

Notas del Director

El Laboratorio de Análisis Foliar y de Suelos (LAFS) de Cenipalma fue creado por solicitud de los palmicultores para ofrecer al sector un servicio de apoyo al diagnóstico nutricional del cultivo de la palma de aceite, con los más altos niveles de calidad. El LAFS comenzó la prestación de servicios a los palmicultores en 1998 y desde su apertura ha registrado un aumento creciente en la demanda por servicios analíticos. En la planificación y diseño del laboratorio se prestó especial atención a la selección de los instrumentos de análisis que se adquirieron con el fin de que fueran de la más alta confiabilidad y eficiencia, y que contaran con adecuado soporte técnico local para su mantenimiento preventivo y correctivo. De esta manera el trabajo del laboratorio se inició con un conjunto de instrumentos de los modelos más recientes en cada línea instrumental, como por ejemplo colorimetría, espectrometría de absorción atómica, potenciometría, purificación de agua, equipos de digestión y otros complementarios. El equipo básico con el que se iniciaron las actividades del laboratorio fue adquirido con recursos asignados por Colciencias a un proyecto de investigación y transferencia de tecnología de mayor envergadura que Cenipalma le presentó para su financiación a dicha entidad. El crecimiento del laboratorio ha hecho necesario complementar los equipos iniciales con nuevos instrumentos que permitan atender la creciente demanda, lo cual se ha hecho con recursos propios de Cenipalma, en la mayoría de los casos generados por el mismo laboratorio. La más reciente adquisición del LAFS es un autoanalizador de flujo segmentado, equipo de tecnología muy avanzada y altamente automatizado, que además de dar agilidad a los procesos de análisis disminuye las probabilidades de error propias de las operaciones manuales, así como el consumo de reactivos. Este Cenivaavances contiene una descripción del nuevo recurso que se pone a disposición de los palmicultores, así como del procedimiento riguroso que se siguió para ponerlo a punto. El mejoramiento continuo del laboratorio no se limita a su infraestructura física sino que es un proceso integral en el cual la capacitación de todo su personal es también una estrategia prioritaria.

PEDRO LEÓN GÓMEZ CUERVO
Director Ejecutivo

Autoanalizador de flujo segmentado: Un nuevo recurso en el Laboratorio de Análisis Foliar y de Suelos*



Figura 1. Detalle de equipo, serpentines de vidrio a través de los cuales fluyen los reactivos de análisis y las muestras ya digeridas.

Introducción

Los análisis químicos de muestras de tejido foliar y de suelos son herramientas cada vez más utilizadas por los palmicultores como parte de sus programas de fertilización y manejo integral del cultivo. El Laboratorio de Análisis Foliar y de Suelos (LAFS) de Cenipalma, al entender las necesidades del sector y con el fin de continuar ofreciendo resultados con calidad y mantenerse tecnológicamente, adquirió a finales del año 2003 un autoanalizador de flujo segmentado, con el cual reemplazó los métodos tradicionales usados en los análisis de nitrógeno, fósforo y boro por métodos automatizados. El diseño del sistema automatizado del LAFS permite determinar simultáneamente los contenidos de nitrógeno y fósforo en tejido foliar, o de boro, en tejido foliar y en suelos. Además se espera que en el futuro puedan implementarse otros análisis mediante el uso de este equipo gracias a su sistema modular. Las características de flexibilidad y arquitectura modular con que ha sido concebido este sistema hacen que su configuración pueda ser modificada de acuerdo con las necesidades y el grado de desarrollo de cada laboratorio en particular.

La implementación de sistemas automatizados en los procesos de análisis desarrollados por un laboratorio produce efectos positivos, como: incremento en la eficiencia, aumento en la precisión y reproducibilidad de los resultados obtenidos y disminución en la cantidad total de reactivo utilizado.

Los métodos para la determinación de nitrógeno y fósforo en muestras de tejido foliar que se emplean en el LAFS son reconocidos internacionalmente; sin embargo, por la naturaleza de los equipos automatizados, estos requieren condiciones específicas de las muestras para cada uno de los análisis que pueden realizar según su diseño.

Teniendo en cuenta lo anterior, fue necesario ajustar las metodologías tradicionales empleadas en el LAFS, de acuerdo con los requerimientos del nuevo sistema. Esta adaptación se inició con el tratamiento previo de las muestras de tejido foliar o digestión ácida, seguido del establecimiento de las condiciones instrumentales necesarias para realizar los análisis de nitrógeno y fósforo empleando el sistema automatizado. Una de las grandes ventajas de este equipo, es que permite analizar simultáneamente los contenidos de nitrógeno y fósforo.

Antes de mostrar los resultados se presentan algunas generalidades sobre el funcionamiento del equipo.

Principio de operación del equipo

El análisis automatizado de flujo segmentado es un método de análisis químico de flujo continuo (Figura 1), en el cual cada una de las muestras y los reactivos son separados por medio de burbujas de aire a medida que fluyen con la ayuda de una bomba peristáltica, hacia un compartimento conocido como unidad química. En esta unidad los reactivos y las muestras se mezclan y se calientan para favorecer la reacción química. Antes de entrar a la sección del equipo donde se hace la detección, la mezcla en reacción fluye a través de una membrana de diálisis, con la cual es posible eliminar las sustancias coloreadas generadas por la matriz de las muestras que pueden interferir con el análisis. Por último, pasa a una celda en donde es leída su concentración mediante el uso de un detector fotométrico que opera en un rango de longitud de onda desde 340 hasta 1100nm. El objetivo de la segmentación con aire en forma de burbujas es dosificar de manera precisa las muestras a analizar y los reactivos, separar las mezclas de reacción y limpiar las paredes de los tubos impidiendo así la contaminación mutua entre muestras sucesivas.

El principio de operación del equipo incluye los siguientes parámetros: toma de la muestra, reacción química de la muestra con los reactivos en los serpentines, medición de la mezcla de reacción, control de las condiciones instrumentales, cálculo de los resultados y generación del informe.

La instalación y puesta en marcha del autoanalizador de flujo (Figura 2) la realizó un representante del proveedor, de quien se recibió capacitación en todos los procesos que involucran el manejo del instrumento de análisis, tanto en la parte mecánica, como en el software que controla el sistema. Durante este período de capacitación, también se realizaron otras actividades como la

* Artículo escrito por:

Alicia Romero Frías, Investigadora Auxiliar, Laboratorio de Análisis Foliar y de Suelos, Cenipalma, alicia.romero@cenipalma.org y Mónica Cuéllar Sánchez, Directora, Laboratorio de Análisis Foliar y de Suelos, Cenipalma, monica.cuellar@cenipalma.org

preparación de reactivos químicos, según especificaciones y requerimientos del instrumento de análisis que se ha de emplear en las determinaciones. Para verificar el funcionamiento del equipo se hicieron determinaciones analíticas en muestras patrón y en algunas muestras reales de tejido foliar de palma de aceite.

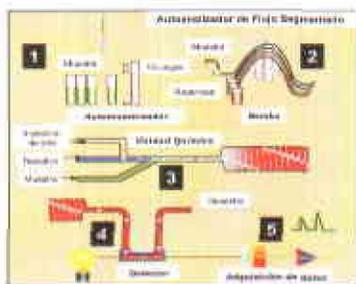


Figura 2. Diagrama. Principio de operación del sistema automatizado.

Ya en el trabajo de rutina, durante cada determinación que se lleva a cabo en el equipo, además del análisis de las soluciones patrón que se emplean para construir la curva de calibración, al iniciar cada *corrida*³ se analiza el patrón de concentración más alta denominado en el sistema como guía o *tracer*, también es necesario colocar cada cierto número de muestras un patrón analítico de concentración conocida identificado como *drift*; con estos dos se comprueba que los análisis están haciéndose correctamente y que los resultados obtenidos están dentro de los intervalos esperados (Figura 3).



Figura 3. Picos característicos: *Tracer*, patrón de concentración más alta; *Wash*, solución de enjuague del sistema; *Standards*, patrones analíticos de la curva de calibración; *Drift*, patrón de referencia.

Estandarización

El proceso de estandarización consiste en fijar las condiciones de análisis a partir de las cuales cualquier analista puede obtener resultados reproducibles. Para este caso en particular la estandarización involucró tres etapas: (1) optimización de las condiciones instrumentales iniciales, (2) tratamiento previo o digestión ácida de las muestras, (3) empleo de las metodologías automatizadas de determinación (nitrógeno y fósforo).

Estandarización de las condiciones instrumentales iniciales

Para su adecuado funcionamiento, el equipo requiere que se ajusten las condiciones instrumentales antes de iniciar el proceso de análisis y al finalizar éste. Con base en las características del equipo y las condiciones óptimas sugeridas por el proveedor, se establecieron los procedimientos generales de preparación y mantenimiento post análisis de las variables del equipo para las determinaciones que se realizan en el LAFS.

Estandarización del proceso de digestión de muestras de tejido foliar

En la preparación o tratamiento de las muestras de tejido foliar, se utiliza un proceso conocido como digestión ácida, en el cual se emplean ácido sulfúrico, selenio, ácido salicílico y peróxido de hidrógeno. Este tratamiento constituye el paso determinante del proceso de análisis, ya que a partir de él se obtienen los elementos en forma disponible listos para ser analizados.

El LAFS tenía estandarizado un método de digestión de muestras de tejido foliar, pero la metodología descrita por el proveedor (Houbá *et al*, 1983; Novozamsky *et al*,

1983) difería de este método en algunas variables, como el peso de la muestra y el volumen final de la solución empleados. Por lo anterior, fue necesario estandarizar la metodología suministrada y ajustarla a las condiciones del LAFS. Los ensayos se realizaron empleando muestras de referencia IPE⁴ de concentración conocida para cada analito⁵. Las variables modificadas fueron: peso de la muestra, volumen final de la solución, volumen de la mezcla de predigestión, volumen del peróxido de hidrógeno adicionado y tiempos de calentamiento. El objetivo de los ensayos fue identificar el efecto del cambio de las variables sobre el resultado en las determinaciones analíticas de nitrógeno y fósforo empleando el autoanalizador de flujo segmentado (Tabla 1). En cada ensayo se dejó una variable fija mientras las otras se modificaron.

Tabla 1. Variables empleadas durante el proceso de estandarización de la digestión ácida

Peso de muestra (g)	Volumen final de solución (mL)	Volumen mezcla de predigestión (mL)	Volumen de peróxido de hidrógeno (mL)	Tiempo de calentamiento 100 °C (h)	Tiempo de calentamiento 230 °C (h)
0,3	2,5	2,5	3,0	2,0	2,0
		3,5	4,0		
		4,2	5,0		
0,5	5,0	5,0	6,0	2,5	2,5
		6,0	8,0		
		7,0	10,0		

Dado que la solución obtenida en el tratamiento de digestión de muestras debía permitir el análisis de otros analitos, además del nitrógeno y el fósforo, a las soluciones de digestión en los diferentes ensayos se les determinaron también los elementos potasio, calcio, magnesio y micronutrientes (Fe, Cu, Mn, Zn), empleando los métodos espectrométricos de absorción atómica que se tienen implementados en el LAFS (Manual para el análisis de Tejido Foliar, 2004).

Estandarización de las determinaciones automatizadas

Las metodologías que se utilizan en el sistema automatizado han sido previamente estandarizadas y probadas por el proveedor. Sin embargo, después de establecer las condiciones de trabajo en el laboratorio en que se ha instalado el autoanalizador, es necesario verificar la respuesta del instrumento en las determinaciones analíticas para las que se diseñó. Para cumplir con este propósito, antes de iniciar el análisis rutinario de nitrógeno y fósforo en muestras de tejido foliar, se realizaron varios ensayos con patrones analíticos con los cuales se estableció la respuesta correcta del instrumento.

Como se conocen las concentraciones de los patrones empleados, a partir de los resultados obtenidos para cada uno de ellos, se determinaron los porcentajes de recuperación durante cada una de las corridas realizadas.

Además, como se mencionó, la forma de identificar el efecto de las variables y la reproducibilidad en los ensayos hechos para la estandarización del tratamiento de digestión de muestras, consistió en determinar los contenidos de nitrógeno y fósforo empleando el autoanalizador y las metodologías descritas por el proveedor (Krom, 1980; Searle, 1984; Boltz, 1948; Wailing *et al*, 1989).

Resultados y discusión

Condiciones instrumentales iniciales óptimas

Previo al inicio de cada análisis se verificó el correcto funcionamiento del instrumento, para lo cual se llevó a cabo el proceso de optimización de las condiciones de análisis, que incluye los siguientes aspectos:

- **Estabilización de la línea base:** que se logra dejando fluir todos los reactivos involucrados durante el tiempo necesario para que el detector registre un valor de referencia constante.
- **Revisión de la formación de burbujas de aire:** es necesario constatar en todos los serpentines por los cuales fluyen y se mezclan los reactivos que las burbujas de aire sean continuas y uniformes antes de iniciar el análisis.

3. Corrida: En el argot del análisis químico, se denomina al proceso de análisis de un conjunto de muestras que se hace de manera consecutiva.

4. IPE: International Plant-Analytical Exchange, Wageningen University

5. Analito: El elemento que se analiza, en este caso: nitrógeno o fósforo.

Condiciones óptimas para la digestión de muestras de tejido foliar

Como resultado de emplear las metodologías automatizadas en 46 ensayos y determinar las concentraciones de nitrógeno y fósforo totales en forma simultánea, en un total de 690 muestras de tejido foliar se establecieron las condiciones para la digestión con las cuales se obtuvieron valores de nitrógeno y fósforo reproducibles y dentro de los rangos esperados (Tabla 2).

Tabla 2. Condiciones establecidas para la digestión ácida durante el proceso de estandarización.

Peso muestra (g)	Volumen final de solución (mL)	Volumen de predigestión (mL)	Volumen de peróxido de hidrógeno (mL)	Tiempo de calentamiento a 100°C (h)	Tiempo de calentamiento a 330°C (h)
0.300	75.0	2.5	3.0	2.5	2.5

Con el fin de optimizar las labores y recursos, en el LAFS se busca analizar el mayor número de elementos en cada una de las soluciones de digestión obtenidas. Fue así como se sometió a prueba si en la digestión estandarizada para la determinación automatizada de nitrógeno y fósforo, era posible determinar también otros elementos como potasio, calcio, magnesio, hierro, cobre, manganeso y zinc. Los resultados encontrados en estos ensayos indican que:

- El hierro y el potasio se pueden analizar en las soluciones obtenidas a partir de este tratamiento, utilizando la dilución y las condiciones instrumentales apropiadas.
- Para los elementos calcio, magnesio, cobre, manganeso y zinc, los valores esperados no cumplen con los requisitos de control de calidad analítico establecido por el LAFS. Estos se continuarán analizando con los métodos validados en el laboratorio.

Determinación analítica automatizada

Antes de emplear el equipo de flujo segmentado para cuantificar el contenido de nitrógeno y fósforo, en las diferentes condiciones planteadas para cada ensayo del proceso de estandarización del tratamiento de muestras se verificó la respuesta correcta del instrumento para los dos analitos de interés. Para ello se prepararon patrones analíticos de una concentración específica y se calcularon los porcentajes de recuperación (Tabla 3).

Tabla 3. Porcentajes de recuperación encontrados al realizar las determinaciones de nitrógeno y fósforo empleando el autoanalizador de flujo.

Concentración de P (ppm) Método	Concentración de P (ppm) Obtenida	% Recuperación	Concentración de N (ppm) Método	Concentración de N (ppm) Obtenida	% Recuperación
3	3,462	115,4	40	41,793	104,5
6	6,485	108,1	70	65,673	93,8
12	11,076	92,3	140	139,497	99,6
24	23,973	99,9	280	275,218	98,3
36	35,683	99,1	420	420,406	100,1
48	48,029	100,1	560	562,755	100,5
60	60,290	100,5	700	699,662	99,9

Los valores de los porcentajes de recuperación permiten establecer las diferencias que se presentan entre el valor esperado de la concentración de cada especie en solución y los determinados experimentalmente. Como puede verificarse, los porcentajes de recuperación están conformes con lo esperado; las desviaciones mayores se presentan en las concentraciones más bajas cerca a los límites de detección de los métodos (14ppm N y 1,2 ppm P, en solución), estos resultados corroboran la exactitud del método automatizado.

Después de analizar los patrones y revisar el funcionamiento adecuado de los métodos automatizados, se realizaron las determinaciones analíticas de nitrógeno y fósforo en todas las soluciones de muestras digeridas obtenidas en los distintos ensayos hechos para la estandarización de la digestión ácida.

En las tablas 4 y 5 se presentan de manera resumida los valores obtenidos para los análisis de nitrógeno y fósforo realizados mediante los métodos automatizados de determinación (digestión estandarizada), comparados con los obtenidos mediante el método tradicional y los reportados por el programa que suministra las muestras de referencia Wepal[®].

Tabla 4. Resultados obtenidos de la determinación analítica automatizada de nitrógeno en muestras de tejido foliar.

Muestra	NITRÓGENO (%)			
	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Número de veces que se analizó
Patrón IPE 661				
Reportado Wepal	2,73	0,11	4,00	127
Método tradicional	2,72	0,09	3,56	250
Método automatizado	2,70	0,06	2,05	130

Tabla 5. Resultados obtenidos de la determinación analítica automatizada de fósforo en muestras de tejido foliar.

Muestra	FÓSFORO (%)			
	Promedio	Desviación estándar	Coefficiente de variación	Número de veces que se analizó
Patrón IPE 661				
Reportado Wepal	0,172	0,015	8,70	552
Método tradicional	0,169	0,008	4,54	250
Método automatizado	0,173	0,004	2,58	130

Para los dos elementos se observa que los valores promedio se encuentran dentro del intervalo de aceptación establecido en el LAFS de una desviación estándar y que tanto éstas como los coeficientes de variación obtenidos con esta metodología, son menores que los reportados para la muestra patrón IPE 661 por el programa Wepal.

En la Figura 4 puede observarse la forma como se despliegan los resultados para las determinaciones de nitrógeno y fósforo al usar las determinaciones automatizadas. Cada uno de los picos representa una muestra y la altura de ellos está directamente relacionada con la concentración del elemento de interés presente en la muestra. En esta figura también se muestran los primeros siete picos que corresponden a la curva de calibración, a partir de la cual es posible interpolar las concentraciones de las muestras. Los picos siguientes corresponden a la respuesta del equipo para cada muestra de referencia utilizada en el ensayo.

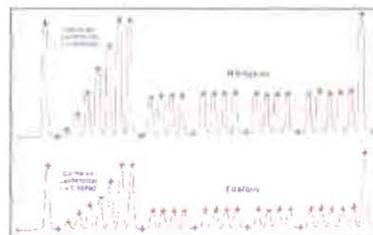


Figura 4. Resultados obtenidos en las determinaciones analíticas automatizadas de nitrógeno y fósforo en muestras de tejido foliar (ampliación de los picos obtenidos durante el tiempo real).

Comparación del método tradicional con el automatizado

Cada tanda de análisis de muestras que se programa en el LAFS incluye cierto número de muestras de referencia IPE, con las cuales se verifica la confiabilidad de los resultados obtenidos para las distintas muestras (una muestra de referencia por cada 18 muestras en el análisis rutinario).

Para comparar los métodos tradicional y automatizado para la determinación de nitrógeno y fósforo, se empleó la prueba t para la comparación de las medias de dos muestras y se estableció la hipótesis nula de que con el empleo de cualquiera de los dos métodos se obtienen los mismos resultados. Para esto se requirió comprobar que la diferencia entre los valores promedios obtenidos por cada método al analizar varias veces un mismo patrón en las diferentes determinaciones realizadas no difería en forma significativa de cero.

Se encontró que el valor t observado para un intervalo de confianza del 95% con un nivel de significación $P = 0.05$ es menor que el valor crítico, lo que permitió afirmar que no hay diferencias significativas ($P > 0.05$) en los valores obtenidos para las muestras de tejido foliar entre los dos métodos de determinación y se corroboró la hipótesis de partida.

Estabilidad de las muestras digeridas

Un mismo patrón de concentración conocida se analizó durante cinco días para verificar la estabilidad de las muestras según la *variación de los resultados a través del tiempo*. A continuación se presentan algunos de los resultados obtenidos para el patrón IPE 661.

Tabla 6. Resultados obtenidos de la determinación analítica automatizada de fósforo a través del tiempo en muestras de tejido foliar.

Determinación	Fósforo (%)					Promedio	DS	CV
	Feb-11	Feb-12	Feb-13	Feb-16	Feb-17			
IPE661.1	0,178	0,179	0,171	0,185	0,179	0,178	0,006	3,375
IPE661.2	0,180	0,188	0,173	0,193	0,182	0,183	0,009	4,847
IPE661.3	0,179	0,179	0,173	0,189	0,179	0,180	0,006	3,598
IPE661.4	0,177	0,179	0,174	0,191	0,179	0,180	0,007	4,131
IPE661.5	0,173	0,173	0,169	0,181	0,176	0,174	0,005	2,784
IPE661.6	0,175	0,176	0,172	0,182	0,178	0,177	0,004	2,351
IPE661.7	0,175	0,175	0,169	0,181	0,182	0,176	0,005	2,650
Promedio	0,177	0,178	0,172	0,186	0,179	0,178	0,006	3,326
DS	0,003	0,005	0,002	0,005	0,002	0,003		
CV	1,470	2,772	1,141	2,715	1,079	1,836		

Tabla 7. Resultados obtenidos de la determinación analítica automatizada de nitrógeno a través del tiempo en muestras de tejido foliar.

Determinación	Nitrógeno (%)					Promedio	DS	CV
	Feb-11	Feb-12	Feb-13	Feb-16	Feb-17			
IPE661.1	2,693	2,731	2,715	2,906	2,875	2,784	0,098	3,511
IPE661.2	2,739	2,784	2,764	2,958	2,911	2,831	0,100	3,517
IPE661.3	2,687	2,746	2,722	2,917	2,875	2,789	0,103	3,676
IPE661.4	2,693	2,760	2,735	2,928	2,883	2,800	0,103	3,687
IPE661.5	2,657	2,722	2,693	2,877	2,881	2,766	0,097	3,517
IPE661.6	2,651	2,719	2,720	2,888	2,903	2,776	0,101	3,639
IPE661.7	2,630	2,674	2,671	2,844	2,860	2,736	0,095	3,479
Promedio	2,679	2,734	2,717	2,903	2,884	2,783	0,099	3,566
DS	0,036	0,035	0,030	0,037	0,018	0,031		
CV	1,334	1,278	1,092	1,270	0,607	1,116		

Aunque la variación a través del tiempo para el análisis de fósforo foliar respecto al análisis de nitrógeno es menos notoria, para ambos es posible verificar que, en los tres primeros días, los valores se encuentran dentro del intervalo dado por una desviación estándar, mientras que cuando han transcurrido cinco o seis días (febrero 16 y 17) se observa un aumento en las concentraciones determinadas. Esto puede deberse al deterioro propio de las muestras, el cual produce inestabilidad en ellas y una alta variabilidad en los resultados. Este resultado permite establecer los tiempos de análisis de estos parámetros dentro de la programación de las actividades de rutina que se realizan en el LAFS.

Análisis rutinario con el autoanalizador

El equipo comenzó a emplearse para los análisis de rutina desde finales del mes de febrero de 2004. Desde esa fecha hasta finalizar el mes de abril se analizaron 2.327 muestras de tejido foliar de cultivos comerciales de palma de aceite. El tiempo que se emplea para los análisis de nitrógeno y fósforo al usar el autoanalizador es menor que el empleado al utilizar los métodos tradicionales (Tabla 8). Como se mencionó, estas dos determinaciones se desarrollan en forma simultánea, lo que se refleja en una mayor eficiencia, que unida al uso del proceso de digestión estandarizado representa dos horas menos respecto al empleado con el método tradicional. Si se considera el volumen de muestras de tejido foliar que se analiza en el LAFS durante un año, esta reducción del tiempo tiene un efecto positivo en el tiempo establecido de análisis para cada muestra.

Tabla 8. Comparación de tiempos de análisis entre los dos métodos de determinación.

Actividad	Tiempo empleado / 120 muestras (h)	
	Método tradicional	Método automatizado
Proceso digestión ácida	7,0	6,0
Determinación de nitrógeno	4,5	7,0
Determinación de fósforo	3,5	
Tiempo total requerido	15,0	13,0

Conclusiones

- Se estandarizó un nuevo procedimiento de digestión para muestras de tejido foliar a partir del cual es posible realizar las determinaciones colorimétricas automatizadas de nitrógeno y fósforo; y por absorción atómica las de hierro y potasio.
- Se estandarizaron las metodologías usadas para las determinaciones de nitrógeno y fósforo en muestras de tejido foliar empleando el autoanalizador de flujo segmentado obteniendo resultados altamente reproducibles.
- La comparación de los métodos de determinación tradicional y automatizado para nitrógeno y fósforo total, en muestras de tejido foliar tratadas previamente con la digestión estandarizada permitió establecer que ambos métodos son analíticamente equivalentes.
- Las metodologías automatizadas comparadas con los métodos tradicionales empleados reportaron un aumento en la velocidad del análisis, y una reducción de los errores producidos por la manipulación durante el desarrollo de los análisis, lo que se reflejó en la alta reproducibilidad obtenida en los resultados.
- Lo planteado anteriormente evidencia la importancia de la inversión hecha por el LAFS al adquirir este equipo e iniciar la implementación de los métodos automatizados en las actividades de rutina propias de un laboratorio de servicios de análisis.

Bibliografía

Boltz, D.F; Mellon, M.G, "Spectrophotometric determination of phosphate as molybdiphosphoric acid", 1948, Analytical chemistry, V. 20, no 8, p 749-751.

Houba, V., van Vark, W., Walinga, I., van der Lee, J.J. 1983. *Plant Analysis Procedures, part 7, Chapter 2.2, Department of Soil Science and Plant Analysis, Wageningen, The Netherlands.*

Krom, M.; "Spectrophotometric determination of ammonia; a study of modified Berthelot reaction using salicylate and dichloroisocyanurate", 1980, The Analyst, v. 105, p 305-306.

Manual para el análisis de Tejido Foliar, Cenipalma, LAFS, Versión 2, 2004.

Novozamsky, I.; Houba, V.; van Eck, R.; van Vark, W. 1983. "A novel technique for multi-element analysis", Commun. Soil Sci. Plant Anal. 14, p 239-249.

Standard Methods for Examination of Water and Waste Water. 1980. 15th edition APHA-AWWA-WPCF, p. 410-425.

Searle, P.; "The Berthelot or indophenol reaction and its use in the analysis chemistry of nitrogen", 1984, The Analyst, v. 109, p. 549-565.

Waling, I., van Vark, W., Houba, V.J.G., van der Lee, L., Plant Analysis Procedures, 1989, Part 7, Department of Soil Science and Plant Nutrition, Wageningen Agricultural University, Syllabus, p 138-141.



Director: **Pedra León Gómez Cuervo**

Revisión de textos: **Comité de Publicaciones de Cenipalma**

Coordinación editorial: **Oficina de Prensa**

Diseño y diagramación: **Briceño Gráfico**

Impresión: **Molher Ltda. Impresores**

Esta publicación contó con el apoyo del Fondo de Fomento Palmero