media que las lámparas de cátodo hueco, con lo cual se mejora la precisión y límites de detección, incrementando la sensibilidad y la linealidad de la curva de trabajo. La fuente de radiación debe suministrar suficiente energía radiante en la región de longitudes de onda donde se va a medir la absorción, además, debe mantener una intensidad lumínica constante durante todo el intervalo de tiempo en el que se hacen las mediciones. La fuente debe emitir radiación a una longitud de onda determinada, ya que las líneas de absorción son muy angostas.

La luz emitida se consigue al excitar al gas de llenado, o vapor ionizado, mediante descargas eléctricas entre dos electrodos, producidas por diferencia de potencial, esta energía excita los átomos vaporizados del analito dentro del bulbo, ocasionando que emitan su espectro característico [43].

## ATOMIZADOR

Los atomizadores pueden ser de dos tipos: los de llama y los que no usan llama. El horno de grafito es un atomizador sin llama que proporciona gran sensibilidad y excelentes límites de detección, ya que toda la muestra se atomiza rápidamente.

En un atomizador con llama, la disolución de la muestra es nebulizada mediante un flujo de gas oxidante mezclado con el gas combustible y se transforma en una llama donde se produce la atomización. El primer paso es la desolvatación en el que se evapora el disolvente hasta producir un aerosol molecular sólido finamente dividido para producir un gas atómico mediante la disociación de estas moléculas,

## MONOCROMADORES

Los monocromadores, en general, están conformados por una rendija de entrada que proporciona una imagen óptica estrecha de la fuente de radiación, un colimador el mismo que produce el paralelismo de la luz que se separa en la rendija de entrada, un prisma que dispersa la radiación incidente, un colimador para reformar las imágenes de la rendija de entrada y una rendija de salida de la banda espectral deseada.

La radiación proveniente de la fuente (y después de atravesar la muestra) es dispersada en las longitudes de onda que la componen. La línea de interés de la longitud de onda resonante del elemento se dirige al detector para medir la radiación. En Absorción Atómica, como elemento dispersante, se usan prismas o rejillas de difracción. A la entrada y salida del monocromador existen lentes y espejos para que el haz de radiación se dirija en una dirección específica [44].

Cuando el haz de luz llega a la rejilla es reflejado por cada surco, y debido a las interferencias constructivas y destructivas, ciertas longitudes de onda se refuerzan y otras se anulan. Una alta dispersión depende del número de surcos y del ángulo con que fueron cortados estos surcos [45].

El selector de longitudes de onda nos permite obtener la longitud de onda que se desea; la anchura de la rendija se ajusta dependiendo del elemento a analizar [46].

## DETECTORES

Un detector transforma la radiación electromagnética en señal eléctrica. Cuando se miden niveles bajos de energía, la fotocorriente debe ser amplificada a través de un fototubo multiplicador. Existen características importantes que siempre se deben tomar en cuenta en un detector, estas son la sensibilidad espectral, la respuesta de longitud de onda, la amplificación relativa y el tiempo de respuesta.

Desde las últimas dos décadas, el detector que se ha usado en la región del ultravioleta y visible es el fototubo multiplicador, el mismo que transforma la radiación en una señal eléctrica con un gran aumento (en el orden de  $10^6$ ) y con una corriente oscura muy pequeña, permitiéndonos mejorar la sensibilidad del detector.

El fototubo multiplicador consiste en una combinación de un cátodo fotoemisor y una cadena interna multiplicadora de electrones formada por dínodos. La radiación incidente provoca la emisión de fotoelectrones del cátodo, estos se enfocan con un campo eléctrico electrostático y se aceleran hacia el primer dínodo, emitiendo varios electrones cuando se someten al impacto de un electrón de alta energía [47].

## LEY DE LAMBERT-BEER

La cuantificación se basa en la ley de Lambert-Beer que expresa lo siguiente: cuando un haz de luz de una longitud específica pasa a través de una sustancia, cierta cantidad de radiación es absorbida por la sustancia y otra porción se transmite a través de ésta. La cantidad de energía que es absorbida, depende de la concentración de sustancia y del trayecto óptico que recorre el haz. La transmitancia  $T$  de la solución, es la fracción de radiación incidente transmitida por la solución [48].

$$T = I/I^{\circ}$$

En donde:

$I$  = radiación transmitida

$I^{\circ}$  = radiación incidente

La absorbancia es el logaritmo negativo de la transmitancia, y se tiene que:

$$A = -\log T$$

La absorbancia es directamente proporcional a la longitud de la trayectoria de la radiación  $b$  y concentración de la sustancia absorbente  $c$ . Donde  $a$  es una constante de proporcionalidad, cuyo nombre está dado por las unidades en que esta constante esté expresada. Si sus unidades son  $\text{litro g}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  se llama coeficiente de absorción y si son  $\text{litro mol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  se llama absorbividad molar [48].

$$A = abc$$

## 1.7 CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

Para demostrar que un método de análisis es válido para el uso previsto, se pueden determinar una serie de parámetros (exactitud, precisión, rango lineal, límites de detección y cuantificación) en función del tipo de método que se utilice. Los valores que deben cumplir dichos parámetros dependerán de las necesidades de la aplicación y del uso previsto [49].

### 1.7.1 EXACTITUD

Es el grado de concordancia entre el resultado de la medición y el valor de referencia aceptado. Se puede expresar como porcentaje de recuperación.

$$\text{Recuperación (\%)} = \frac{\bar{x}_i}{V_{Ri}} \cdot 100$$

Donde:  $\bar{x}_i = \text{Media de las mediciones realizadas}$

$V_{Ri} = \text{Valor de referencia}$

El valor de referencia, para nuestro caso provendrá del material de referencia certificado.

### 1.7.2 PRECISIÓN

Es el grado de concordancia entre los resultados obtenidos al aplicar el procedimiento experimental repetidas veces bajo las condiciones establecidas. Se puede definir dos tipos de condiciones:

1. Repetibilidad, bajo condiciones en las que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, el mismo operador, el mismo instrumento de medida y durante un corto intervalo de tiempo, y,
2. Reproducibilidad, bajo condiciones en la que los resultados de una medición se obtienen con el mismo método, sobre el mismo mensurando, con diferentes operadores, equipos de medida, laboratorios, etc.

La precisión está relacionada con la varianza de los resultados del ensayo sobre una muestra homogénea.

Se puede expresar de varias formas: desviación estándar ( $S$ ), desviación estándar de repetibilidad ( $S_r$ ) y desviación estándar de reproducibilidad ( $S_R$ ).

En el presente estudio se evaluará la repetibilidad y reproducibilidad en base al análisis de varianza de los datos obtenidos al enriquecer las muestras de tejido vegetal con soluciones estándares de los nutrientes a cuantificar según el esquema indicado en la Tabla 1.4.

**Tabla I.4 Esquema para el estudio de precisión**

NIVEL	REPETICIONES	RESPUESTA					
		Día 1	% Rec.	Día 2	% Rec.	Día 3	% Rec.
N0	R <sub>1</sub>						
	R <sub>2</sub>						
	R <sub>3</sub>						
N1	R <sub>1</sub>						
	R <sub>2</sub>						
	R <sub>3</sub>						
N2	R <sub>1</sub>						
	R <sub>2</sub>						
	R <sub>3</sub>						
MATERIAL DE REFERENCIA	R <sub>1</sub>						
	R <sub>2</sub>						
	R <sub>3</sub>						

Mediante estos resultados se realizará el análisis de varianza y se evaluará la desviación estándar.

### 1.7.3 LINEALIDAD

Se refiere fundamentalmente a los métodos instrumentales y nos indica el rango de valores de la propiedad del ensayo, en el que puede esperarse una respuesta lineal del equipo. Este rango va desde la menor concentración detectable y cuantificable hasta el límite de linealidad que es la concentración en la que la curva de calibración pierde su linealidad.

En el presente estudio, la linealidad de cada técnica analítica se evaluará a través de un análisis de regresión lineal de la respuesta de los equipos frente a concentraciones crecientes de cada analito, siguiendo el esquema de la Tabla 1.5.

**Tabla I.5 Esquema para el estudio de linealidad**

CONCENTRACIÓN DEL ESTÁNDAR	RESPUESTA DEL EQUIPO		
	Día 1	Día 2	Día 3
C <sub>1</sub>			
C <sub>2</sub>			
C <sub>3</sub>			
C <sub>4</sub>			
C <sub>5</sub>			

#### 1.7.4 LÍMITE DE DETECCIÓN (L<sub>D</sub>)

La concentración de sustancia que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada con un valor exacto. Suele relacionarse con la concentración que da una señal equivalente a la respuesta de un blanco más tres desviaciones estándar.

$$L_D = B + 3SB$$

donde:

L<sub>D</sub>: límite de detección

B: lecturas del blanco

S: desviación estándar

#### 1.7.5 LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN (L<sub>C</sub>)

El valor de concentración mínima del elemento con un nivel aceptable de exactitud y precisión. Generalmente equivale 6 a 10 veces la desviación estándar del blanco.

$$L_C = B + 10SB$$

donde:

$L_C$ : límite de cuantificación

$B$ : lecturas del blanco

$S$ : desviación estándar

## **1.8 ANÁLISIS ESTADÍSTICO**

Para facilitar este estudio se utilizó el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) el cual es un sistema de software integrado orientado a la gestión de la información. Las aplicaciones de SAS comprenden amplias posibilidades de procedimientos estadísticos y permite cálculos exactos para tablas; además todos los procedimientos pueden emplearse de una sola ejecución, lo que nos permite optimizar el tiempo.

### **1.8.1 PRUEBA $t$ DE STUDENT**

La  $t$  de student es una prueba que ayuda a estimar los valores poblacionales a partir de los datos muestrales. La  $t$  de student ayuda a pronosticar la probabilidad de que dos promedios pertenezcan a una misma población (en el caso en que las diferencias no sean significativas) o que provengan de distintas poblaciones (en el caso que las diferencias de promedios sean significativas).

## 1.8.2 ANÁLISIS DE VARIANZA (ANOVA)

El análisis de varianza se utiliza para comparar valores de un conjunto de datos numéricos y establecer si son significativamente distintos a los valores de otro o más conjuntos de datos, en base a la formulación de hipótesis nulas y alternativas.

El análisis de varianza se realizará mediante el siguiente esquema:

**Tabla I.6 Análisis de varianza [50]**

<b>Análisis simple de la varianza</b>			
<b>Origen de la varianza</b>	<b>Grados de libertad (<math>v</math>)</b>	<b>Suma de diferencias cuadráticas (SDC)</b>	<b>Diferencias cuadráticas medias (DCM=SDC/<math>v</math>)</b>
<b>Entre niveles (Between)</b>	$v_1 = k - 1$	$SDC_B = \sum_{i=1}^k p(\bar{x}_i - \bar{x})^2$	$DCM_B = \frac{SDC_B}{k - 1}$
<b>Dentro de niveles (Within)</b>	$v_2 = n - k$	$SDC_W = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^p (x_{ij} - \bar{x}_i)^2$	$DCM_W = \frac{SDC_W}{n - k}$
<b>Total</b>	$v = n - 1$ (= $v_1 + v_2$ )	$SDC_T = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^p (x_{ij} - \bar{x})^2$  (= $SDC_B + SDC_W$ )	$DCM_T = \frac{SDC_T}{n - 1}$

Las diferencias cuadráticas medias (DCM) son las respectivas varianzas.

La desviación estándar de repetibilidad ( $S_r$ ) se calcula con la siguiente ecuación:

$$S_r = \sqrt{DCM_W}$$

La desviación estándar de reproducibilidad ( $S_R$ ) es:

$$S_R = \sqrt{S_r^2 + S_L^2}$$

Donde:

$$S_L^2 = \frac{DCM_B - DCM_W}{p}$$

siendo el denominador ( $p$ ) igual al número de observaciones que se realizan cada día (en cada nivel).

### 1.8.3 HIPÓTESIS NULA

Se basa en formular una hipótesis que plantea que no existen diferencias entre la media de un conjunto de datos con respecto a otro.

### 1.8.4 SIGNIFICANCIA

Establece si existen diferencias debido a la intervención de los factores estudiados y no es producto de una coincidencia numérica. Estos valores son producto del cálculo de “F” que es la razón entre el cuadrado de la media de un conjunto de datos y el cuadrado de la media dentro de estos valores numéricos. Así tenemos:

$$\hat{F} = \frac{DCM_B}{DCM_W}$$

**Tabla I.7 Simbología del valor de  $F$  calculado**

<b>VALOR <math>F</math></b>	<b>SIGNIFICANCIA</b>
< 0,001	Altamente significativo (AS)
0,001 – 0,05	Significativo (S)
> 0,05	No significativo (NS)

### 1.8.5 GRADOS DE LIBERTAD

En estadística, grados de libertad es un estimador del número de categorías independientes en un test particular o experimento estadístico. Se encuentra mediante la fórmula  $n-1$ , donde  $n$  = número de sujetos en la muestra (también pueden ser representados por  $k-1$  donde  $k$  = número de grupos, cuando se realizan operaciones con grupos y no con sujetos individuales).

## **CAPÍTULO II**

### **PARTE EXPERIMENTAL**

La determinación de macro y micro-nutrientes catiónicos en tejidos vegetales de banano, palma y rosas se desarrollaron en cuatro etapas:

1. Preparación de las muestras
2. Extracción de los analitos
3. Cuantificación
4. Análisis estadístico

#### **2.1 PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

Las muestras de tejidos vegetales de banano, palma y rosas, empleadas en el análisis, fueron suministradas por el Departamento de Manejo de Suelos y Aguas (DMSA) del INIAP. Dichas muestras son utilizadas como material de referencia interno y se las emplea en el análisis rutinario de tejidos foliares del laboratorio.

Estas muestras fueron recolectadas por el DMSA y provinieron de plantaciones de banano del cantón Machala, provincia de El Oro, de plantaciones de palma del cantón La Concordia provincia de Santo Domingo de los Tsáchilas y de plantaciones de rosas del cantón Latacunga provincia de Cotopaxi.

La preparación de estas muestras consistió en lavarlas con agua destilada con el fin de eliminar cualquier contaminación con polvo, suelo, otros tejidos, fertilizantes, fungicidas, etc. Luego fueron secadas en una estufa a 60°C durante 48 horas aproximadamente, una vez secas, se molieron y tamizaron utilizando una malla de 40 mesh.

Las muestras y el material de referencia son almacenados a temperatura ambiente hasta el momento del análisis.

## **2.2 EXTRACCIÓN DE LOS ANALITOS**

Las muestras de tejidos vegetales se sometieron a digestión húmeda con ácido nítrico y ácido perclórico concentrados en relación 5:1, de esta manera se tuvieron los analitos en solución para la posterior determinación instrumental.

### **2.2.1 MATERIALES**

- Pipetas volumétricas
- Balones aforados
- Vasos de precipitación
- Probetas
- Matraces erlenmeyer
- Espátula
- Pinzas
- Papel filtro

### 2.2.2 EQUIPOS

- Plancha de calentamiento
- Balanza analítica electrónica

### 2.2.3 REACTIVOS

- Agua destilada tipo I
- Ácido nítrico al 65% p/p, grado analítico (concentrado y 0,1N)
- Ácido perclórico al 72% p/p, grado analítico

### 2.2.4 ESTÁNDARES

- Material de Referencia Certificado procedente del “National Institute of Standards and Technology” (NIST): Standard Reference Material 1515, Apple Leaves, (Anexo N° 1).
- Potassium Standard Solution Traceable to SRM from NIST / 1000 mg/l
- Calcium Standard Solution Traceable to SRM from NIST / 1000 mg/l
- Magnesium Standard Solution Traceable to SRM from NIST / 1000 mg/l
- Zinc Standard Solution Traceable to SRM from NIST / 1000 mg/l
- Cooper Standard Solution Traceable to SRM from NIST / 1000 mg/l
- Iron Standard Solution Traceable to SRM from NIST / 1000 mg/l
- Manganese Standard Solution Traceable to SRM from NIST / 1000 mg/l

### 2.2.5 PROCEDIMIENTO

- Pesar 0,25 g de material vegetal y colocar en un erlenmeyer de 50 mL.

- Agregar 5 mL de la mezcla de ácido nítrico-perclórico (relación 5:1), adicionar núcleos de ebullición para reducir la reacción violenta de los ácidos.
- Colocar los Erlenmeyer en una plancha precalentada a 100°C, luego de 15 minutos elevar la temperatura a 200°C hasta que los humos del ácido nítrico se evaporen. Aumentar la temperatura a 300°C durante 20 minutos y luego elevar la temperatura a 400°C y observar el comienzo de la reacción del ácido perclórico. Esta se manifiesta por la presencia de vapores blancos y la reacción violenta del ácido.
- La digestión se considera completa cuando no existe la emisión de ningún tipo de vapores y el digestado es transparente.
- Dejar enfriar los erlenmeyer y enjuagar las paredes con agua destilada.
- Filtrar las soluciones en balones de 25 mL y aforar con agua destilada.
- En este filtrado se procederá a cuantificar los macro y micro-nutrientes de tejidos vegetales por AA e ICP [51].

## **2.3 CUANTIFICACIÓN DE MACRO Y MICRO-NUTRIENTES CATIONICOS**

Previo a la cuantificación de macro y micro-nutrientes fue necesario realizar una serie de ensayos preliminares para evaluar la eficiencia de las metodologías.

### **2.3.1 CALIBRACIÓN DEL EQUIPO**

Las condiciones de operación de los equipos (AA e ICP) fueron establecidas por el fabricante y no fue necesario realizar modificaciones ya que se observó que dichas condiciones se adaptaban para el uso previsto.

### 2.3.2 LINEALIDAD

Para el estudio de linealidad se midió la respuesta de los equipos (AA e ICP) a diferentes concentraciones de cada uno de los analitos en estudio, preparadas a partir de las soluciones estándar respectivas como se muestra en las Tablas 2.1 y 2.2.

**Tabla II.1 Concentración de las soluciones estándar para el estudio de linealidad de macro-nutrientes**

Macro-Nutrientes (%)						
Estándar	Potasio (K)		Calcio (Ca)		Magnesio (Mg)	
	AA	ICP	AA	ICP	AA	ICP
1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2	1,25	1,00	1,87	1,50	0,25	0,25
3	2,50	2,00	3,75	3,00	0,50	0,50
4	3,75	3,00	5,62	4,50	0,75	0,75
5	5,00	4,00	7,50	6,00	1,00	1,00
6		5,00		7,50		1,25
7		6,00		9,00		1,50

**Tabla II.2 Concentración de las soluciones estándar para el estudio de linealidad de micro-nutrientes**

Micro-Nutrientes (mg/L)								
Estándar	Zinc (Zn)		Cobre (Cu)		Hierro (Fe)		Manganeso (Mn)	
	AA	ICP	AA	ICP	AA	ICP	AA	ICP
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	25	100	50	100	125	200	100	100
3	50	200	100	200	250	400	200	200
4	75	300	150	300	375	600	300	300
5	100	400	200	400	500	800	400	400
6		500		500		1000		500
7		600		600		1200		600

### 2.3.3 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

El límite de detección y el límite de cuantificación se los determinó realizando 10 lecturas de un blanco de reactivos que en este estudio fue una solución de ácido nítrico 0,1N. Se calculó la media y la desviación estándar de las mediciones.

Luego se aplicó las siguientes fórmulas para el cálculo del Límite de Detección ( $L_D$ ) y del Límite de Cuantificación ( $L_C$ ).

$$L_D = B + 3S_B$$

Donde:

- $L_D$ : límite de detección
- B: lecturas del blanco
- S: desviación estándar

$$L_C = B + 10S_B$$

Donde:

- $L_C$ : límite de cuantificación
- B: lecturas del blanco
- S: desviación estándar

### 2.3.4 PRECISIÓN

Para el estudio de precisión se realizaron por triplicado las determinaciones en muestras de tejido vegetal enriquecidas con soluciones estándares de los nutrientes a cuantificar a tres diferentes niveles de concentración.

Previo a la digestión, se enriquecieron las muestras de tejido foliar con volúmenes de 1, 2 y 3 mL de solución fortificante, las concentraciones de estándar adicionado se detallan en la Tabla 2.3. Dichas concentraciones están expresadas en miligramos (mg) por cada mililitro (mL) de solución fortificante añadida a las muestras.

**Tabla II.3 Niveles de fortificación**

Concentración añadida de solución fortificante (mg/mL)							
Nivel	K	Ca	Mg	Zn	Cu	Fe	Mn
1	1,000	2,500	0,400	0,006	0,012	0,025	0,010
2	2,000	5,000	0,800	0,012	0,025	0,050	0,020
3	3,000	7,500	1,200	0,018	0,037	0,075	0,030

### 2.3.5 EXACTITUD

La exactitud fue expresada como porcentaje de recuperación y se determinó con la lectura por triplicado del Material de Referencia Certificado (Standard Reference Material 1515, Apple Leaves, NIST) para cada analito en estudio.

Luego de las mediciones se aplicó la siguiente fórmula para obtener el porcentaje de recuperación:

$$\text{Recuperación (\%)} = \frac{\bar{x}_i}{V_{Ri}} \cdot 100$$

Donde:  $\bar{x}_i$  = Media de las mediciones realizadas

$V_{Ri}$  = Valor de referencia

## 2.3.6 LECTURA DE MACRO Y MICRO-NUTRIENTES CATIÓNICOS EN TEJIDOS VEGETALES

Una vez que se realizó el estudio de las condiciones óptimas de análisis, se procedió a analizar el contenido de macro y micro-nutrientes catiónicos en cada una de las muestras mediante AA e ICP.

### 2.3.6.1 MATERIALES

- Pipetas volumétricas
- Balones aforados
- Vasos de precipitación
- Probetas

### 2.3.6.2 EQUIPOS

- Espectrofotómetro de Absorción Atómica, marca Shimadzu, modelo AA-680 (Anexo N° 2).
- Espectrofotómetro de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica ICP-OES, marca Perkin Elmer, modelo Optima 5300 DV (Anexo N° 3).

### 2.3.6.3 DETERMINACIÓN DE MACRO Y MICRO-NUTRIENTES POR ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA

#### *Determinación de potasio, calcio, magnesio*

- Tomar 1 mL del filtrado de la digestión húmeda y agregar 24 mL de agua destilada
- Tomar 2 mL de la solución anterior, agregar 10 mL de agua destilada y 8 mL de la solución de óxido de lantano al 1%.
- Preparar la curva de calibración tomando como último punto la solución patrón de 500 ppm de K, 750 ppm de Ca y 100 ppm de Mg; y como cero la solución de HNO<sub>3</sub> 0,1N. Realizar las mismas diluciones de los literales anteriores.
- Analizar por Absorción Atómica [51].

#### *Determinación de cobre, hierro, zinc y manganeso*

- Utilizar el filtrado original de la digestión húmeda y analizar directamente por Absorción Atómica.
- Realizar la curva de calibración tomando como último punto la solución patrón de 2 ppm de Cu, 1 ppm de Zn, 5 ppm de Fe y 4 ppm de Mn y como cero la solución de HNO<sub>3</sub> 0,1N [51].

### 2.3.6.4 DETERMINACIÓN DE MACRO Y MICRO-NUTRIENTES POR ESPECTROSCOPIA ICP

- Utilizar el filtrado original de la digestión húmeda y analizar directamente por ICP.

- Preparar las respectivas curvas de calibración tomando como último punto la solución patrón de 600 ppm de K, 900 ppm de Ca, 150 ppm de Mg, 6 ppm de Zn, 6 ppm de Cu, 12 ppm de Fe y 6 ppm de Mn, y como cero la solución de HNO<sub>3</sub> 0,1N [51].

## 2.4 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 2.4.1 COMPARACIÓN DE MÉTODOS

Con los resultados obtenidos se comparó las técnicas de análisis foliar mediante la espectroscopia de Absorción Atómica (AA) y espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES) para determinar si existen estadísticamente diferencias significativas entre dichas metodologías.

Para esto se realizó la prueba t-Student para las variables límite de detección y límite de cuantificación. En tanto que para las variables precisión y exactitud, se realizó el análisis de varianza (ANOVA) utilizando un diseño experimental de bloques al azar en arreglo factorial. El esquema del ANOVA fue el indicado en la Tabla 2.4, cada repetición diaria constituye un bloque.

**Tabla II.4 Esquema de análisis de varianza para las variables: precisión y exactitud**

Fuente de Variación	Grados de Libertad
Repeticiones	2
Factor A (Técnicas de análisis)	1
Factor B (Tipos de tejido)	2
Factor A por Factor B	2
Error	10
Total	17

- Factor A: Técnicas de análisis (AA e ICP)
- Factor B: Tipos de material vegetal (banano, palma africana, rosas)

#### 2.4.2 ANÁLISIS FUNCIONAL

Se realizó la prueba de significancia Tukey al 5% en los factores en estudio e interacciones que presentan significancia estadística.

## CAPÍTULO III

### RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Una vez establecidas las condiciones de trabajo se obtuvieron los siguientes resultados:

#### 3.1 CALIBRACIÓN DEL EQUIPO

Las condiciones instrumentales de trabajo que nos permitieron asegurar la validez de los resultados obtenidos en el análisis fueron establecidas de la siguiente manera:

**Tabla III.1 Condiciones de operación del equipo de Absorción Atómica AA-680**

ELEMENTO	LONGITUD DE ONDA (nm)	CORRIENTE DE LA LÁMPARA (mA)	TIPO DE LLAMA
K	766,5	5	Aire – Acetileno
Ca	422,7	6	Aire – Acetileno
Mg	285,2	4	Aire – Acetileno
Zn	213,9	4	Aire – Acetileno
Cu	324,8	3	Aire – Acetileno
Fe	248,3	8	Aire – Acetileno
Mn	279,5	3	Aire – Acetileno

Las condiciones instrumentales con las que se trabajó en el espectrómetro de emisión por acoplamiento de plasma inductivo con detector óptico se indican en la Tabla 3.2:

**Tabla III.2 Condiciones de operación del equipo ICP-OES Optima 5300 DV**

<b>ELEMENTO</b>	<b>LONGITUD DE ONDA (nm)</b>	<b>POSICIÓN DE LA LLAMA</b>
K	766,490	Radial
Ca	315,887	Radial
Mg	279,077	Radial
Zn	213,857	Axial
Cu	324,752	Axial
Fe	259,939	Axial
Mn	257,610	Axial

La lectura de micro-nutrientes se realizó con el plasma en posición axial, ya que permite obtener mayor sensibilidad, y por ende una mejor detección de los analitos a bajas concentraciones.

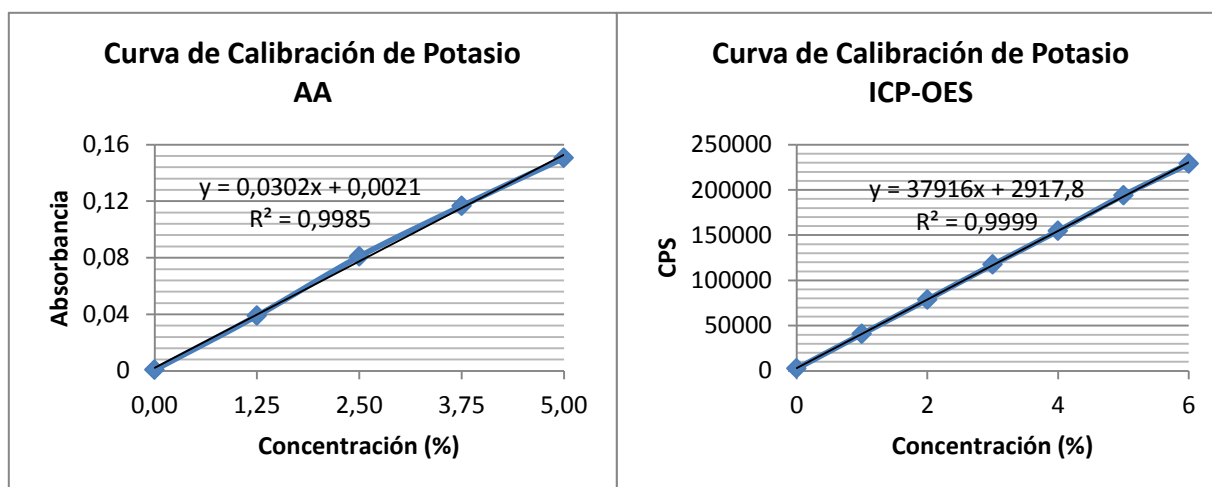
### **3.2 LINEALIDAD**

Para determinar la linealidad de los equipos utilizados para el presente estudio se midió la respuesta de dichos equipos a diferentes concentraciones de cada uno de los analitos.

En la Tabla 3.3 se presenta los resultados obtenidos en el estudio de linealidad de potasio, y sus curvas se pueden observar en la Figura 3.1.

**Tabla III.3 Resultados de linealidad de potasio**

AA		ICP-OES	
Concentración (%)	Respuesta del Equipo (Absorbancia)	Concentración (%)	Respuesta del Equipo (cps)
0,00	0,001	0	2415,8
1,25	0,039	1,00	40737,6
2,50	0,081	2,00	78723,1
3,75	0,117	3,00	117318,6
5,00	0,151	4,00	154658,8
		5,00	193998,4
		6,00	228816,3
<b>Ecuación:</b>	$y = 0,0302x + 0,0021$	<b>Ecuación:</b>	$y = 37916x + 2917,8$
<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9985	<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9999



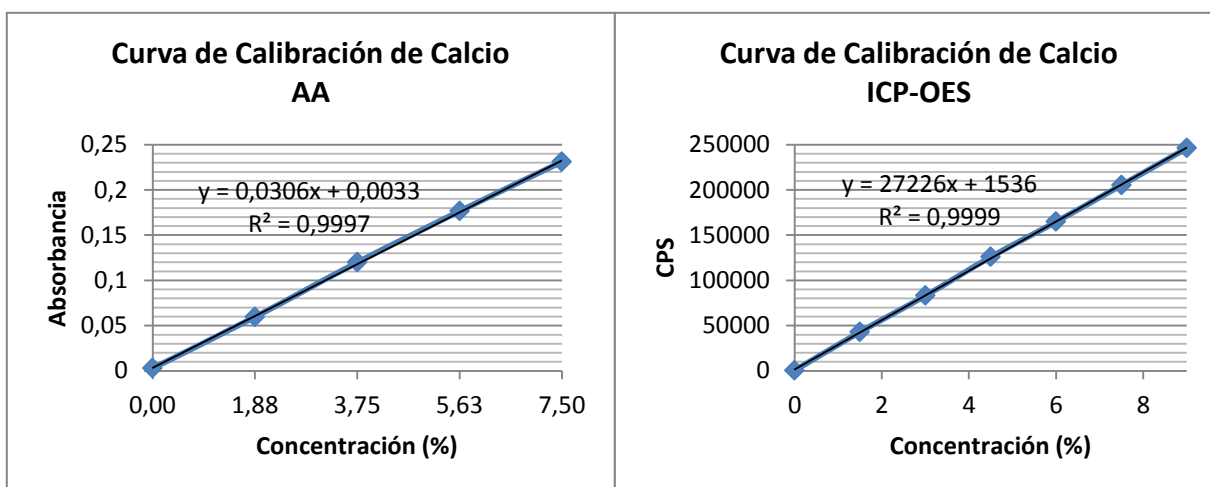
**Figura III.1 Curvas de calibración de potasio por AA e ICP-OES**

Las concentraciones utilizadas, tanto en AA como ICP-OES, permitieron obtener un coeficiente de correlación muy cercano a la unidad.

En la Tabla 3.4 se presenta la respuesta de los equipos de AA e ICP-OES, a diferentes concentraciones del estándar de calcio, y sus curvas se representan en la Figura 3.2.

**Tabla III.4 Resultados de linealidad de calcio**

AA		ICP-OES	
Concentración (%)	Respuesta del Equipo (Absorbancia)	Concentración (%)	Respuesta del Equipo (cps)
0,00	0,003	0,00	444,4
1,88	0,060	1,50	42930,6
3,75	0,120	3,00	83014,4
5,63	0,177	4,50	125833,9
7,50	0,231	6,00	164738,3
		7,50	205257,6
		9,00	246147,0
<b>Ecuación:</b>	$y = 0,0306x + 0,0033$	<b>Ecuación:</b>	$y = 27226x + 1536$
<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9997	<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9999



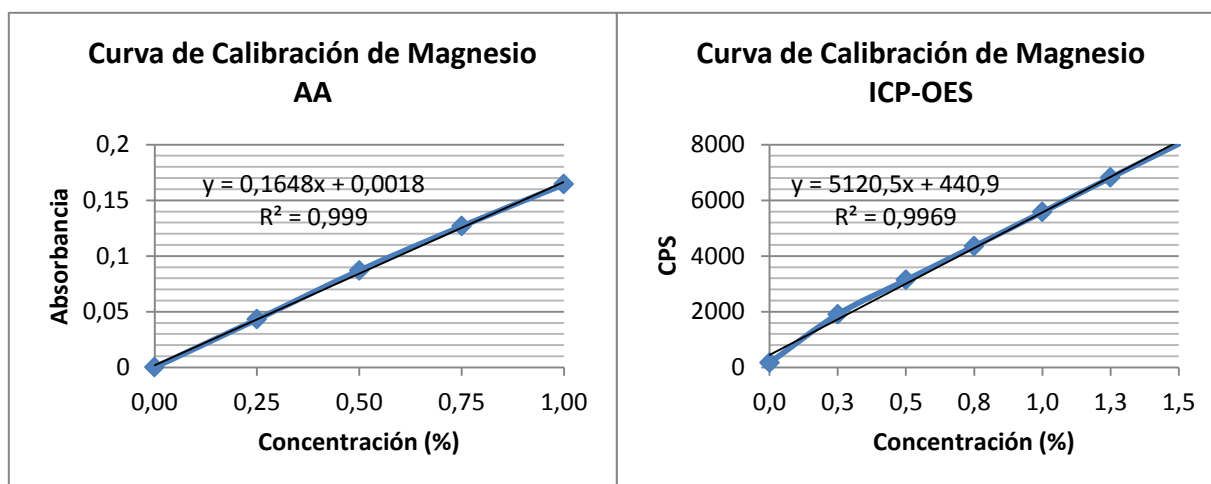
**Figura III.2 Curva de calibración de calcio por AA e ICP-OES**

Las concentraciones de los estándares de calcio fueron directamente proporcionales a la respuesta de los equipos, obteniendo una respuesta lineal con unos coeficientes de correlación muy cercanos a la unidad.

En la Tabla 3.5 se presenta la respuesta de los equipos de AA e ICP-OES, a diferentes concentraciones del estándar de magnesio, y sus curvas se representan en la Figura 3.3.

**Tabla III.5 Resultados de linealidad de magnesio**

AA		ICP-OES	
Concentración (%)	Respuesta del Equipo (Absorbancia)	Concentración (%)	Respuesta del Equipo (cps)
0,00	0,000	0,00	166,0
0,25	0,043	0,25	1903,7
0,50	0,087	0,50	3135,9
0,75	0,127	0,75	4346,3
1,00	0,164	1,00	5575,8
		1,25	6814,3
		1,50	8026,7
<b>Ecuación:</b>	$y = 0,1648x + 0,0018$	<b>Ecuación:</b>	$y = 5120,5x + 440,9$
<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9990	<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9969



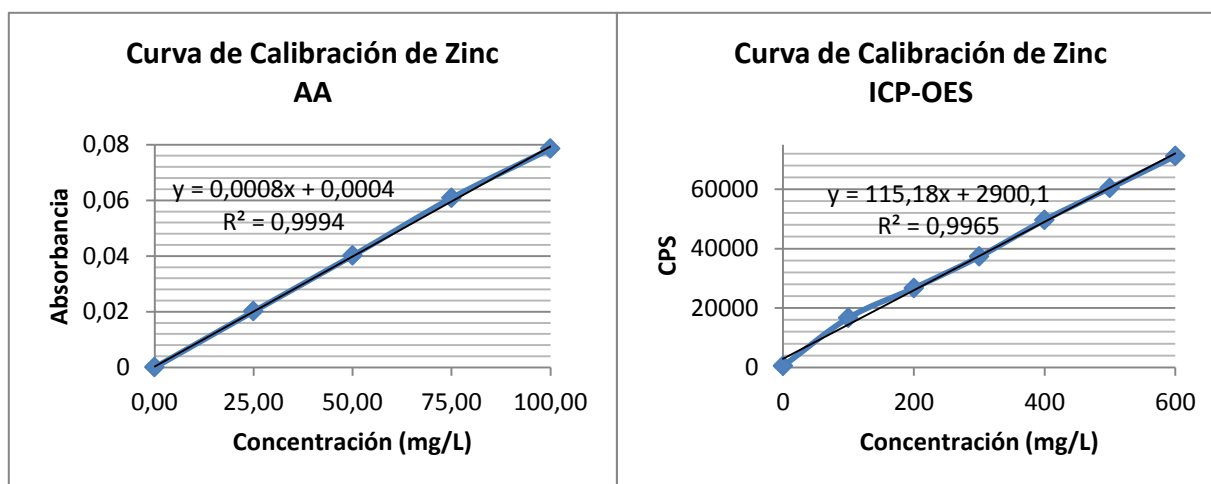
**Figura III.3 Curva de calibración de magnesio por AA e ICP-OES**

Las concentraciones de los estándares de magnesio fueron directamente proporcionales a la respuesta de los equipos, obteniendo una respuesta lineal con unos coeficientes de correlación muy cercanos a la unidad.

En la Tabla 3.6 se presenta la respuesta de los equipos de AA e ICP-OES, a diferentes concentraciones del estándar de zinc, y sus curvas se representan en la Figura 3.4.

**Tabla III.6 Resultados de linealidad de zinc**

AA		ICP-OES	
Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (Absorbancia)	Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (cps)
0	0,000	0	422,4
25	0,020	100	16673,5
50	0,040	200	26683,6
75	0,061	300	37274,0
100	0,079	400	49611,6
		500	60355,8
		600	71160,8
<i>Ecuación:</i>	$y = 0,0008x + 0,0004$	<i>Ecuación:</i>	$y = 115,18x + 2900,1$
<i>R<sup>2</sup>:</i>	0,9994	<i>R<sup>2</sup>:</i>	0,9965



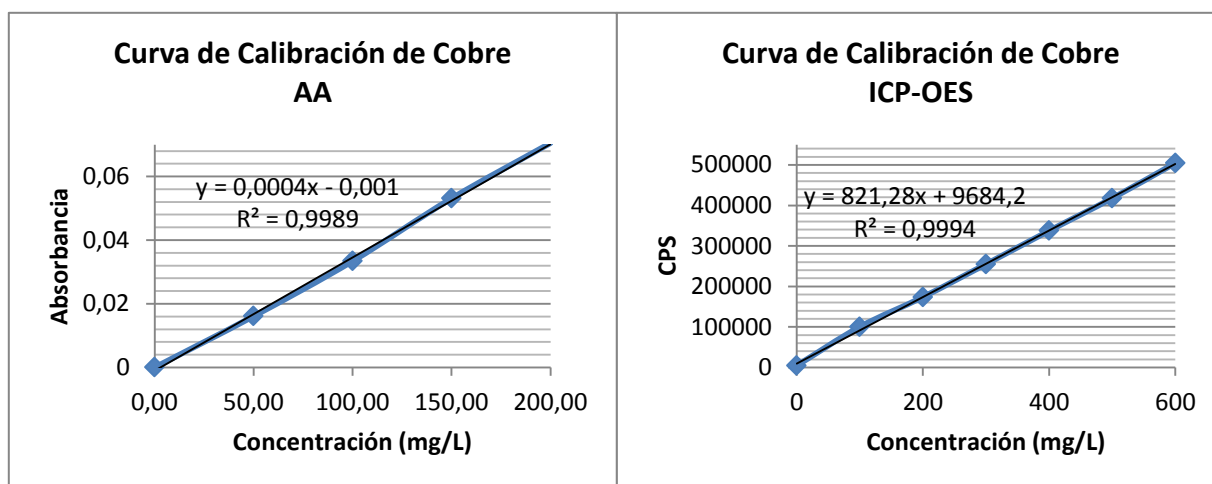
**Figura III.4 Curva de calibración de zinc por AA e ICP-OES**

Las concentraciones de los estándares de zinc fueron directamente proporcionales a la respuesta de los equipos, obteniendo una respuesta lineal con unos coeficientes de correlación muy cercanos a la unidad.

En la Tabla 3.7 se presenta la respuesta de los equipos de AA e ICP-OES, a diferentes concentraciones del estándar de cobre, y sus curvas se representan en la Figura 3.5.

**Tabla III.7 Resultados de linealidad de cobre**

AA		ICP-OES	
Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (Absorbancia)	Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (cps)
0	0,000	0	4338,6
50	0,016	100	100078,1
100	0,033	200	173609,7
150	0,053	300	254901,8
200	0,071	400	337309,5
		500	417665,0
		600	504576,0
<b>Ecuación:</b>	$y = 0,0004x - 0,001$	<b>Ecuación:</b>	$y = 821,28x + 9684,2$
<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9989	<b>R<sup>2</sup>:</b>	0,9994



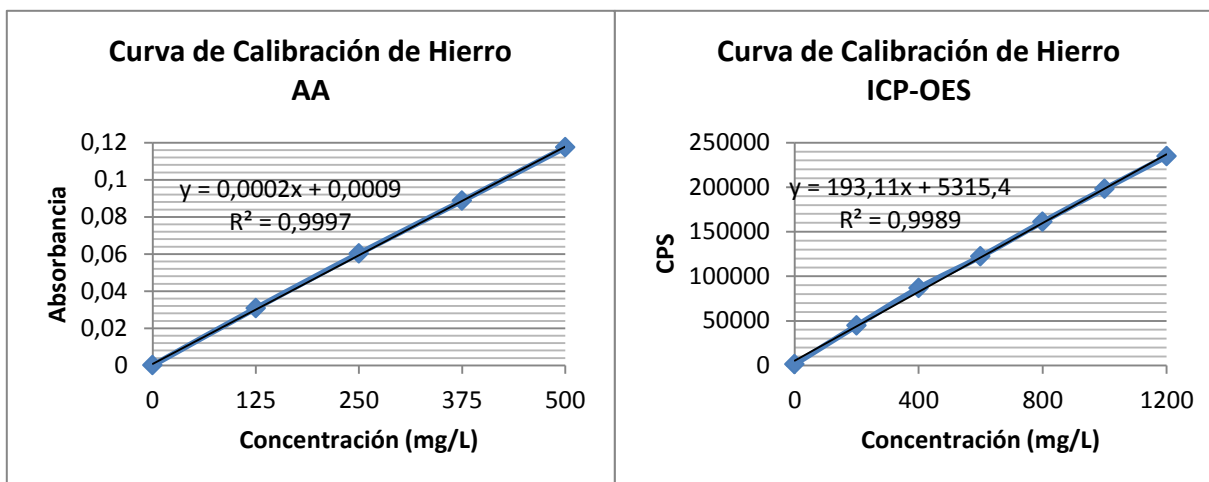
**Figura III.5 Curva de calibración de cobre por AA e ICP-OES**

Las concentraciones de los estándares de cobre fueron directamente proporcionales a la respuesta de los equipos, obteniendo una respuesta lineal con unos coeficientes de correlación muy cercanos a la unidad.

En la Tabla 3.8 se presenta la respuesta de los equipos de AA e ICP-OES, a diferentes concentraciones del estándar de hierro, y sus curvas se representan en la Figura 3.6.

**Tabla III.8 Resultados de linealidad de hierro**

AA		ICP-OES	
Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (Absorbancia)	Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (cps)
0	0,000	0	1166,8
125	0,031	200	44567,6
250	0,060	400	86778,5
375	0,089	600	122112,0
500	0,117	800	161004,4
		1000	198111,0
		1200	234538,9
<i>Ecuación:</i>	$y = 0,0002x + 0,0009$	<i>Ecuación:</i>	$y = 193,11x + 5315,3$
<i>R<sup>2</sup>:</i>	0,9997	<i>R<sup>2</sup>:</i>	0,9989



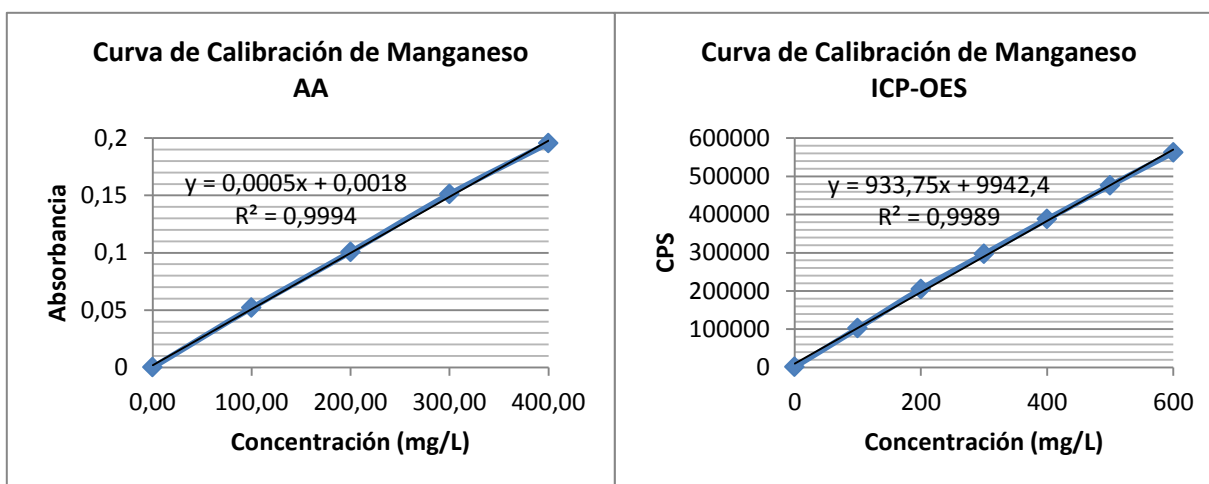
**Figura III.6 Curva de calibración de hierro por AA e ICP-OES**

Las concentraciones de los estándares de hierro fueron directamente proporcionales a la respuesta de los equipos, obteniendo una respuesta lineal con unos coeficientes de correlación muy cercanos a la unidad.

En la Tabla 3.9 se presenta la respuesta de los equipos de AA e ICP-OES, a diferentes concentraciones del estándar de manganeso, y sus curvas se representan en la Figura 3.7.

**Tabla III.9 Resultados de linealidad de manganeso**

AA		ICP-OES	
Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (Absorbancia)	Concentración (mg/L)	Respuesta del Equipo (cps)
0	0,000	0	889,6
100	0,052	100	102219,9
200	0,101	200	204906,3
300	0,151	300	296447,8
400	0,196	400	387670,0
		500	476179,5
		600	562164,7
<i>Ecuación:</i>	$y = 0,0005x + 0,0018$	<i>Ecuación:</i>	$y = 933,75x + 9942,4$
<i>R<sup>2</sup>:</i>	0,9994	<i>R<sup>2</sup>:</i>	0,9989



**Figura III.7 Curva de calibración de manganeso por AA e ICP-OES**

Las concentraciones de los estándares de manganeso fueron directamente proporcionales a la respuesta de los equipos, obteniendo una respuesta lineal con unos coeficientes de correlación muy cercanos a la unidad.

### 3.3 LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN

En la Tabla 3.10 se presenta el límite de detección y el límite de cuantificación que se obtuvo con las lecturas de los blancos de potasio en AA e ICP-OES.

**Tabla III.10 Determinación del límite de detección y cuantificación de potasio**

Blanco	AA (%)	ICP-OES (%)
1	-0,076	0,045
2	-0,078	0,021
3	-0,094	0,027
4	-0,097	0,023
5	-0,083	0,094
6	-0,057	0,066
7	-0,071	0,054
8	-0,063	0,046
9	-0,074	0,034
10	-0,080	0,027
$\bar{X}$	0,077	0,044
$S$	0,012	0,023
$L_D$	0,11	0,11
$L_C$	0,20	0,27

Luego de obtener los límites de detección y cuantificación se realizó la prueba t-Student y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias significativas entre las dos técnicas de análisis, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.11.

**Tabla III.11 Prueba t-Student en potasio**

	Potasio (K)			
	AA	ICP	Valor t	Significancia
<b>L<sub>D</sub></b> (%)	0,11	0,11	0,23	NS
<b>L<sub>C</sub></b> (%)	0,20	0,27	0,39	NS

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el estudio de potasio se determinó que estadísticamente no existen diferencias significativas entre las técnicas de AA e ICP-OES para los límites de detección y cuantificación.

En la Tabla 3.12 se presenta el límite de detección y el límite de cuantificación que se obtuvo con las lecturas de los blancos de calcio en AA e ICP-OES.

**Tabla III.12 Determinación del límite de detección y cuantificación de calcio**

Blanco	AA (%)	ICP-OES (%)
1	-0,053	0,561
2	-0,063	0,521
3	-0,063	0,582
4	-0,089	0,561
5	-0,065	0,539
6	-0,090	0,511
7	-0,092	0,504
8	-0,088	0,479
9	-0,118	0,524
10	-0,093	0,546
<b><math>\bar{x}</math></b>	0,081	0,533
<b>S</b>	0,020	0,031
<b>L<sub>D</sub></b>	0,14	0,63
<b>L<sub>C</sub></b>	0,28	0,84

Luego de obtener los límites de detección y cuantificación se realizó la prueba t-Student y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias significativas entre las dos técnicas de análisis, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.13.

**Tabla III.13 Prueba t-Student en calcio**

	Calcio (Ca)			
	AA	ICP	Valor t	Significancia
<b>L<sub>D</sub> (%)</b>	0,14	0,63	19,19	AS
<b>L<sub>C</sub> (%)</b>	0,28	0,84	6,52	S

**AS:** Altamente significativo; **S:** Significativo; **NS:** No significativo

En el análisis de calcio se pudo establecer que estadísticamente hay diferencias significativas en los límites de detección y cuantificación entre las técnicas en estudio.

En la Tabla 3.14 se presenta el límite de detección y el límite de cuantificación que se obtuvo con las lecturas de los blancos de magnesio en AA e ICP-OES.

**Tabla III.14 Determinación del límite de detección y cuantificación de magnesio**

Blanco	AA (%)	ICP-OES (%)
1	-0,023	0,080
2	-0,020	0,085
3	-0,021	0,018
4	-0,025	0,015
5	-0,026	0,028
6	-0,019	0,022
7	-0,019	0,013
8	-0,019	0,010
9	-0,021	0,072
10	-0,026	0,062
$\bar{x}$	0,022	0,041
S	0,003	0,030
$L_D$	0,03	0,13
$L_C$	0,05	0,34

Luego de obtener los límites de detección y cuantificación se realizó la prueba t-Student y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias significativas entre las dos técnicas de análisis, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.15.

**Tabla III.15 Prueba t-Student en magnesio**

	Magnesio (Mg)			
	AA	ICP	Valor t	Significancia
$L_D$ (%)	0,03	0,13	5,43	AS
$L_C$ (%)	0,05	0,34	4,04	S

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el estudio de magnesio mediante las dos técnicas, AA e ICP-OES, los límites de detección y cuantificación presentan diferencias estadísticamente significativas.

En la Tabla 3.16 se presenta el límite de detección y el límite de cuantificación que se obtuvo con las lecturas de los blancos de zinc en AA e ICP-OES.

**Tabla III.16 Determinación del límite de detección y cuantificación de zinc**

Blanco	AA (%)	ICP-OES (%)
1	0,440	0,139
2	0,594	0,135
3	0,579	0,135
4	0,699	0,136
5	0,504	0,129
6	0,667	0,137
7	0,310	0,136
8	0,416	0,132
9	0,538	0,143
10	0,738	0,138
$\bar{X}$	0,549	0,136
S	0,135	0,004
$L_D$	0,95	0,15
$L_C$	1,90	0,17

Luego de obtener los límites de detección y cuantificación se realizó la prueba t-Student y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias significativas entre las dos técnicas de análisis, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.17.

**Tabla III.17 Prueba t-Student en zinc**

	Zinc (Zn)			
	AA	ICP	Valor t	Significancia
$L_D$ (mg/L)	0,95	0,15	6,99	AS
$L_C$ (mg/L)	1,90	0,17	8,59	AS

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

Luego del análisis de zinc mediante las técnicas de AA e ICP-OES se pudo determinar que tanto los límites de detección como los límites de cuantificación presentan diferencias altamente significativas.

En la Tabla 3.18 se presenta el límite de detección y el límite de cuantificación que se obtuvo con las lecturas de los blancos de cobre en AA e ICP-OES.

**Tabla III.18 Determinación del límite de detección y cuantificación de cobre**

Blanco	AA (%)	ICP-OES (%)
1	2,972	0,315
2	2,130	0,308
3	2,521	0,310
4	2,365	0,304
5	2,206	0,320
6	2,878	0,310
7	2,823	0,288
8	2,174	0,286
9	2,742	0,337
10	2,255	0,302
$\bar{X}$	2,507	0,308
$S$	0,323	0,015
$L_D$	3,47	0,35
$L_C$	5,73	0,46

Luego de obtener los límites de detección y cuantificación se realizó la prueba t-Student y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias significativas entre las dos técnicas de análisis, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.19.

**Tabla III.19 Prueba t-Student en cobre**

	Cobre (Cu)			
	AA	ICP	Valor t	Significancia
<b>L<sub>D</sub> (mg/L)</b>	3,47	0,35	3,17	S
<b>L<sub>C</sub> (mg/L)</b>	5,73	0,46	2,44	NS

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el análisis estadístico de cobre se determinó que los límites de detección entre las técnicas de AA e ICP-OES presentan diferencias significativas, por otra parte los límites de cuantificación no presentan diferencias significativas.

En la Tabla 3.20 se presenta el límite de detección y el límite de cuantificación que se obtuvo con las lecturas de los blancos de hierro en AA e ICP-OES.

**Tabla III.20 Determinación del límite de detección y cuantificación de hierro**

Blanco	AA (%)	ICP-OES (%)
1	1,432	0,441
2	1,569	0,487
3	1,517	0,453
4	1,663	0,472
5	1,305	0,431
6	1,848	0,424
7	1,848	0,420
8	1,633	0,435
9	1,262	0,404
10	1,504	0,369
<b><math>\bar{x}</math></b>	1,558	0,434
<b>S</b>	0,199	0,033
<b>L<sub>D</sub></b>	2,16	0,53
<b>L<sub>C</sub></b>	3,55	0,77

Luego de obtener los límites de detección y cuantificación se realizó la prueba t-Student y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias significativas entre las dos técnicas de análisis, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.21.

**Tabla III.21 Prueba t-Student en hierro**

	<b>Hierro (Fe)</b>			
	<b>AA</b>	<b>ICP</b>	<b>Valor t</b>	<b>Significancia</b>
<b>L<sub>D</sub> (mg/L)</b>	2,16	0,53	2,87	S
<b>L<sub>C</sub> (mg/L)</b>	3,55	0,77	2,25	NS

**AS:** Altamente significativo; **S:** Significativo; **NS:** No significativo

En el análisis estadístico de hierro se determinó que los límites de detección entre las técnicas de AA e ICP-OES presentan diferencias significativas.

En la Tabla 3.22 se presenta el límite de detección y el límite de cuantificación que se obtuvo con las lecturas de los blancos de manganeso en AA e ICP-OES.

**Tabla III.22 Determinación del límite de detección y cuantificación de manganeso**

Blanco	AA (%)	ICP-OES (%)
1	-2,511	0,355
2	-2,646	0,373
3	-2,270	0,364
4	-2,258	0,359
5	-2,623	0,382
6	-2,240	0,364
7	-2,235	0,368
8	-2,164	0,365
9	-2,440	0,364
10	-2,594	0,369
$\bar{x}$	2,398	0,366
S	0,185	0,007
<b>L<sub>D</sub></b>	2,95	0,39
<b>L<sub>C</sub></b>	4,25	0,44

Luego de obtener los límites de detección y cuantificación se realizó la prueba t-Student y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias significativas entre las dos técnicas de análisis, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.23.

**Tabla III.23 Prueba t-Student en manganeso**

	Manganeso (Mn)			
	AA	ICP	Valor t	Significancia
<b>L<sub>D</sub> (mg/L)</b>	2,95	0,39	7,41	AS
<b>L<sub>C</sub> (mg/L)</b>	4,25	0,44	9,73	AS

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

Al calcular los límites de detección y cuantificación de manganeso, y luego del estudio estadístico se determinó que existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis.

### 3.4 PRECISIÓN Y EXACTITUD

En la Tabla 3.24 se presentan los resultados de las mediciones del estudio de precisión y exactitud de potasio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES. La precisión se representó por la desviación estándar de las lecturas, mientras que la exactitud por el porcentaje de recuperación a tres niveles de concentración del analito.

**Tabla III.24 Precisión y exactitud de potasio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES**

Tejido	Técnica	Nivel	Desv. Estándar	% Recuperación
Banano	AA	1	0,05	99,7
		2	0,12	102,1
		3	0,08	104,3
	ICP-OES	1	0,08	102,4
		2	0,11	109,3
		3	0,06	112,4
Palma	AA	1	0,02	108,1
		2	0,02	108,8
		3	0,08	105,4
	ICP-OES	1	0,03	115,0
		2	0,05	116,9
		3	0,09	117,7
Rosas	AA	1	0,06	102,1
		2	0,08	105,3
		3	0,11	106,1
	ICP-OES	1	0,08	115,3
		2	0,08	119,1
		3	0,06	117,9

Luego se realizó el análisis de varianza del porcentaje de recuperación y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias entre las técnicas

utilizadas para el presente estudio, de esta manera se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 3.25.

**Tabla III.25 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de potasio**

<b>% Recuperación de potasio</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F Calculado</b>	<b>Significancia</b>
Repeticiones	2	110,431	1,73	NS
Técnica de análisis	1	143,001	2,24	NS
Tipos de tejidos	2	340,338	5,32	S
Técnica por tejido	2	46,563	0,73	NS
Error	10	63,944		

**AS:** Altamente significativo; **S:** Significativo; **NS:** No significativo

Al realizar el estudio del porcentaje de recuperación entre las técnicas de análisis se determinó que estadísticamente no existen diferencias significativas. Por lo que ambas técnicas son válidas para el uso previsto.

De la misma manera, en la Tabla 3.26 se presentan los resultados de las mediciones del estudio de precisión y exactitud de potasio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.

**Tabla III.26 Precisión y exactitud de calcio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES**

Tejido	Técnica	Nivel	Desv. Estándar	% Recuperación
Banano	AA	1	0,08	112,4
		2	0,06	118,2
		3	0,07	116,1
	ICP-OES	1	0,02	96,4
		2	0,04	93,1
		3	0,03	91,1
Palma	AA	1	0,04	102,7
		2	0,06	106,7
		3	0,09	104,0
	ICP-OES	1	0,04	100,3
		2	0,08	94,8
		3	0,14	91,3
Rosas	AA	1	0,11	103,5
		2	0,13	106,1
		3	0,09	109,1
	ICP-OES	1	0,02	101,3
		2	0,04	96,0
		3	0,07	92,1

Luego de obtener las desviaciones estándar y los porcentajes de recuperación respectivos, se realizó el análisis de varianza y prueba de significancia para determinar si existen diferencias entre las técnicas en estudio, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.27.

**Tabla III.27 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de calcio**

% Recuperación de calcio				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	42,543	2,48	NS
Técnica de análisis	1	253,331	14,75	S
Tipos de tejidos	2	23,484	1,37	NS
Técnica por tejido	2	20,080	1,17	NS
Error	10	17,170		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

Al evaluar el porcentaje de recuperación entre las técnicas de análisis de calcio se determinó que existen diferencias significativas entre AA e ICP-OES, por otra parte, el tipo de tejido vegetal no influyó en el estudio de exactitud de calcio.

En la Tabla 3.28 se presentan los resultados de las mediciones del estudio de precisión y exactitud de magnesio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.

**Tabla III.28 Precisión y exactitud de magnesio en tejidos vegetales por AA e ICP-OES**

Tejido	Técnica	Nivel	Desv. Estándar	% Recuperación
Banano	AA	1	0,01	85,0
		2	0,00	83,4
		3	0,02	81,9
	ICP-OES	1	0,01	104,8
		2	0,02	105,0
		3	0,01	105,3
Palma	AA	1	0,01	84,1
		2	0,01	80,8
		3	0,01	75,3
	ICP-OES	1	0,01	108,3
		2	0,02	105,3
		3	0,04	102,9
Rosas	AA	1	0,01	91,1
		2	0,01	86,5
		3	0,01	85,5
	ICP-OES	1	0,02	109,8
		2	0,02	106,6
		3	0,02	104,0

Luego se realizó el análisis de varianza del porcentaje de recuperación y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias entre las técnicas

utilizadas para el presente estudio, de esta manera se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 3.29.

**Tabla III.29 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de magnesio**

<b>% Recuperación de magnesio</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F Calculado</b>	<b>Significancia</b>
Repeticiones	2	17,256	6,63	S
Técnica de análisis	1	2296,791	882,07	AS
Tipos de tejidos	2	22,679	8,71	S
Técnica por tejido	2	13,041	5,01	S
Error	10	2,604		

**AS:** Altamente significativo; **S:** Significativo; **NS:** No significativo

Al realizar el estudio del porcentaje de recuperación se determinó que existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis de magnesio.

En la Tabla 3.30 se presentan los resultados del estudio de precisión y exactitud de zinc en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.

**Tabla III.30 Precisión y exactitud de zinc en tejidos vegetales por AA e ICP-OES**

Tejido	Técnica	Nivel	Desv. Estándar	% Recuperación
Banano	AA	1	4,92	106,1
		2	3,90	108,5
		3	1,02	113,2
	ICP-OES	1	2,79	118,0
		2	4,47	117,3
		3	3,93	115,6
Palma	AA	1	0,51	108,4
		2	3,44	124,8
		3	5,86	107,5
	ICP-OES	1	1,46	119,1
		2	1,49	114,5
		3	5,11	108,0
Rosas	AA	1	1,90	105,0
		2	4,73	109,5
		3	4,33	111,3
	ICP-OES	1	1,51	110,6
		2	3,05	103,4
		3	4,83	100,2

Luego de obtener las desviaciones estándar y los porcentajes de recuperación respectivos, se realizó el análisis de varianza y prueba de significancia para determinar si existen diferencias entre las técnicas en estudio, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.31.

**Tabla III.31 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de zinc**

% Recuperación de zinc				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	30,073	0,43	NS
Técnica de análisis	1	127,158	1,80	NS
Tipos de tejidos	2	384,518	5,44	S
Técnica por tejido	2	30,878	0,44	NS
Error	10	70,703		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

Al realizar el estudio del porcentaje de recuperación se determinó que estadísticamente no existen diferencias significativas entre las técnicas de análisis. Por lo que ambas técnicas son válidas para el uso previsto.

En la Tabla 3.32 se presentan los resultados del estudio de precisión y exactitud de cobre en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.

**Tabla III.32 Precisión y exactitud de cobre en tejidos vegetales por AA e ICP-OES**

Tejido	Técnica	Nivel	Desv. Estándar	% Recuperación
Banano	AA	1	1,97	129,1
		2	4,14	131,5
		3	8,73	124,9
	ICP-OES	1	0,81	118,3
		2	2,10	111,3
		3	3,87	106,9
Palma	AA	1	3,17	127,9
		2	3,17	131,6
		3	6,45	136,2
	ICP-OES	1	4,75	120,1
		2	5,47	112,0
		3	9,61	107,2
Rosas	AA	1	2,03	125,8
		2	2,68	136,1
		3	2,76	130,8
	ICP-OES	1	1,33	113,3
		2	7,13	109,2
		3	3,40	104,6

Luego se realizó el análisis de varianza del porcentaje de recuperación y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias entre las técnicas

utilizadas para el presente estudio, de esta manera se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 3.33.

**Tabla III.33 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de cobre**

% Recuperación de cobre				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	75,264	1,75	NS
Técnica de análisis	1	464,738	10,79	S
Tipos de tejidos	2	25,444	0,59	NS
Técnica por tejido	2	31,501	0,73	NS
Error	10	43,082		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

Al evaluar el porcentaje de recuperación entre las técnicas de análisis de cobre se determinó que existen diferencias significativas entre AA e ICP-OES, por otra parte, el tipo de tejido vegetal no influyó en el estudio de exactitud de cobre.

En la Tabla 3.34 se presentan los resultados del estudio de precisión y exactitud de hierro en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.

**Tabla III.34 Precisión y exactitud de hierro en tejidos vegetales por AA e ICP-OES**

Tejido	Técnica	Nivel	Desv. Estándar	% Recuperación
Banano	AA	1	6,74	96,0
		2	9,27	106,0
		3	6,23	110,9
	ICP-OES	1	3,36	108,3
		2	8,98	103,3
		3	2,59	98,9
Palma	AA	1	9,22	93,1
		2	3,87	112,7
		3	9,08	100,5
	ICP-OES	1	7,57	106,9
		2	5,85	103,7
		3	6,71	99,9
Rosas	AA	1	5,45	100,8
		2	9,57	100,9
		3	7,49	108,7
	ICP-OES	1	6,05	109,2
		2	6,82	105,6
		3	8,67	97,6

Luego de obtener las desviaciones estándar y los porcentajes de recuperación respectivos, se realizó el análisis de varianza y prueba de significancia para determinar si existen diferencias entre las técnicas en estudio, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.35.

**Tabla III.35 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de hierro**

% Recuperación de hierro				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	433,011	2,22	NS
Técnica de análisis	1	753,587	3,87	NS
Tipos de tejidos	2	293,968	1,51	NS
Técnica por tejido	2	289,665	1,49	NS
Error	10	194,636		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

Al evaluar el porcentaje de recuperación entre las técnicas de análisis se determinó que estadísticamente no existen diferencias significativas para hierro. De la misma manera el tipo de tejido no influye en la exactitud de las metodologías.

En la Tabla 3.36 se presentan los resultados del estudio de precisión y exactitud de manganeso en tejidos vegetales por AA e ICP-OES.

**Tabla III.36 Precisión y exactitud de manganeso en tejidos vegetales por AA e ICP-OES**

Tejido	Técnica	Nivel	Desv. Estándar	% Recuperación
Banano	AA	1	2,91	103,4
		2	3,20	109,9
		3	7,57	107,8
	ICP-OES	1	2,45	101,4
		2	3,29	100,1
		3	4,31	99,5
Palma	AA	1	1,97	112,9
		2	5,07	108,7
		3	6,77	102,6
	ICP-OES	1	1,52	110,1
		2	5,94	105,0
		3	6,28	103,3
Rosas	AA	1	4,73	105,0
		2	6,91	104,1
		3	9,68	106,4
	ICP-OES	1	3,04	107,9
		2	2,46	104,8
		3	4,51	102,4

Luego se realizó el análisis de varianza del porcentaje de recuperación y la prueba de significancia para determinar, estadísticamente, si existen diferencias entre las técnicas

utilizadas para el presente estudio, de esta manera se obtuvieron los resultados que se muestran en la Tabla 3.37.

**Tabla III.37 Análisis estadístico del porcentaje de recuperación de manganeso**

<b>% Recuperación de manganeso</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F Calculado</b>	<b>Significancia</b>
Repeticiones	2	115,627	6,77	S
Técnica de análisis	1	104,586	6,12	S
Tipos de tejidos	2	20,680	1,21	NS
Técnica por tejido	2	1,453	0,09	NS
Error	10	17,090		

**AS:** Altamente significativo; **S:** Significativo; **NS:** No significativo

Al realizar el estudio de la varianza del porcentaje de recuperación se determinó que estadísticamente existen diferencias significativas entre las técnicas de análisis de manganeso.

De manera general se presentan los valores promedio de la desviación estándar y el porcentaje de recuperación obtenidos en los diferentes ensayos de precisión y exactitud. Se fijó como criterio de aceptación  $\pm 25\%$  de recuperación para los resultados de exactitud en cada analito estudiado, por lo que los parámetros son válidos para nuestro uso.

Adicionalmente se determinó la exactitud de nuestro método con la lectura por triplicado del Material de Referencia Certificado (Standard Reference Material 1515, Apple Leaves, NIST) para cada analito en estudio, obteniendo los resultados que se muestran en la Tabla 3.38.

**Tabla III.38 Estudio de exactitud en el Material de Referencia Certificado (MRC)**

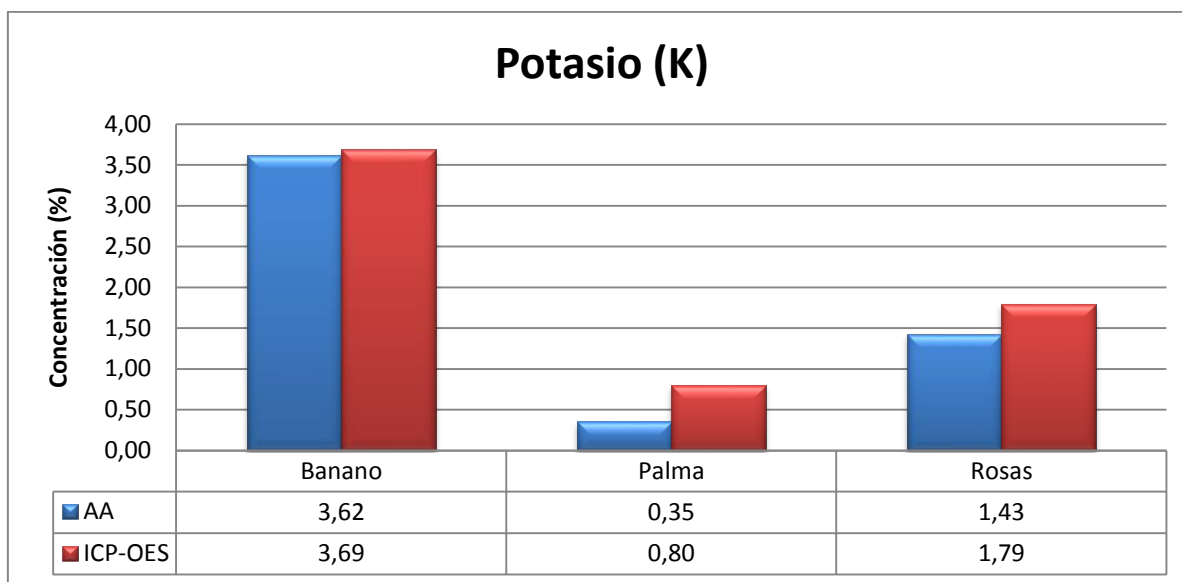
Analito	MRC	AA		ICP-OES	
		Lecturas	% Recuperación	Lecturas	% Recuperación
Potasio (%)	1,61	1,56	96,8	1,57	97,6
		1,58	98,1	1,62	100,4
		1,54	95,8	1,63	100,9
Calcio (%)	1,526	1,50	98,4	1,30	85,1
		1,48	97,2	1,23	80,7
		1,45	95,0	1,32	86,2
Magnesio (%)	0,271	0,27	100,4	0,24	88,4
		0,28	102,2	0,25	93,1
		0,27	99,8	0,25	91,9
Zinc (mg/L)	12,5	11,60	92,8	8,70	69,6
		11,50	92,0	8,50	68,0
		11,81	94,5	12,50	100,0
Cobre (mg/L)	5,64	5,51	97,7	4,50	79,8
		5,70	101,1	5,30	94,0
		5,08	90,0	4,00	70,9
Hierro (mg/L)	83	86,11	103,7	83,50	100,6
		86,10	103,7	80,40	96,9
		82,13	99,0	77,30	93,1
Manganeso (mg/L)	54	55,65	103,1	45,70	84,6
		54,13	100,2	45,90	85,0
		55,28	102,4	45,30	83,9

El zinc y el cobre presentaron dificultad para el análisis por ICP-OES ya que estos elementos en el material de referencia se encuentran en bajas concentraciones.

### **3.5 CUANTIFICACIÓN DE MACRO Y MICRO-NUTRIENTES CATIÓNICOS EN TEJIDOS VEGETALES DE BANANO, PALMA Y ROSAS**

Luego de la evaluación del método se realizó la determinación de macro y micro-nutrientes catiónicos en las muestras de tejidos vegetales de banano, palma y rosas.

En la figura 3.8 se presentan las concentraciones de potasio en los tejidos vegetales de banano, palma y rosas, analizados por AA e ICP-OES.



**Figura III.8 Potasio en muestras de tejido vegetal**

Además se realizó el análisis estadístico de las concentraciones obtenidas para determinar si existen diferencias entre las técnicas utilizadas en el presente estudio, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 3.39.

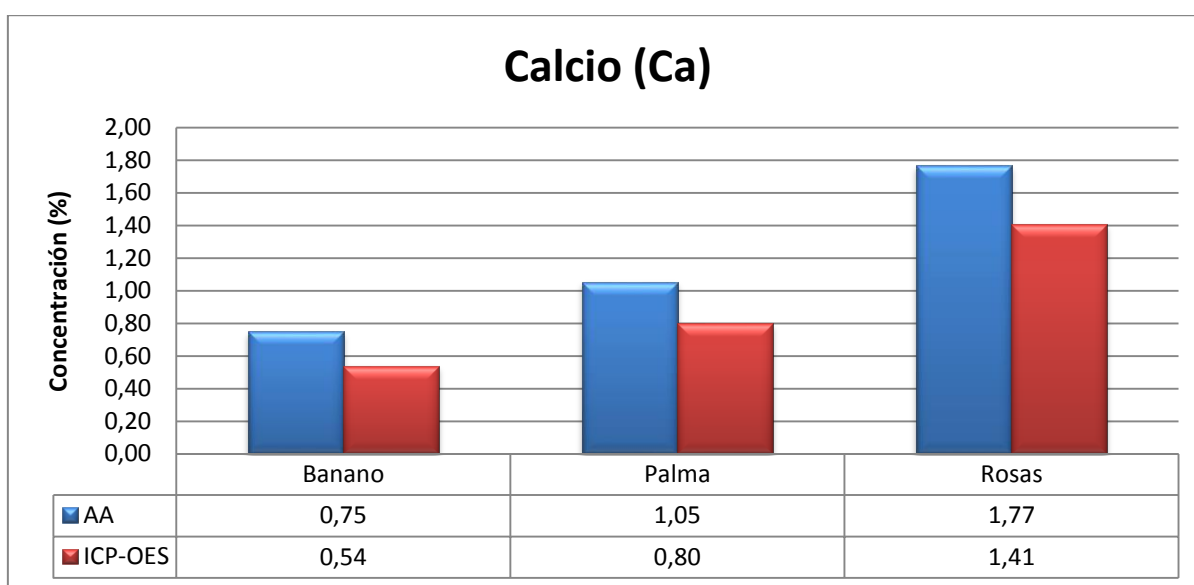
**Tabla III.39 Análisis de la concentración de potasio**

Concentración de potasio				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	0,043	0,68	NS
Técnica de análisis	1	0,383	6,05	S
Tipos de tejidos	2	14,749	233,06	AS
Técnica por tejido	2	0,056	0,88	NS
Error	10	0,063		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

Con los resultados obtenidos en el análisis de varianza se pudo determinar que, estadísticamente, existen diferencias significativas entre las técnicas de análisis de potasio en los tejidos vegetales utilizados en el presente estudio.

En la figura 3.9 se presentan las concentraciones de calcio en los tejidos vegetales de banano, palma y rosas, analizados por AA e ICP-OES.



**Figura III.9 Calcio en muestras de tejido vegetal**

Luego de determinar la concentración de calcio en las muestras de tejido foliar, se evaluó si existen diferencias entre las técnicas utilizadas en el presente estudio, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 3.40.

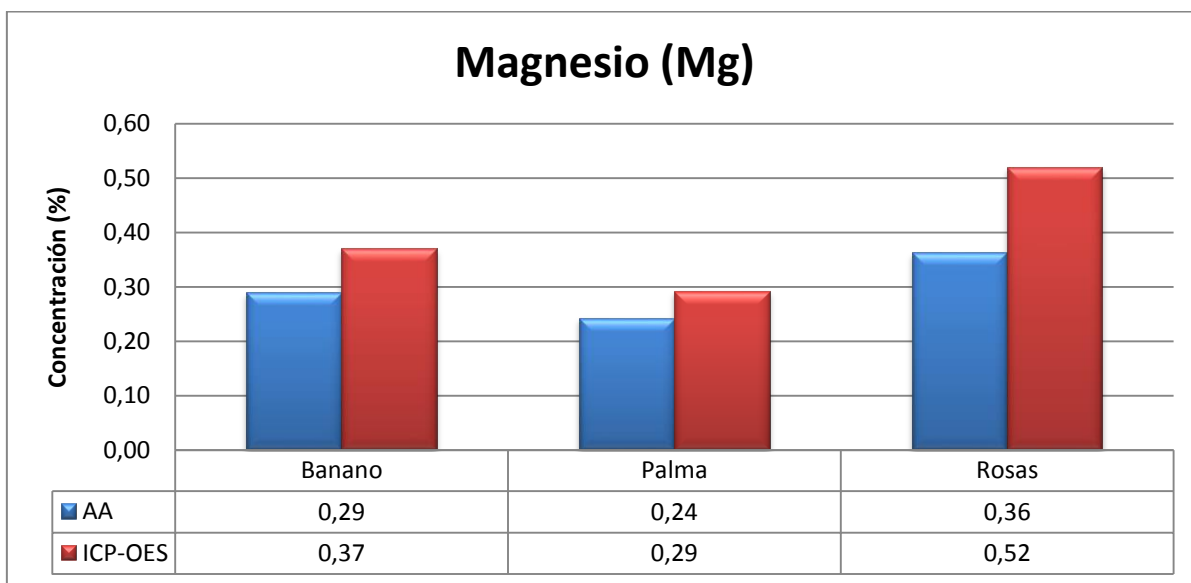
**Tabla III.40 Análisis de la concentración de calcio**

Concentración de calcio				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	0,006	0,47	NS
Técnica de análisis	1	0,345	29,45	AS
Tipos de tejidos	2	1,406	120,18	AS
Técnica por tejido	2	0,009	0,76	NS
Error	10	0,012		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el estudio de la concentración de calcio se pudo determinar que existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis de tejido vegetal de banano, palma y rosas.

En la figura 3.10 se presentan las concentraciones de magnesio en los tejidos vegetales de banano, palma y rosas, analizados por AA e ICP-OES.



**Figura III.10 Magnesio en muestras de tejido vegetal**

Se realizó el análisis estadístico de las concentraciones obtenidas para determinar si existen diferencias entre las técnicas utilizadas en el presente estudio, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 3.41.

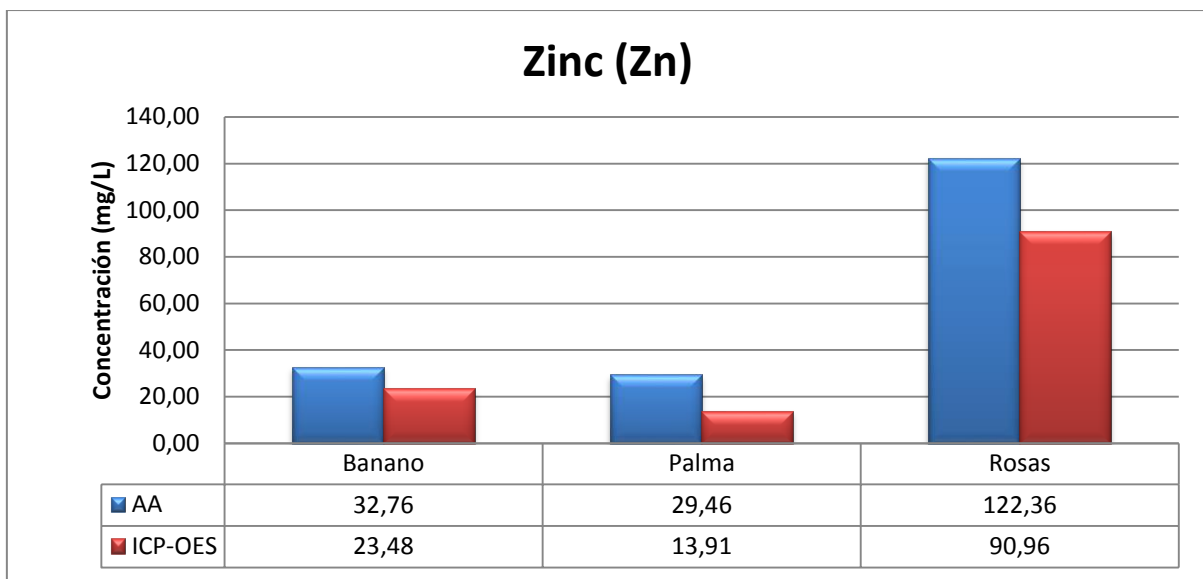
**Tabla III.41 Análisis de la concentración de magnesio**

<b>Concentración de magnesio</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F Calculado</b>	<b>Significancia</b>
Repeticiones	2	0,002	7,76	S
Técnica de análisis	1	0,041	150,29	AS
Tipos de tejidos	2	0,047	170,20	AS
Técnica por tejido	2	0,005	16,60	AS
Error	10	0,000		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el análisis de varianza se pudo determinar que, estadísticamente, existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis de magnesio en los tejidos vegetales utilizados en el presente estudio.

En la figura 3.11 se presentan las concentraciones de zinc en los tejidos vegetales de banano, palma y rosas, analizados por AA e ICP-OES.



**Figura III.11 Zinc en muestras de tejido vegetal**

Luego de determinar la concentración de zinc en las muestras de tejido foliar, se evaluó si existen diferencias entre las técnicas utilizadas en el presente estudio, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 3.42.

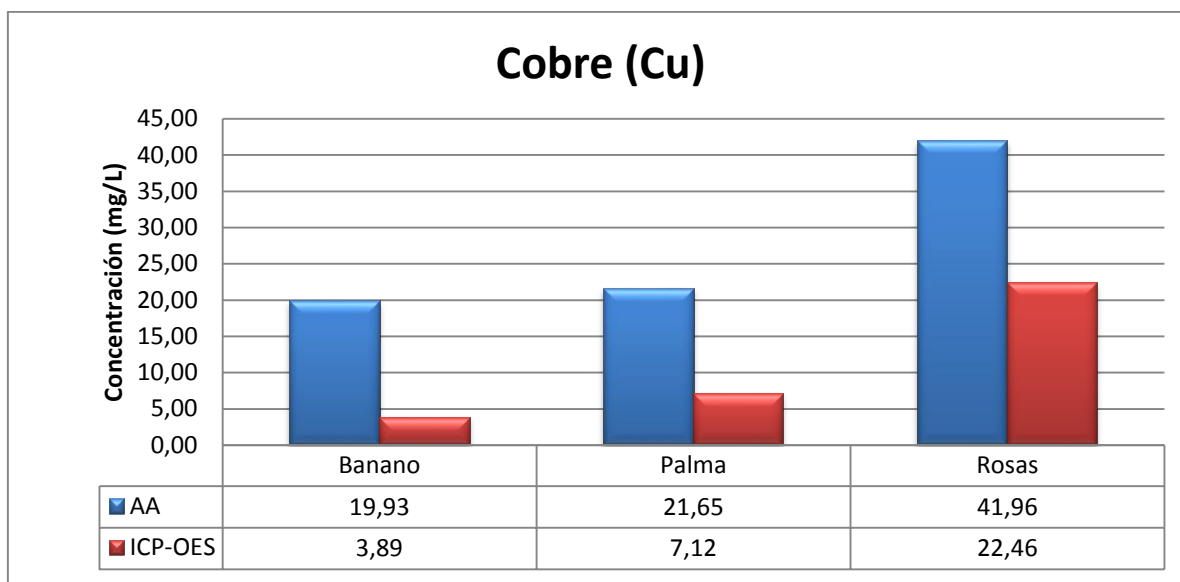
**Tabla III.42 Análisis de la concentración de zinc**

Concentración de zinc				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	437,788	2,08	NS
Técnica de análisis	1	4492,593	21,36	AS
Tipos de tejidos	2	15803,601	75,14	AS
Técnica por tejido	2	60,445	0,29	NS
Error	10	210,310		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el estudio de la concentración de zinc se pudo determinar que existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis de tejido vegetal por AA e ICP-OES.

En la figura 3.12 se presentan las concentraciones de cobre en los tejidos vegetales de banano, palma y rosas, analizados por AA e ICP-OES.



**Figura III.12 Cobre en muestras de tejido vegetal**

Se realizó el análisis estadístico de las concentraciones obtenidas para determinar si existen diferencias entre las técnicas utilizadas en el presente estudio, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 3.43.

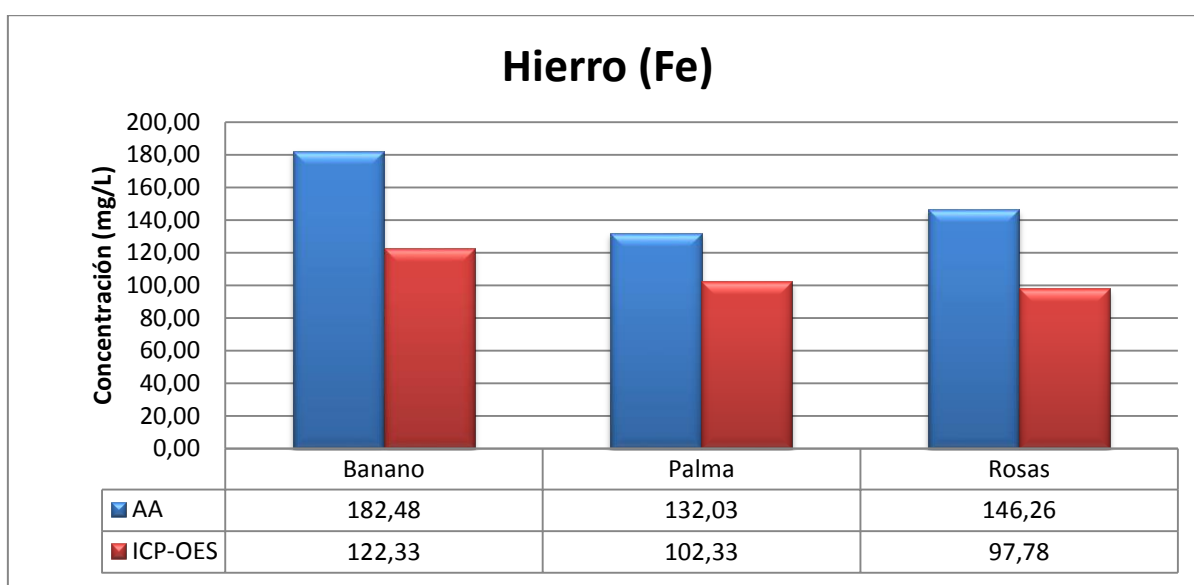
**Tabla III.43 Análisis de la concentración de cobre**

Concentración de cobre				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	1,163	0,32	NS
Técnica de análisis	1	1310,333	363,60	AS
Tipos de tejidos	2	693,957	192,56	AS
Técnica por tejido	2	15,064	4,18	S
Error	10	3,604		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el análisis de varianza se pudo determinar que, estadísticamente, existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis de cobre en los tejidos vegetales utilizados en el presente estudio.

En la figura 3.13 se presentan las concentraciones de hierro en los tejidos vegetales de banano, palma y rosas, analizados por AA e ICP-OES.



**Figura III.13 Hierro en muestras de tejido vegetal**

Luego de determinar la concentración de hierro en las muestras de tejido foliar, se evaluó si existen diferencias entre las técnicas utilizadas en el presente estudio, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 3.44.

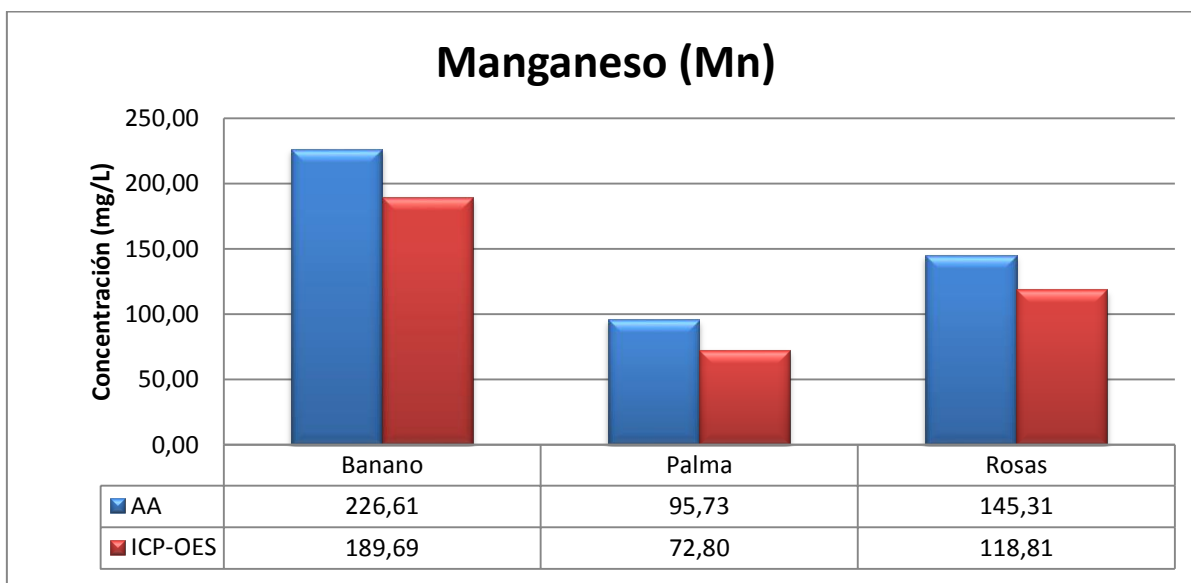
**Tabla III.44 Análisis de la concentración de hierro**

Concentración de hierro				
Fuente de variación	Grados de libertad	Cuadrado de la media	F Calculado	Significancia
Repeticiones	2	4785,785	7,65	S
Técnica de análisis	1	14148,797	22,62	AS
Tipos de tejidos	2	885,460	1,42	NS
Técnica por tejido	2	85,390	0,14	NS
Error	10	625,466		

AS: Altamente significativo; S: Significativo; NS: No significativo

En el estudio de la concentración de hierro se pudo determinar que existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis de tejido vegetal de banano, palma y rosas.

En la figura 3.14 se presentan las concentraciones de manganeso en los tejidos vegetales de banano, palma y rosas, analizados por AA e ICP-OES.



**Figura III.14 Manganeso en muestras de tejido vegetal**

Además se realizó el análisis estadístico de las concentraciones obtenidas para determinar si existen diferencias entre las técnicas utilizadas en el presente estudio, obteniendo los resultados que se presentan en la Tabla 3.45.

**Tabla III.45 Análisis de la concentración de manganeso**

<b>Concentración de manganeso</b>				
<b>Fuente de variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Cuadrado de la media</b>	<b>F Calculado</b>	<b>Significancia</b>
Repeticiones	2	221,714	2,67	NS
Técnica de análisis	1	4223,193	50,89	AS
Tipos de tejidos	2	24128,239	290,77	AS
Técnica por tejido	2	131,866	1,59	NS
Error	10	82,981		

**AS:** Altamente significativo; **S:** Significativo; **NS:** No significativo

Mediante el análisis de la concentración de manganeso se determinó que, estadísticamente, existen diferencias altamente significativas entre las técnicas de análisis de tejidos vegetales por AA e ICP-OES.

## **CAPÍTULO IV**

### **CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES**

#### **4.1 CONCLUSIONES**

Se ha desarrollado un método analítico que permite utilizar la técnica ICP-OES, espectroscopia de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica, para el análisis multielemental simultáneo de macro y micro-nutrientes en tejidos foliares de banano, palma y rosas.

La técnica ICP-OES permite reducir los tiempos de análisis, de esta manera se puede mejorar la productividad del laboratorio en cuanto a número de muestras procesadas en función del tiempo, y disminuir el uso de reactivos en la preparación de muestras.

La técnica propuesta para determinar macro y micro-nutrientes catiónicos en tejidos vegetales de banano, palma y rosas, por espectroscopía de emisión por acoplamiento de plasma inductivo y detección óptica (ICP-OES), presenta linealidad en las concentraciones de estudio y los porcentajes de recuperación del ensayo de exactitud están dentro de los criterios de aceptación del laboratorio.

Con el uso del ICP-OES se incrementaron las concentraciones en las curvas de calibración con respecto a las que se venían utilizando en el equipo de Absorción Atómica, esto permite

mejorar los tiempos de respuesta ya que al tener un amplio rango de concentraciones se reducirán las diluciones de las muestras con altas concentraciones.

En la digestión ácida se obtuvo una disolución clara, pero no incolora, debido a la permanencia de óxidos de nitrógeno en la disolución. En algunos casos se observó también la presencia de sílice como un sólido amorfo. Sin embargo, no presentaron interferencias ya que las muestras fueron atomizadas efectivamente en el ICP debido a la alta temperatura generada por el plasma.

Pese a que existió variabilidad en los resultados, las metodologías cumplen de manera general con el criterio establecido, a excepción del análisis de micro-nutrientes en palma, ya que al ser ésta, una planta oleaginosa, presenta una reacción violenta al momento de la digestión ácida, por lo que se puede perder o contaminar la muestra.

Al realizar el análisis de varianza de las concentraciones de macro y micro-nutrientes en tejidos vegetales de banano, palma y rosas, se concluyó que existen diferencias estadísticas entre las técnicas de AA e ICP-OES, por lo que se debería realizar un estudio para determinar cuál técnica es la más adecuada para el análisis foliar.

## **4.2 RECOMENDACIONES**

Las exigencias ambientales y de investigación de hoy en día, que amplían el enfoque tradicionalmente dado al análisis foliar, requieren el empleo de técnicas analíticas más sofisticadas. Técnicas que sean capaces de combinar altas capacidades de análisis

multielemental y ámbitos amplios de trabajo lineal, como lo ofrece el ICP, con límites de detección excepcionales, como los que pueden alcanzarse con un horno de grafito en Absorción Atómica.

Para mejorar los resultados obtenidos en la determinación de K, Ca e incluso de Fe, se debe reemplazar las condiciones “normales” de trabajo del equipo por otras que permitan generar un plasma a una menor temperatura. Una opción es disminuir el poder de radiofrecuencia. El objetivo de emplear un “plasma frío” es reducir el ruido poliatómico espectral asociado mayormente con especies provenientes del argón, y que causan interferencias en las señales propias de los elementos anteriormente mencionados.

Para mejorar el proceso de digestión se puede utilizar un sistema digestor de microondas con contenedores de teflón, lo cual reduciría la cantidad de  $\text{HNO}_3$  empleado, minimizaría las pérdidas por volatilización y, de ser necesario, permitiría la utilización de HF para eliminar los residuos de sílice formados.

Se recomienda realizar un análisis financiero detallado de la relación costo/beneficio al utilizar la metodología ICP-OES, ya que podría representar un gasto elevado sino se tiene la demanda necesaria de muestras que justifiquen dicho análisis.

Como consecuencia de la contaminación de los suelos, del aire, de las aguas e incluso como producto de fumigaciones y fertilizaciones directas, es posible que se dé la acumulación de elementos tóxicos en los tejidos de las plantas, de ahí la importancia de llevar a cabo análisis foliares para evaluar la concentración de los mismos. De esta manera, el análisis foliar también

es empleado como práctica preventiva y de control de calidad, además de ser utilizado como índice de contaminación ambiental.

El análisis foliar generalmente se complementa con un estudio de la fertilidad y de las propiedades del suelo. La realización de un análisis de suelos complementario al análisis foliar es de mucha importancia, ya que se espera que exista una relación directa entre la proporción existente de los contenidos nutricionales en el suelo y en las hojas y la razón entre dichos contenidos y el rendimiento de la planta.

## BIBLIOGRAFÍA

- [1] Malavolta, E., Vitti, G.C. y De Oliveira, S.A. (1989). *Avaliação do estado nutricional das plantas, Princípios e Aplicações*, Associação Brasileira para Pesquisa da Potassa e do Fosfato, Piracicaba.
- [2] Westerman, R.L. (ed) (1990). *Soil testing and plant analysis*, 3<sup>rd</sup> ed, SSSA Book Ser. 3, SSSA, Madison, WI.
- [3] Bertsch, F. (2003). *Absorción de nutrimentos por los cultivos*, Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo, San José.
- [4] Silva, F. (2001). *Fertilidad de Suelos: Diagnóstico y Control*, 2<sup>da</sup> ed., Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Bogotá.
- [5] Instituto Colombiano Agropecuario, *El análisis de suelos, plantas y aguas para riego*, ICA, Manual de Asistencia Técnica N° 47.
- [6] Ulrich, A. (1972). Plant Tissue Analysis. Analysis as guide in fertilizing crops, In: *Soil and plant tissue testing in California*. Div. gr. Sci. Bull 18-79.
- [7] Briceño, J. and Pacheco, R. (1984). *Métodos Analíticos para el Estudio de Suelo y Plantas*, 2<sup>a</sup> edición, Oriston, Costa Rica.
- [8] Alvarado, A.L. Yglesias, J.M. y Güel, O. (2005). Análisis Multielemental de Material Foliar por medio de ICP-MS, [http://www.mag.go.cr/rev\\_agr/v29n01\\_017.pdf](http://www.mag.go.cr/rev_agr/v29n01_017.pdf), 27 de enero de 2009.

- [9] Boss, C.B. y Fredeen, K.J. (1997). *Concepts, Instrumentation, and Techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry*, 2<sup>nd</sup> ed, The Perkin-Elmer Corporation, U.S.A.
- [10] Cid, S., Los nutrientes en el compost, <http://www.compostadores.com/v3/castellano/articulos/detalles.asp?ArticulosID=63>, 4 de mayo de 2009.
- [11] Jones, B.J. Wolf, B. y Mills, H.A. (1991). *Plant Analysis Handbook*, Micro – Macro Publishing, Inc., USA.
- [12] Wallace, A. 1971. Calcium as a micronutrient for higher plants, pp. 190-191. IN: A. Wallace (ed.) *Regulation of the micronutrient status of plants by chelating agents and other factors*, Los Angeles.
- [13] Westfall D. G, Whitney D. M. (1990). Plant Analysis as an aid in fertilizing small grain, En: *Soil Testing and Plant Analysis*, 3<sup>a</sup> edición. – SSSA Book Series, n° 3. Soil Society of America, Madison, Wisconsin, USA.
- [14] Germinia, Nutrición de las plantas, [http://www.germinia.cl/index2.php?option=com\\_content&do\\_pdf=1&id=113](http://www.germinia.cl/index2.php?option=com_content&do_pdf=1&id=113), 4 de mayo de 2009.
- [15] López Ritas, J. (1972). *El diagnóstico de suelos y plantas (Métodos de campo y laboratorio)*, 2<sup>a</sup> ed., Ediciones Mundi-Prensa, Madrid.
- [16] Mengel, K. and Kirkby, E. A. (2000). Nutrición de las plantas, En; *IIP*, 2<sup>a</sup> edición, capítulo 5, Justes E. INRA, Basilea, Suiza.
- [17] Clavijo, P. J. (1994), *Metabolismo de los nutrientes en las plantas*, Fertilidad 4<sup>a</sup> edición, SCCS, Colombia.

- [18] Silva Mojica, F. (2001). *Fertilidad de Suelos: Diagnóstico y Control*. 2da ed., Sociedad Colombiana de la Ciencia del Suelo, Bogotá, págs. 29-52.
- [19] Servicio de Información y Censo Agropecuario (SICA). Estudios Estratégicos: La Agricultura en el Ecuador, [http://www.sica.gov.ec/cadenas/aceites/docs/la\\_agricultura\\_en\\_el\\_ecuador.htm](http://www.sica.gov.ec/cadenas/aceites/docs/la_agricultura_en_el_ecuador.htm), 18 de Enero de 2009.
- [20] Núñez Álvarez, R. (1989), *El Cultivo del Banano*, Ministerio de Agricultura y Ganadería. Programa Nacional del Banano. Sección Cooperativas.
- [21] Asociación de Exportadores de Banano del Ecuador, Historia del Banano, <http://www.aebe.com.ec/Desktop.aspx?Id=14>, 02 de abril de 2011.
- [22] Ledesma, E. La Industria Bananera Ecuatoriana Año 2010, [http://www.aebe.com.ec/data/files/noticias/Noticias2011/AEBE/INDUSTRIA\\_BANA\\_NERA\\_2010\\_act\\_enero\\_2011.pdf](http://www.aebe.com.ec/data/files/noticias/Noticias2011/AEBE/INDUSTRIA_BANA_NERA_2010_act_enero_2011.pdf), 04 de mayo de 2011.
- [23] Lopez A., Espinosa J. (2000). *Manual on the nutrition and fertilization of banana*. Potash & Phosphate Institute & Corporación Bananera Nacional. Costa Rica.
- [24] Buitrón C., R. (2000). El caso de Ecuador: ¿El paraíso en siete años?, En: *El amargo fruto de la palma aceitera: despojo y deforestación*, Movimiento mundial por los bosques tropicales, Montevideo.
- [25] Sector Industrial, (2009), *La industria aceitera se fortifica*. Quito, Ecuador.
- [26] Banco Central del Ecuador – Ancupa. (2006). Aceite de Palma y Soya en la Industria Ecuatoriana, <http://www.sica.gov.ec/cadenas/aceites/docs/ANALISIS.htm>, 20 de febrero de 2011.

- [27] Federación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite. La palma de aceite, <http://www.fedepalma.org/palma.htm>, 04 de mayo de 2011.
- [28] Erodata S.A. (2010). El cultivo de palma africana, [http://www.ecuaquimica.com.ec/index.php?option=com\\_content&task=view&id=27&Itemid=28&tit=Palma%20Africana&lang](http://www.ecuaquimica.com.ec/index.php?option=com_content&task=view&id=27&Itemid=28&tit=Palma%20Africana&lang), 20 de febrero de 2011.
- [29] Expoflores, (2014). *Evolución de las Exportaciones de Flores del Ecuador. Análisis de las exportaciones al 2013*. Quito, Ecuador.
- [30] Cevallos, M.A. (2006). *Competitividad del sector floricultor ecuatoriano en el mercado internacional durante el periodo 2000-2004*. Proyecto previo a la obtención del título de ingeniero en ciencias económicas y financieras, Escuela Politécnica Nacional, Ecuador.
- [31] Servicio de Información y Censo Agropecuario (SICA), (2005). *Análisis sobre el cultivo de flores (III Censo Nacional Agropecuario)*.
- [32] Infoagro. El cultivo de las rosas para corte (1ª Parte), <http://www.infoagro.com/flores/flores/rosas.htm>, 27 de febrero de 2011.
- [33] Da Silva, F.C. (2009). *Manual de análisis químicas de solos, plantas e fertilizantes*, 2ª ed., Embrapa Informação Tecnológica, Brasília, DF.
- [34] Molina, E. Análisis Foliar y su Interpretación, <http://www.aminogrowinternacional.com/ARTICULOS/FOLIAR-AMINOGROW.pdf>, 20 de febrero de 2010.
- [35] Willard H., Merritt L., Dean J. y Settle F. (1990). *Métodos Instrumentales de Análisis*, 1ª edición, Continental S.A., México.

- [36] Rubinson, K.A., y Rubinson, J.F. (2001). *Análisis Instrumental*, Pearson Educación S.A., Madrid.
- [37] Skoog, D., West, M. (2000). , *Análisis Instrumental*, 6ª edición, ed Interamericana, México.
- [38] Olsen, E. D., (1990). *Métodos Ópticos de Análisis*. Editorial Reverté S.A. McGraw – Hill, Barcelona.
- [39] Jaramillo, G., (2005). *Determinación de Plomo en Chocho que se Expende en la Vía Pública por Espectrofotometría de Absorción Atómica*. Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
- [40] Universidad Politécnica de Catalunya. Lámparas de descarga. Conceptos, <http://edison.upc.es/curs/llum/lamparas/ldesc1.html>, 03 de junio de 2010.
- [41] Villavicencio, J., (2004). *Determinación de sodio y potasio en alimentos balanceados por espectrofotometría de absorción atómica*. Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
- [42] Skoog, D. A., Holler, F. J., Nieman, (1998). *Instrumental Analysis*, 5ª edición, McGraw – Hill, México.
- [43] Walton, H., Reyes, J., (1983). *Análisis Químico e Instrumental Moderno*, Editorial Reverté S.A., Barcelona.
- [44] Dekker M., (1990). *Analytical Instrumentation Handbook*, Galen Wood Ewing, New York.
- [45] De Rafael y Coto, D. (2008). *Validación y Cálculo de Incertidumbres*. Programa de capacitación. CORPEI. Quito-Ecuador.

- [46] Instituto Nacional Autónomo de Investigaciones Agropecuarias (INIAP). (2008). *Tecnología para la Seguridad, la Soberanía Alimentaria y el Desarrollo Agrícola de la Región Interandina*. Quito, Ecuador.
- [47] Zasoski, R. J., and Burau, R. G. (1977). *A rapid nitric-perchloric acid digestion method for multielement tissue analysis*. Commun. Soil Sci. Plant Anl. 3:425-436.
- [48] Alvear, J., (2005). *Determinación de metales pesados en material particulado PM10 por espectrofotometría de absorción atómica*. Disertación de Licenciatura en Ciencias Químicas, Pontificia Universidad Católica del Ecuador, Ecuador.
- [49] Alvarado, S., Córdova, J. y López, M. (2000). *Metodologías de Análisis Físico-Químico de Suelos, Aguas y Foliaves*, 3ra Aproximación, Laboratorio del Departamento de Manejo de Suelos y Aguas, INIAP, Quito.
- [50] Gutiérrez, H., & De La Vara, R., (2008). *Análisis y Diseño de Experimentos*, 2ª edición, McGraw – Hill, México.
- [51] Motsara, M.R., y Roy, R.N. (2008). *Guide to laboratory establishment for plant nutrient analysis*, FAO Fertilizer and Plant Nutrition Bulletin 19, Rome, Italy, pág. 81.

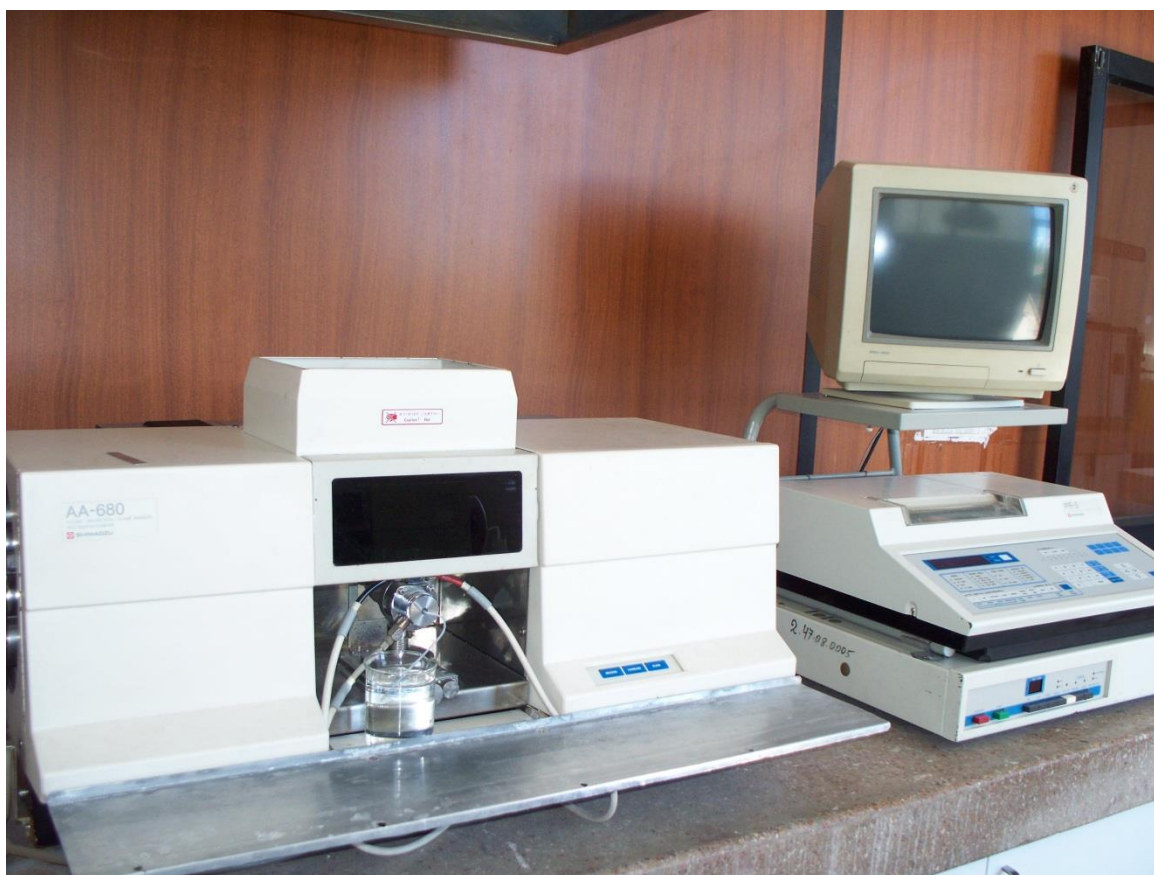
## **ANEXOS**

## **ANEXO 1**

**Certificado del Material de Referencia Certificado procedente del “National  
Institute of Standards and Technology” (NIST): Standard Reference  
Material 1515, Apple Leaves.**

## ANEXO 2

### ESPECTROFOTÓMETRO DE ABSORCIÓN ATÓMICA, MARCA SHIMADZU, MODELO AA-680



### ANEXO 3

**ESPECTROFOTÓMETRO DE EMISIÓN POR ACOPLAMIENTO DE PLASMA  
INDUCTIVO Y DETECCIÓN ÓPTICA ICP-OES, MARCA PERKIN ELMER,  
MODELO OPTIMA 5300 DV**



## **ANEXO 4**

**DATOS DE PRECISIÓN Y EXACTITUD DE POTASIO, CALCIO, MAGNESIO,  
ZINC, COBRE, HIERRO Y MANGANESO, POR AA E ICP-OES**

Cultivo	Potasio AA												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		4,1056	0,05	99,7	4,4722	4,6149	0,12	102,1	4,8722	5,1401	0,08	104,3
	2	4,0722	4,0016				4,6575				5,1140		
	3		4,0774				4,4317				4,9895		
Palma	1		1,2887	0,02	108,1	1,5749	1,7195	0,02	108,8	1,9749	2,0942	0,08	105,4
	2	1,1749	1,2642				1,6901				1,9967		
	3		1,2589				1,7292				2,1521		
Rosas	1		2,1306	0,06	102,1	2,4738	2,5733	0,08	105,3	2,8738	3,1632	0,11	106,1
	2	2,0738	2,1674				2,6999				3,0267		
	3		2,0527				2,5399				2,9551		

Cultivo	Potasio ICP-OES												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		4,131	0,08	102,4	4,512	4,970	0,11	109,3	4,912	5,585	0,06	112,4
	2	4,112	4,198				5,019				5,493		
	3		4,299				4,805				5,482		
Palma	1		1,306	0,03	115,0	1,566	1,769	0,05	116,9	1,966	2,288	0,09	117,7
	2	1,166	1,375				1,859				2,411		
	3		1,341				1,864				2,241		
Rosas	1		2,299	0,08	115,3	2,459	3,018	0,08	119,1	2,859	3,437	0,06	117,9
	2	2,059	2,454				2,862				3,326		
	3		2,370				2,907				3,348		

Cultivo	Calcio AA												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		2,0206				3,2962				4,4965		
	2	1,8434	2,0341	0,08	112,4	2,8434	3,3800	0,06	118,2	3,8434	4,5058	0,07	116,1
	3		2,1616				3,4050				4,3824		
Palma	1		2,2035				3,3230				4,1826		
	2	2,0991	2,1274	0,04	102,7	3,0991	3,2420	0,06	106,7	4,0991	4,2419	0,09	104,0
	3		2,1381				3,3555				4,3683		
Rosas	1		2,983				4,1023				5,4529		
	2	2,9150	3,1396	0,11	103,5	3,9150	4,2987	0,13	106,1	4,9150	5,3545	0,09	109,1
	3		2,9244				4,0640				5,2761		

Cultivo	Calcio ICP-OES												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		1,414				2,353				3,210		
	2	1,490	1,451	0,02	96,4	2,490	2,323	0,04	93,1	3,490	3,184	0,03	91,1
	3		1,445				2,278				3,146		
Palma	1		1,819				2,664				3,455		
	2	1,834	1,887	0,04	100,3	2,834	2,779	0,08	94,8	3,834	3,657	0,14	91,3
	3		1,813				2,616				3,392		
Rosas	1		2,332				3,227				4,050		
	2	2,320	2,369	0,02	101,3	3,320	3,149	0,04	96,0	4,320	3,976	0,07	92,1
	3		2,351				3,188				3,906		

Cultivo	Magnesio AA												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		0,3727										
	2	0,4344	0,3630	0,01	85,0	0,5944	0,4960	0,00	83,4	0,7544	0,6252	0,02	81,9
	3		0,3722				0,4991				0,5972		
Palma	1		0,3327				0,4311				0,5313		
	2	0,3842	0,3214	0,01	84,1	0,5442	0,4427	0,01	80,8	0,7042	0,5175	0,01	75,3
	3		0,3152				0,4448				0,5410		
Rosas	1		0,4592				0,5659				0,7119		
	2	0,5004	0,4587	0,01	91,1	0,6604	0,5870	0,01	86,5	0,8204	0,6927	0,01	85,5
	3		0,4500				0,5604				0,7000		

Cultivo	Magnesio ICP-OES												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		0,575				0,806				1,008		
	2	0,553	0,572	0,01	104,8	0,753	0,792	0,02	105,0	0,953	1,006	0,01	105,3
	3		0,591				0,775				0,996		
Palma	1		0,528				0,723				0,907		
	2	0,494	0,544	0,01	108,3	0,694	0,750	0,02	105,3	0,894	0,964	0,04	102,9
	3		0,532				0,718				0,886		
Rosas	1		0,729				0,956				1,145		
	2	0,678	0,761	0,02	109,8	0,878	0,919	0,02	106,6	1,078	1,114	0,02	104,0
	3		0,743				0,933				1,105		

Cultivo	Zinc AA												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		70,04				91,73				128,14		
	2	62,23	60,56	4,92	106,1	87,23	93,10	3,90	108,5	112,23	126,14	1,02	113,2
	3		67,58				99,06				126,80		
Palma	1		55,01				92,63				112,10		
	2	50,73	54,46	0,51	108,4	75,73	92,47	3,44	124,8	100,73	101,55	5,86	107,5
	3		55,47				98,51				111,23		
Rosas	1		140,36				174,39				201,91		
	2	134,85	140,60	1,90	105,0	159,85	170,64	4,73	109,5	184,85	204,91	4,33	111,3
	3		143,77				180,04				210,44		

Cultivo	Zinc ICP-OES												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		150,1				259,4				373,7		
	2	124,47	145,0	2,79	118,0	224,47	268,2	4,47	117,3	324,47	379,7	3,93	115,6
	3		145,6				262,4				372,3		
Palma	1		151,8				260,0				348,4		
	2	126,12	148,9	1,46	119,1	226,12	259,5	1,49	114,5	326,12	357,9	5,11	108,0
	3		150,1				257,2				349,9		
Rosas	1		213,8				307,6				396,6		
	2	194,43	214,5	1,51	110,6	294,43	301,5	3,05	103,4	394,43	399,4	4,83	100,2
	3		216,7				304,6				390,0		

Cultivo	Cobre AA												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		89,55								219,90		
	2	68,65	89,99	1,97	129,1	118,65	155,33	4,14	131,5	168,65	209,46	8,73	124,9
	3		86,38				160,51				202,57		
Palma	1		86,89				159,39				228,19		
	2	70,28	93,20	3,17	127,9	120,28	154,75	3,17	131,6	170,28	239,44	6,45	136,2
	3		89,54				160,81				228,34		
Rosas	1		114,05				192,97				249,55		
	2	89,47	110,26	2,03	125,8	139,47	188,39	2,68	136,1	189,47	244,62	2,76	130,8
	3		113,40				188,26				249,22		

Cultivo	Cobre ICP-OES												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		122,3				229,1				328,2		
	2	103,67	123,6	0,81	118,3	203,67	225,8	2,10	111,3	303,67	325,1	3,87	106,9
	3		122,1				225,2				320,5		
Palma	1		125,0				229,7				333,4		
	2	107,20	134,1	4,75	120,1	207,20	238,4	5,47	112,0	307,20	336,3	9,61	107,2
	3		127,2				228,3				318,4		
Rosas	1		139,7				252,6				339,9		
	2	124,07	139,9	1,33	113,3	224,07	238,8	7,13	109,2	324,07	341,8	3,40	104,6
	3		142,1				242,6				335,2		

Cultivo	Hierro AA												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		242,77	6,74	96,0	346,61	365,84	9,27	106,0	446,61	488,30	6,23	110,9
	2	246,61	237,76				358,90				496,48		
	3		229,43				377,25				500,54		
Palma	1		199,34	9,22	93,1	320,04	365,08	3,87	112,7	420,04	425,62	9,08	100,5
	2	220,04	215,55				358,73				411,73		
	3		199,83				358,06				428,81		
Rosas	1		222,66	5,45	100,8	321,66	334,74	9,57	100,9	421,66	459,46	7,49	108,7
	2	221,66	229,37				315,79				450,11		
	3		218,57				322,92				464,91		

Cultivo	Hierro ICP-OES												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		333,8	3,36	108,3	510,87	529,5	8,98	103,3	710,87	700,8	2,59	98,9
	2	310,87	340,3				518,0				705,9		
	3		335,6				535,7				702,6		
Palma	1		293,7	7,57	106,9	482,90	494,0	5,85	103,7	682,90	678,9	6,71	99,9
	2	282,90	307,2				503,6				689,7		
	3		306,4				504,6				677,4		
Rosas	1		334,2	6,05	109,2	511,03	537,1	6,82	105,6	711,03	690,0	8,67	97,6
	2	311,03	338,9				547,6				703,8		
	3		346,2				534,8				687,8		

Cultivo	Manganeso AA												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		262,15	2,91	103,4	291,82	317,15	3,20	109,9	331,82	363,31	7,57	107,8
	2	251,82	261,95				323,43				360,59		
	3		257,01				321,35				349,05		
Palma	1		159,57	1,97	112,9	183,34	202,57	5,07	108,7	223,34	236,50	6,77	102,6
	2	143,34	163,14				193,45				223,18		
	3		162,78				201,85				227,73		
Rosas	1		184,82	4,73	105,0	215,87	219,27	6,91	104,1	255,87	273,78	9,68	106,4
	2	175,87	179,86				222,36				261,82		
	3		189,31				232,48				280,98		

Cultivo	Manganeso ICP-OES												
	Rep.	Nivel Uno				Nivel Dos				Nivel Tres			
		Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)	Teórico	Práctico	Desvest	Recuperación (%)
Banano	1		241,8	2,45	101,4	286,07	288,7	3,29	100,1	336,07	330,4	4,31	99,5
	2	236,07	236,9				282,6				339,0		
	3		239,1				287,8				334,1		
Palma	1		133,7	1,52	110,1	172,90	180,7	5,94	105,0	222,90	229,2	6,28	103,3
	2	122,90	136,7				187,8				237,1		
	3		135,6				176,0				224,7		
Rosas	1		169,4	3,04	107,9	210,03	221,4	2,46	104,8	260,03	266,7	4,51	102,4
	2	160,03	173,3				217,3				270,6		
	3		175,4				221,7				261,6		