

Universidad de Granada

Facultad de Ciencias



TESINA DE LICENCIATURA

ANALISIS FOLIAR

**Influencia del tiempo de almacenamiento
de la muestra sobre la pérdida de elementos
minerales durante el proceso de lavado**

Francisco Sánchez Alonso

1977

ANÁLISIS FOLIAR

A mi madre.

INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA SOBRE LA

PÉRDIDA DE ELEMENTOS MINERALES DURANTE EL PROCESO DE LAVADO.

por

FRANCISCO SANCHEZ ALONSO

ANALISIS FOLIAR

=====

INFLUENCIA DEL TIEMPO DE ALMACENAMIENTO DE LA MUESTRA SOBRE LA

=====

PERDIDA DE ELEMENTOS MINERALES DURANTE EL PROCESO DE LAVADO.

=====

por

FRANCISCO SANCHEZ ALONSO

A. Introducción	1
B. Objetivos del trabajo	6
C. Marco experimental	12
C.1. Esquema de trabajo	12
C.2. Preparación de la muestra	13
C.3. Medida de la intensidad	13
C.4. Medida de la longitud de onda	14
C.5. Medida de la temperatura	14
D. Resultados obtenidos y discusión	18
D.1. Determinación de la longitud de onda	20
D.2. Determinación de la intensidad	22
D.3. Determinación de la temperatura	24
D.4. Determinación de la longitud de onda	26
D.5. Determinación de la intensidad	28
D.6. Determinación de la temperatura	30
D.7. Determinación de la longitud de onda	32
D.8. Determinación de la intensidad	34
D.9. Determinación de la temperatura	36
D.10. Determinación de la longitud de onda	38
D.11. Determinación de la intensidad	40
D.12. Determinación de la temperatura	42
D.13. Determinación de la longitud de onda	44
D.14. Determinación de la intensidad	46
D.15. Determinación de la temperatura	48
D.16. Determinación de la longitud de onda	50
D.17. Determinación de la intensidad	52
D.18. Determinación de la temperatura	54

Mi agradecimiento a los Profesores Capitán
 García y Lachica Garrido por haber aceptado el
 patrocinio y dirección de este trabajo.

INDICE

	<u>Págs.</u>
A. Introducción histórica y consideraciones sobre el análisis foliar	1
B. Objeto del trabajo	9
C. Parte experimental	12
C.1. Esquema de trabajo	12 bis.
C.2. Preparación de la muestra	13
C.3. Métodos analíticos utilizados	15
C.4. Mineralización para la determinación de Nitrógeno	16
C.5. Determinación de Nitrógeno	18
C.6. Mineralización para la determinación conjunta de Fósforo, Potasio, Calcio, Magnesio, Hierro, Manganese, Cobre, Zinc y Boro.....	20
C.7. Determinación de Fósforo	22
C.8. Determinación de Potasio	24
C.9. Determinación de Calcio	26
C.10. Determinación de Magnesio	28
C.11. Determinación de Hierro	30
C.12. Determinación de Manganese	32
C.13. Determinación de Cobre	34
C.14. Determinación de Zinc	36
C.15. Determinación de Boro	38
C.16. Determinación de Azufre	41
D. Resultados obtenidos y discusión	46
D.1. Nitrógeno	49
D.2. Fósforo	53

D.3. Potasio	57
D.4. Calcio	61
D.5. Magnesio	67
D.6. Azufre	73
D.7. Hierro	78
D.8. Manganeseo	83
D.9. Cobre	87
D.10. Zinc	90
D.11. Boro	95
E. Conclusiones	99
F. Bibliografía	101

A. INTRODUCCION HISTORICA Y CONSIDERACIONES SOBRE EL ANALISIS

FOLIO

INTRODUCCION HISTORICA Y CONSIDERACIONES SOBRE EL ANALISIS

FOLIAR

La planta, como todo ser vivo, necesita del aporte de una serie de elementos necesarios para la vida y el mantenimiento de sus funciones vitales.

A. INTRODUCCION HISTORICA Y CONSIDERACIONES SOBRE EL ANALISIS

Hay tres elementos fundamentales que constituyen la base del aporte de otros al FOLIAR, que son esenciales para su normal desarrollo y su crecimiento, de tal forma que, cuando el suministro de estos elementos es anómalo, la planta se ve perturbada en su crecimiento y productividad.

Se considera que son 16 los elementos esenciales para el crecimiento y normal desarrollo de las plantas.

En 1944, HOWLAND los clasifica en dos grandes grupos: macronutrientes y micronutrientes. Los primeros son aquellos que se encuentran, en general, en unos niveles comprendidos entre 10^{-2} y 10^{-3} g./g. de peso seco. Son los siguientes: N, P, K, S, Ca, y Mg.

Los segundos, es decir, los micronutrientes son los elementos que se encuentran en niveles inferiores a 10^{-4} g./g. de peso seco. Son los siguientes: Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B y Cl.

INTRODUCCION HISTORICA Y CONSIDERACIONES SOBRE EL ANALISIS

FOLIAR

La planta, como todo ser vivo, necesita del aporte de una serie de elementos necesarios para la vida y el mantenimiento de sus funciones vitales.

Hay tres elementos fundamentales que constituyen la base de su materia orgánica: C, H y O. Sin embargo, es imprescindible el aporte de otros elementos, que son esenciales para su normal desarrollo y su ciclo vital, de tal forma que, cuando el suministro de estos elementos es anómalo, la planta se ve perturbada en su crecimiento y productividad.

Se considera que son 16 los elementos esenciales para el crecimiento y normal desarrollo de las plantas.

En 1944, HOAGLAND los clasifica en dos grandes grupos: Macronutrientes y micronutrientes. Los primeros son aquellos que se encuentran, en general, en unos niveles comprendidos entre 10^{-2} y 10^{-3} g./g. de peso seco. Son los siguientes: N, P, K, S, Ca, y Mg.

Los segundos, es decir, los micronutrientes son los elementos que se encuentran en niveles inferiores a 10^{-4} g./g. de peso seco. Son los siguientes: Fe, Mn, Cu, Zn, Mo, B y Cl.

En principio, a los macronutrientes se les quiso dar un papel plástico, ésto es, constituyentes de las estructuras de la planta. A los micronutrientes un papel catalítico, ya que forman parte de las estructuras de los enzimas.

Así como en los micronutrientes ésto es cierto, en los macronutrientes no lo es, ya que, además de formar parte de estructuras, se encuentran también, a veces, jugando un papel catalítico formando parte de muchas enzimas (ATP, NADP, etc).

En todas las épocas, el crecimiento de las plantas ha interesado vivamente al hombre. Ya en tiempos del Imperio Romano existía una abundante literatura sobre la agricultura. A lo -largo de la Edad Media aparecen algunos volúmenes sobre el tema. Posteriormente, a finales del siglo XVIII la búsqueda se centró sobre los nutrientes de las plantas.

En 1804, THEODORE DE SAUSSURE, da argumentos lógicos y concisos para sentar las bases de que la nutrición de las plantas estaban fundamentadas en un principio racional de la Quí-mica. Estudió las cenizas de plantas, observando que el conte-nido de las mismas varía con la edad, parte de la planta y sue-lo de cultivo. Pero no intentó encontrar una posible relación entre el contenido de nutrientes y el crecimiento de la plan-ta.

En 1813, DAVY hizo una recopilación poniendo al día las hipótesis de autores anteriores utilizando el nuevo lenguaje químico.

En 1852, LIEBIG sugiere que la fertilidad del suelo se podría mantener devolviendo al mismo, en forma de fertilizantes, los nutrientes tomados por la cosecha.

Se planteó la búsqueda de un método que indicase el es-

tado de nutrición de las plantas, con vistas a la adición de fertilizantes al suelo. Surge así la investigación de análisis de suelos para conocer las deficiencias nutritivas de los cultivos. Sin embargo, no todos los elementos están en forma asimilable por la planta; por ello, el análisis integral de un suelo da resultados erróneos como medida del poder nutritivo del mismo. Es pues, necesario determinar las fracciones asimilables. Pero, como dicen DIOS VIDAL y ALBAREDA (1954), los reactivos químicos utilizados como extractantes distan mucho de los utilizados por la raíz.

La falta de correlación entre el análisis del suelo y la respuesta de la planta, hizo que la investigación se dirigiera hacia el análisis de esta última.

Se pensó entonces en el análisis de los tejidos de la planta como medio de diagnosticar el estado de nutrición de la misma.

El análisis de muestras vegetales puede precisar mejor que el del suelo el estado de nutrición de aquéllas. Sin embargo, ambos se complementan, pero ni uno ni otro, ni la combinación de los dos, como afirma SMITH (1962), pueden dar una respuesta completa.

Es a partir de 1920 cuando el análisis químico de la planta alcanza un gran desarrollo. Con las técnicas introducidas por LAGATU y MAUME (1929) en Francia, THOMAS y MACK (1941) en Estados Unidos, LUNDEGARDH (1951) en Suecia, y ROACH (1939) y algunos otros en Inglaterra, el diagnóstico foliar pretende controlar la evolución de los nutrientes en el interior de la planta.

Estos métodos han supuesto un gran avance para conocer

el estado óptimo de nutrición de una planta y llegar a conocer por tanto, las modificaciones que deben introducirse en la alimentación de un vegetal.

El análisis de tejidos se utiliza en la actualidad, principalmente, como una guía del estado nutritivo de la planta - (GOODALL y GREGORY, 1947). Por ello, los métodos de diagnóstico foliar están dirigidos a determinar la acción de los fertilizantes sobre la composición química de los tejidos y su relación con el rendimiento. Es decir, permite establecer una fórmula de fertilización para llevar a los cultivos a un estado de nutrición satisfactorio y obtener así los mejores rendimientos en las cosechas.

Para el análisis químico, se puede usar cualquier parte de la planta: hojas, raíces, frutos, limbos, peciolos, cortezas, etc. Sin embargo, es la hoja, en la mayoría de los casos, la que se elige como el tejido más adecuado, pues la sensibilidad a los cambios de su composición mineral ante variaciones del medio, junto con las transformaciones físico-químicas que tienen lugar en ellos y que regulan el crecimiento y el desarrollo, así como la evidencia experimental de las interrelaciones entre los elementos de este tejido, le hacen el más idóneo y asequible para el análisis. Además, la hoja es tejido fácil de recolectar. LAGATU y MAUME (1934) dicen que es el laboratorio químico de la planta y el testigo ideal para el muestreo.

Aunque se utilicen otro tipo de tejidos, se sigue denominando "análisis foliar" al análisis de tejidos destinados al diagnóstico nutritivo.

LUNDEGARDH (1951) describe las bases fisiológicas del aná

lisis como dependiente de dos procesos generales:

- a) La absorción y distribución de minerales por las plantas,
- b) Una relación cuantitativa entre los nutrientes absorbidos y el crecimiento.

Las consideraciones fundamentales (FERNANDEZ, 1966) en que se basa el sistema de trabajo son:

a) En un medio homogéneo y bajo los mismos factores externos, las hojas de la misma edad fisiológica dan los mismos resultados analíticos.

b) Hojas de plantas de la misma especie, cultivadas en medios desiguales ó sometidas a factores externos distintos, -- tendrán, en general, diagnósticos foliares diferentes. Si las plantas muestran respuestas (usando como criterio el desarro-llo ó el rendimiento) a diferentes medios ó factores (por ejem-plo, tratamiento con fertilizantes) dichas respuestas serán - reflejadas automáticamente por la composición química de la - hoja.

c) Puesto que los diagnósticos foliares están sujetos a variaciones de origen externo, como el clima u otros, no es po-sible utilizar, en sentido absoluto, los valores obtenidos. - Estos valores podrán tener utilización práctica cuando se utilizan hojas del mismo tipo, de la misma localidad, de la mis-ma especie y cultivadas en condiciones muy similares en cuan-to a factores externos se refiere.

Para que el análisis foliar sea válido, se debe proce--der con extremo cuidado en:

- a) Toma de muestra.
- b) Preparación de la misma.
- c) Métodos analíticos utilizados.

Debe establecerse una tabla de valores patrones para --
comparar los resultados.

a) Toma de muestra: La edad de la hoja es un dato impor
tante a tener en cuenta en las determinaciones analíticas. --
Hay tres variantes en su composición mineral que son función
de la edad: 1) Las hojas jóvenes, durante su desarrollo, pre-
sentan un gran aumento del contenido de elementos nutritivos;
2) Existe un período de semanas ó meses en el que los cambios
minerales son mínimos, y 3) Cuando se aproxima la senectud, -
los elementos móviles emigran.

Es, pues, la segunda fase la más adecuada para proceder
a la toma de muestra.

En general, los factores que afectan la composición mi-
neral de la hoja son los siguientes:

- 1) Efecto del crecimiento.
- 2) Efecto de la fructificación.
- 3) Efecto de la edad.
- 4) Efecto anual.
- 5) Efecto de translocación.

Todos ellos habrán de ser tenidos en cuenta cuando se -
quiera conseguir una repetividad del análisis.

La muestra debe envasarse en el mismo lugar de la toma
en bolsas de polietileno, con objeto de evitar posibles conta-
minaciones.

b) Preparación de la muestra: En general, la labor prepa-
rativa de una muestra vegetal para su análisis requiere los si
guientes pasos:

- 1) Homogeneización de la misma.

- 2) Lavado.
- 3) Secado.
- 4) Molienda.
- 5) Mineralización.

c) Métodos analíticos utilizados: Han de cumplir las condiciones de exactitud y precisión, inherentes a toda determinación analítica. Actualmente, en los laboratorios de análisis foliar se utilizan, principalmente, las siguientes técnicas - instrumentales:

- Espectrofotometría de absorción atómica.
- Espectrofotometría de absorción molecular.
- Fotometría de llama.

De los distintos pasos que componen la labor preparativa de una muestra vegetal, hemos centrado nuestra atención en el proceso de lavado.

Ya han quedado anticuadas las consideraciones de PIPER (1942), al no admitir que las muestras de plantas se lavasen por riesgo a perder algunos de los elementos más solubles, -- proponiendo eliminar mecánicamente las partículas sólidas adheridas a las hojas por medio de un pincel.

Diversos autores, entre ellos, MASON (1952) y SMITH, -- REUTHER y SPECHT (1950) comprobaron que no es suficiente la limpieza con un pincel, ni siquiera con un paño húmedo.

JACOBSON (1945) y ULRICH (1948) aseguran que es necesario lavar las hojas con solución de ClH diluido para determinar Fe. Y en general, y según MITCHELL (1960) aquellos elementos cuya razón de contenido "suelo/planta" es superior a cien son los únicos contaminantes que pueden alterar, por contaminación superficial, el verdadero contenido de elementos en análisis de plantas.

BATHURST (1948) utilizaba, para lavar muestras, soluciones de ácido acético al 2%, mientras que CHAPMAN y BROWN (1950) usaban soluciones de jabón para los mismos materiales.

STEYN (1959) utiliza una solución al 0,1% de un detergente sintético y encuentra buenos resultados.

NICHOLAS, LLOYD-JONES y FISHER (1957) utilizan también soluciones de detergente al 0,3%.

LABANAUSKAS (1966) estudia dos métodos de lavado. El primero es una solución de detergente al 1%, enjuagando, a continuación, las hojas en agua destilada. El segundo es aná-

logo al primero seguido de un sumergimiento en solución de ClH al 3%. Encontró que es suficiente el primer procedimiento siempre que las hojas sean lavadas apropiadamente.

LACHICA (1967) estudia comparativamente, para hojas de olivo, el lavado con solución 0,3 N de ClH y con solución de "mistol" al 1%, encontrando que la solución más conveniente es la de detergente.

Un problema inherente al lavado es la posible elución de algún elemento. MASON (1952) indica que el lavado se debe hacer con el material recién muestreado, pues la hoja fresca se defiende mejor de una posible elución.

De acuerdo con el autor antes citado, y con NICHOLAS, - LLOYD-JONES y FISHER (1957) es aconsejable que el tiempo utilizado en esta operación no sobrepase los 30 segundos.

El objeto de este trabajo es el estudio de 11 distintos elementos nutritivos minerales cuando el lavado se realiza -- sobre un material que no está recién muestreado. Es decir, -- comprobar si a partir de una muestra almacenada durante un -- período determinado de días se eluye más fácilmente alguno de sus elementos que cuando está recién muestreada. Para ello hemos empleado hojas de olivo.

C. 1- ESQUEMA DE TRABAJO

Muestra homogénea

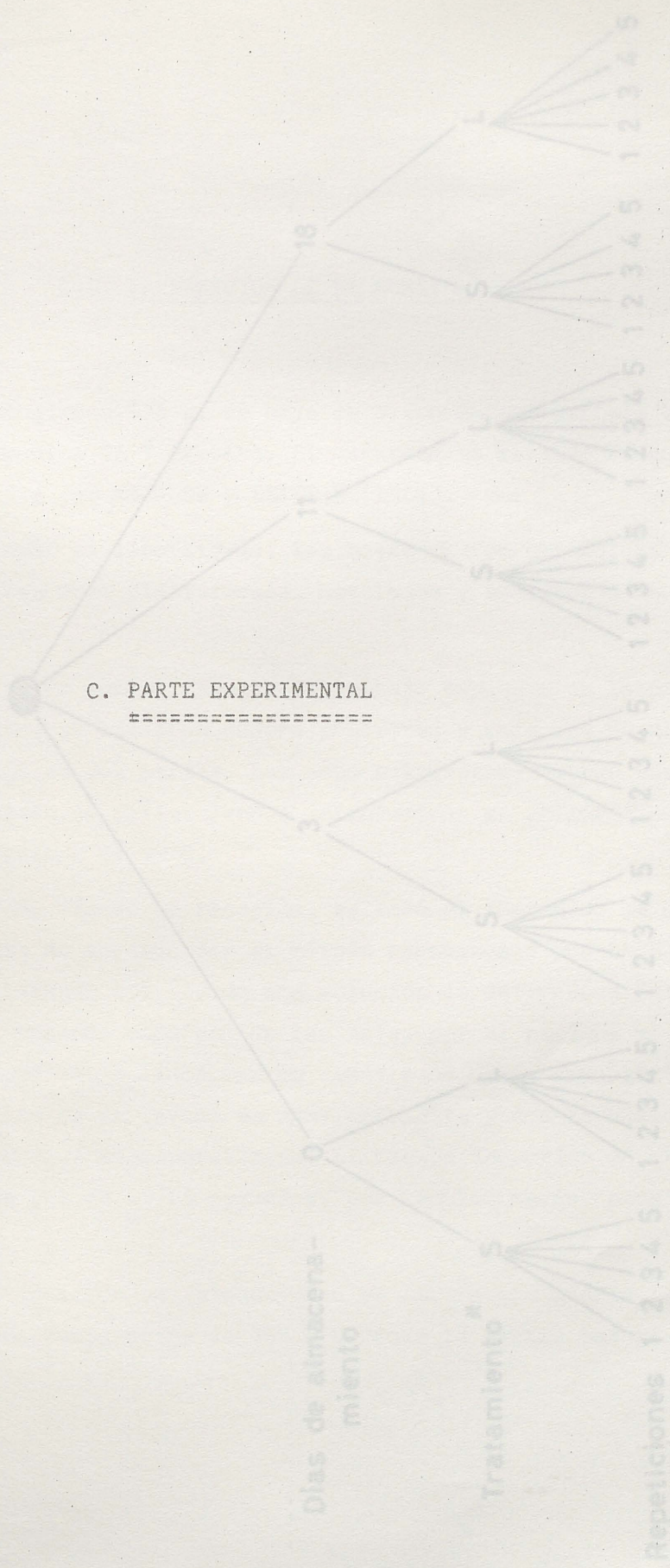
C. PARTE EXPERIMENTAL

Días de almacenamiento

Tratamiento*

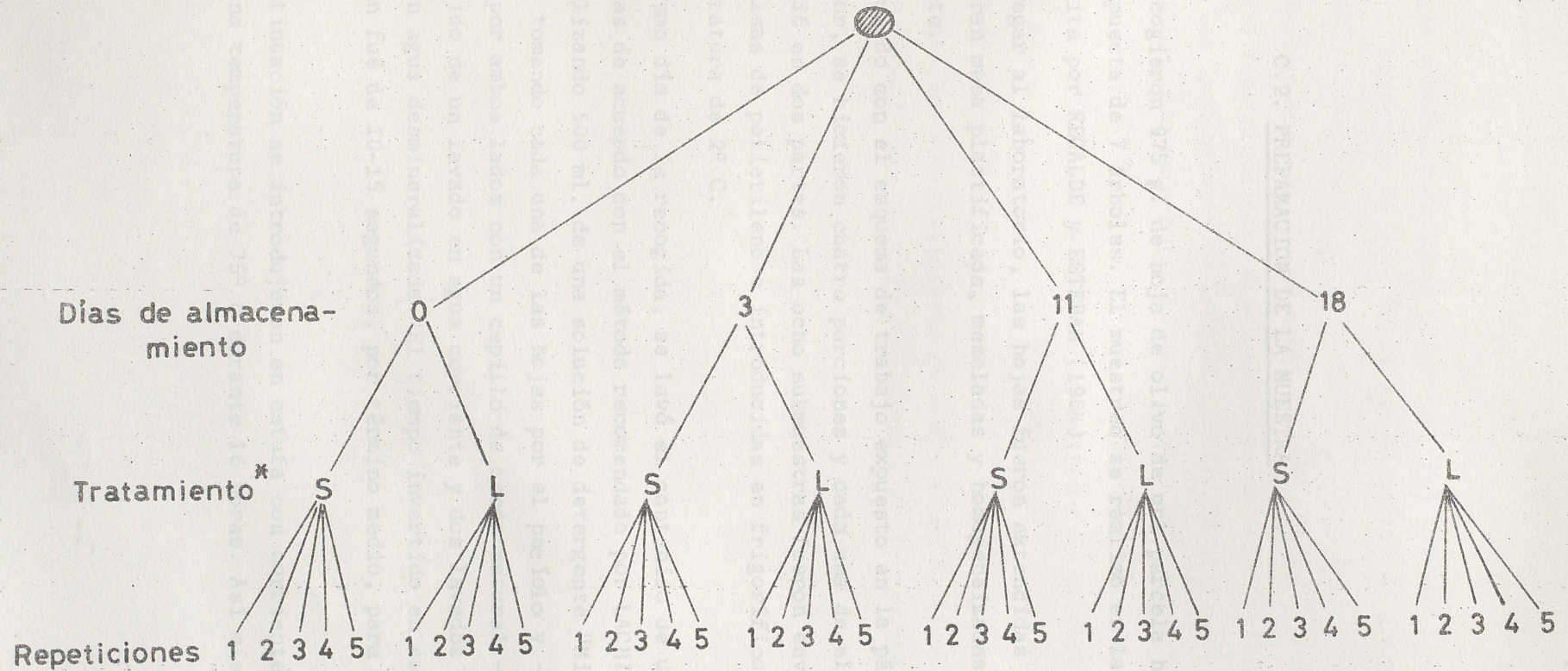
Repeticiones

* S = Hojas sin lavar; L = Hojas lavadas



C. 1- ESQUEMA DE TRABAJO

Muestra homogénea



* S = Hojas sin lavar; L = Hojas lavadas

no, y en las mismas condiciones descritas, fué introducida en la estufa el contenido de otra bolsa que NO sufrió el proceso de lavado.

C.2. PREPARACION DE LA MUESTRA

Se recogieron 975 g. de hoja de olivo de una parcela homogénea compuesta de 7 árboles. El muestreo se realizó en la forma descrita por RECALDE y ESTEBAN (1964).

Al llegar al laboratorio, las hojas fueron extendidas - sobre una gran mesa plastificada, mezcladas y homogeneizadas perfectamente.

De acuerdo con el esquema de trabajo expuesto en la página anterior, se hicieron cuatro porciones y cada una de ellas se subdividió en dos partes. Las ocho submuestras fueron envasadas en bolsas de polietileno e introducidas en frigorífico, a una temperatura de 2° C.

El mismo día de la recogida, se lavó el contenido de una de las bolsas de acuerdo con el método recomendado por LACHICA (1967), utilizando 500 ml. de una solución de detergente "Mistol" al 1%, tomando cada una de las hojas por el pecíolo y -- frotándola por ambos lados con un cepillo de cerda natural -- suave, seguido de un lavado en agua corriente y dos lavados sucesivos en agua desmineralizada. El tiempo invertido en esta operación fué de 10-15 segundos, por término medio, para cada hoja.

A continuación se introdujeron en estufa con corriente de aire a una temperatura de 75° C durante 16 horas. Así mis-

mo, y en las mismas condiciones descritas, fué introducida en la estufa el contenido de otra bolsa que NO sufrió el proceso de lavado.

Posteriormente, las hojas secas de ambos lotes (lavadas y sin lavar) fueron molidas en un molinillo de café "Philips", siguiendo las indicaciones de LACHICA (1967). Se utilizaron - dos molinillos, uno para hojas lavadas y otro para hojas sin lavar, con el fin de evitar posibles contaminaciones.

El material molido se introdujo, en vasos de vidrio, en una estufa durante 16 horas a 65° C, quedando así listo para proceder a su análisis.

Este proceso fué exactamente repetido a los 3, 11, y 18 días del muestreo, como se indica en el mencionado esquema de trabajo.

El 3, por Espectrofotometría de Absorción Molecular, utilizando como reactivo la AZOMETHINA-H, según el método descrito por LACHICA (1975).

El 11, por Espectrofotometría de Absorción Molecular, utilizando el reactivo nitrovanadomolibdico, según recomienda el C.I.T. (1980).

El 18, mediante el horno de inducción LECO, siguiendo la descripción de CADAHIA (1971).

C.3. MÉTODOS ANALÍTICOS UTILIZADOS

El Zn, Cu, Mn, Fe, Ca, y Mg fueron determinados usando la técnica de Espectrofotometría de Absorción Atómica, de acuerdo con el procedimiento descrito por el C.I.I. (COMITE INTER-INSTITUTOS PARA EL ESTUDIO DE TECNICAS ANALITICAS DE DIAGNOSTICO FOLIAR) (1973).

El N, previa Kjeldahlización, mediante la técnica de BOUAT y CROUZET (1965).

El K, por Fotometría de llama.

El B, por Espectrofotometría de Absorción Molecular, utilizando como reactivo la AZOMETHINA-H, según el método descrito por LACHICA (1976).

El P, por Espectrofotometría de Absorción Molecular, utilizando el reactivo nitrovanadomolibdico, según recomienda el C.I.I. (1969).

El S, mediante el horno de inducción LECO, siguiendo la descripción de CADAHIA (1971).

tilada.

g) Después de frío, transvasar el contenido del matraz Kjeldahl a uno aforado de 50 ml., lavando varias veces el primero con agua destilada.

C.4. MINERALIZACION PARA LA DETERMINACION DE NITROGENO (SOLUCION MINERALIZADA).

1) Material y aparatos

Batería de calefacción eléctrica.

Matraces aforados de 50 ml.

Matraces Kjeldahl de 100 ml.

Pipeta ó medidor automático de 5 ml.

2) Reactivos

Acido sulfúrico concentrado ($d=1,84$).

Catalizador: 80 g. de SO_4K_2 , R.A.; 20 g. de SO_4Cu anhidro, R.A., (pulverizado) y 2 g. de selenio puro. Se mezclan íntimamente en mortero.

3) Procedimiento

a) Pesar 0,200 g. de muestra seca e introducirlos en el matraz Kjeldahl.

b) Agregar 5 ml. de ácido sulfúrico concentrado, rotando el matraz para arrastrar la muestra que haya podido quedar adherida al cuello.

c) Dejar en contacto media hora.

d) Agregar 200 mg. de catalizador y, después de haber puesto 2 ó 3 bolitas de vidrio, calentar suavemente al principio y después llevar a ebullición.

e) Proseguir el calentamiento durante 1 hora.

f) Enfriar y añadir, de una sola vez, 30 ml. de agua des

tilada.

g) Después de frío, transvasar el contenido del matraz Kjeldalh a uno aforado de 50 ml., lavando varias veces el primero con agua destilada.

h) Enrasar el matraz aforado con agua y homogeneizar -- (SOLUCIÓN MINERALIZADA).

1) Material y aparatos

Pipeta de 5 ml.

Probeta de 5 ml.

Aparato de destilación y valoración BOUAT (1965).

2) Reactivos

- Indicador Shiro-Tashiro: Disolver 0,125 g. de rojo de metilo y 0,08 g. de azul de metileno en 100 ml. de etanol.

- Ácido sulfúrico 0,005 N: Tomar 25 ml. de ácido sulfúrico 0,1 N y verterles en un matraz aforado de 500 ml. Agregar 45 gotas de indicador Shiro-Tashiro y enrasar con agua.

- Alcohol al 50%: Mezclar volúmenes iguales de alcohol etílico y agua.

- NaOH, R.A., en lentejas.

3) Procedimiento

Enrasar la bureta automática del aparato BOUAT. Abrir el agua para que pase a través del refrigerante y de la trompa de vacío con suficiente fuerza. Encender el mechero, dejándolo a un lado. Poner, haciendo uso de la llave situada a la derecha del matraz colector, en comunicación el tubo superior de este matraz con la trompa de vacío. Verter 3 ó 4 ml. de ácido desde la bureta sobre el matraz colector.

Tomar 5 ml. del mineralizado e introducirles dentro del

matraz Kjeldahl del aparato seguidos por unos 10 ml. de agua destilada. Poner 2 g. de NaOH en lentejas (2 cucharaditas, -- aproximadamente) dentro de este matraz y acoplarlo inmediatamente al aparato, fijándolo con la pinza metálica de unión.

C.5. DETERMINACION DE NITROGENO

1) Material y aparatos

Pipeta de 5 ml.

Probeta de 5 ml.

Aparato de destilación y valoración BOUAT (1965).

2) Reactivos

- Indicador Shiro-Tashiro: Disolver 0,125 g. de rojo de metilo y 0,08 g. de azul de metileno en 100 ml. de etanol.

- Acido sulfúrico 0,005 N: Tomar 25 ml. de ácido sulfúrico 0,1 N y verterles en un matraz aforado de 500 ml. Agregar 40 gotas de indicador Shiro-Tashiro y enrasar con agua.

- Alcohol al 50%: Mezclar volúmenes iguales de alcohol etílico y agua.

- NaOH, R.A., en lentejas.

3) Procedimiento

Enrasar la bureta automática del aparato BOUAT. Abrir el agua para que pase a través del refrigerante y de la trompa de vacío con suficiente fuerza. Encender el mechero, dejándolo a un lado. Poner, haciendo uso de la llave situada a la derecha del matraz colector, en comunicación el tubo superior de este matraz con la trompa de vacío. Verter 3 ó 4 ml. de ácido desde la bureta sobre el matraz colector.

Tomar 5 ml. del mineralizado e introducirles dentro del

matraz Kjeldahl del aparato seguidos por unos 30 ml. de agua destilada. Poner 3 g. de NaOH en lentejas (2 cucharaditas, -- aproximadamente) dentro de este matraz y acoplarlo inmediatamente al aparato, fijándolo con la pinza metálica de unión.

Agitar suavemente este matraz hasta la total disolución del NaOH, en cuyo momento se coloca el mechero debajo del matraz. Al destilar el amoniaco se producirá un cambio de color en el ácido puesto en el matraz colector; en el instante de producirse este cambio de color se irá agregando gota a gota, ácido desde la bureta. Cuando se observa que el color persiste, se agrega por la columna superior de relleno 3 ml. de alcohol al 50% y se continúa la destilación hasta que se observa que no hay ningun nuevo cambio de color (2-3 minutos, aproximadamente). Se aparta el mechero a un lado y se hace la lectura de la bureta, anotando los ml. gastados de ácido.

Se gira la llave de la derecha del matraz colector de forma que se ponga en comunicación el tubo procedente del fondo de este matraz con la trompa de vacío, y se deja en esta posición.

Se quita la pinza metálica que sujeta el matraz Kjeldahl, tomando éste por el cuello con un paño. Se vuelve a colocar la llave de la parte derecha del matraz colector para que la aspiración se haga a través del tubito superior de éste. Se enrasa nuevamente la bureta, quedando el aparato en disposición de comenzar el siguiente análisis.

4) Cálculos

Si n es el número de ml. leídos en la bureta, el porcentaje de N en hoja seca será:

$$\%N = \frac{V. 0,05. 14}{2}$$

e) Añadir un poco de agua bidestilada para formar una pasta.
f) Añadir 1 ml. de ClH concentrado, lentamente, tapado.

0.6. MINERALIZACION PARA LA DETERMINACION CONJUNTA DE FOSFORO, POTASIO, CALCIO, MAGNESIO, HIERRO, MANGANESO, COBRE, ZINC y BORO.

1) Material y aparatos

Crisoles de cuarzo.

Embudos de vidrio.

Horno de mufla GALLENKAMP.

Matraces aforados de 100 ml.

Pipeta de 1ml.

Placa de calentamiento.

Vasos de vidrio de 50 ml.

Vidrios de reloj.

Papel de filtro lavado con ClH 1:1 en caliente y, posteriormente, con agua desionizada hasta reacción neutra.

2) Reactivos

- Agua bidestilada en cuarzo.

- ClH concentrado.

3) Procedimiento

a) Pesar aproximadamente 2 g. de muestra (cantidad exactamente conocida) en crisol de cuarzo.

b) Introducir los crisoles en el horno de mufla, elevar la temperatura gradualmente a 450° C y mantenerlos a esta temperatura durante 2 horas.

c) Sacar las muestras y dejarlas enfriar.

d) Transvasar con la ayuda de un pincel a vasos de 50 ml.

e) Añadir un poco de agua bidestilada para formar una -
pasta.

f) Añadir 1 ml. de ClH concentrado, lentamente, tapado
el vaso con vidrio de reloj.

g) Colocar los vasos en placa calefactora hasta la apa-
rición de los primeros vapores.

h) Filtrar a través de papel de filtro, recogiendo el -
filtrado en matraz aforado de 100 ml.

i) Lavar el papel tres veces con agua bidestilada calien-
te, recogiendo los lavados en el mismo matraz.

j) Enrasar con agua y homogeneizar. ("SOLUCION MINERALI-
ZADA").

probetas de 10 y 50 ml.

Espectrofotómetro de absorción SPECTRONIC 88 con cubeta
de flujo continuo.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de P: Pesar 0,3333 g. de
fosfato monopotásico ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$), R.A., previamente desecado a -
105° C en estufa durante 2 horas y mantenido en desecador, al
menos, 30 minutos. Disolver en agua y enrasar a 100 ml. Homoge-
nizar.

- Solución de 20 p.p.m. de P: Diluir 50 veces la solu-
ción anterior, tomando 10 ml. de la solución madre de 1000 -
p.p.m. y vertiéndolos en un matraz aforado de 500 ml. enrasar
con agua y homogeneizar.

- Reactivo nitrovanadomolibdico, preparado mezclando:

a) 100 ml. de molibdato amónico: Disolver 5 g. de mo-
libdato amónico en agua a 50° C y, una vez fría, enrasar en -
matraz aforado a 100 ml.

b) 100 ml. de vanadato amónico al 2,5%: Disolver 2,5
g. de vanadato amónico en 50 ml. de agua caliente, casi a ebu-

lución; añadir 2 ml. de HNO_3 ($d=1,33$) gota a gota y agitando.
Después de enfriar, llevar, en matraz aforado, a 100 ml.

c) 67 ml. de HNO_3 ($d=1,33$).

d) Enrasar con agua a 500 ml.

C.7. DETERMINACION DE FOSFORO

3) Procedimiento

En matraz aforado de 25 ml. poner: 5 ml. de la "solución mineralizada" y 5 ml. de reactivo nitrovanadomolibdico, enrasar

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Matraces aforados de 25, 100 y 500 ml.

Pipetas de 0,5, 5 y 10 ml.

Probetas de 10 y 50 ml.

Espectrofotómetro de absorción SPECTRONIC 88 con cubeta de flujo continuo.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de P: Pesar 0,4390 g. de fosfato monopotásico ($\text{PO}_4\text{H}_2\text{K}$), R.A., previamente desecado a 105°C en estufa durante 2 horas y mantenido en desecador, al menos, 30 minutos. Disolver en agua y enrasar a 100 ml. Homogeneizar.

- Solución de 20 p.p.m. de P: Diluir 50 veces la solución anterior, tomando 10 ml. de la solución madre de 1000 p.p.m. y vertiéndolos en un matraz aforado de 500 ml. enrasar con agua y homogeneizar.

- Reactivo nitrovanadomolibdico, preparado mezclando:

a) 100 ml. de molibdato amónico: Disolver 5 g. de molibdato amónico en agua a 50°C y, una vez fría, enrasar en matraz aforado a 100 ml.

b) 100 ml. de vanadato amónico al 2,5%: Disolver 2,5 g. de vanadato amónico en 50 ml. de agua caliente, casi a ebu

llición; añadir 2 ml. de NO_3H ($d=1,33$) gota a gota y agitando. Después de enfriar, llevar, en matraz aforado, a 100 ml.

c) 67 ml. de NO_3H ($d=1,33$).

d) Enrasar con agua a 500 ml.

3) Procedimiento

En matraz aforado de 25 ml. poner: 5 ml. de la "solución mineralizada" y 5 ml. de reactivo nitrovanadomolibdico, enrasando con agua seguidamente.

La medida espectrofotométrica se efectúa al cabo de 1 hora a una longitud de onda de 430 nm. frente a un blanco obtenido en las mismas condiciones que la muestra.

Las lecturas obtenidas se interpelan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces de 25 ml. se ponen 0, 2,5, 5, 7,5, 10, 12,5 y 15 ml. de la solución de 20 p.p.m. Añadir a cada uno de ellos 5 ml. de la solución de reactivo nitrovanadomolibdico. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 2, 4, 6, 8, 10, y 12 p.p.m.

5) Cálculos

Los resultados obtenidos se interpelan en la curva patrón. El porcentaje de P en muestra seca vendrá dado por:

$$\%P = \frac{n \cdot 0,25}{p \cdot v}$$

v= volumen tomado de "solución mineralizada".

n= concentración de P. en p.p.m., obtenida sobre la curva patrón.

p= peso en g. de la muestra.

2,5 ml. de la solución de 100 p.p.m. de K. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 p.p.m. de K.

C.8. DETERMINACION DE POTASIO

5) Cálculos

Si n es el número de p.p.m. encontrado sobre la curva patrón, el porcentaje de K en planta seca, será:

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Pipetas de 0,5, 2, y 10 ml.

Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml.

Fotómetro de llama EEL.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de K: Pesar 1,9067 g. de ClK, R.A., previamente desecado a 105°C en estufa durante 2 horas y enfriado en desecador durante 30 minutos. Ponerlos en un matraz aforado de 1000 ml. y disolver en agua. Enrasar y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 100 p.p.m. de K: 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. se vierten en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

a) Pipetear 2 ml. de la "solución mineralizada" y verterlos en un matraz aforado de 100 ml.

b) Añadir 1 ml. de ClH concentrado.

c) Enrasar con agua y homogeneizar.

d) Realizar la medida a una longitud de onda de 775 nm.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces de 50 ml., se ponen: 0, 0,5, 1, 1,5, 2 y --

2,5 ml. de la solución de 100 p.p.m. de K. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0. 1. 2. 3. 4 y 5 p.p.m. de K.

C. 3. DETERMINACIÓN DE CALCIO

5) Cálculos

Si n es el número de p.p.m. encontrado sobre la curva patrón, el porcentaje de K en planta seca, será:

$$\%K = \frac{n \cdot 0,5}{p}$$

siendo p el peso de muestra expresado en g.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Ca: En un matraz de 1000 ml. atacar 2,4073 g. de carbonato cálcico, R.A., con 5 ml. de ClH concentrado. Después, enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 100 p.p.m. de Ca: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m., verterlos en un matraz aforado de 100 ml., enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de Lantano al 3%: 35,1 g. de La_2O_3 se ataca con ClH concentrado, calentando suavemente, hasta disolución completa de La_2O_3 (se necesitan, aproximadamente, 60 ml. de ClH). Una vez fría la solución, se lleva a 1000 ml. con agua.

3) Procedimiento

a) Tomar 2 ml. de la "solución mineralizada" y verterlos en un matraz aforado de 100 ml.

b) Añadir 1 ml. de ClH concentrado.

c) Enrasar y homogeneizar.

d) Tomar 10 ml. de esta solución y verterlos en un frasco de polietileno limpio y seco.

e) Añadir 1 ml. de la solución de lantano al 3% y homogeneizar.

C.9. DETERMINACION DE CALCIO

f) Efectuar la medida espectrofotométrica.

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes:

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml.

Pipetas de 0,5, 2 y 10 ml.

Probeta de 100 ml.

Espectrofotómetro de absorción atómica PERKIN-ELMER, Modelo 290 B provisto de lámpara múltiple de cátodo hueco de Ca y Mg.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Ca: En un matraz de 1000 ml. atacar 2,4073 g. de carbonato cálcico, R.A., con 5 ml. de ClH concentrado. Después, enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 100 p.p.m. de Ca: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m., verterlos en un matraz aforado de 100 ml., enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de Lantano al 3%: 35,1 g. de La_2O_3 , se ataca con ClH concentrado, calentando suavemente, hasta disolución completa de La_2O_3 (se necesitan, aproximadamente, 60 ml. de ClH). Una vez fría la solución, se lleva a 1000 ml. con agua.

3) Procedimiento

a) Tomar 2 ml. de la "solución mineralizada" y verterlos en un matraz aforado de 100 ml.

b) Añadir 1 ml. de ClH concentrado.

c) Enrasar y homogeneizar.

d) Tomar 10 ml. de esta solución y verterlos en un frasco de polieteno limpio y seco.

e) Añadir 1 ml. de la solución de lantano al 3% y homogeneizar.

f) Efectuar la medida espectrofotométrica.

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: Longitud de onda 422,7 nm; rendija 0,7 nm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces de 50 ml., se ponen: 0, 1, 2, 3, 4 y 5 ml. de la solución de 100 p.p.m. de Ca. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 2, 4, 6, 8 y 10 p.p.m. de Ca.

Al igual que se hace con las muestras, es preciso hacer una dilución "Patrón: Solución de La" de 10: 1 con objeto de eliminar las posibles interferencias que daría lugar a la obtención de resultados por defecto.

5) Cálculos

Si n es el número de p.p.m. encontrados sobre la curva patrón, el porcentaje de Ca en planta seca, será:

$$\% \text{ Ca} = \frac{n \cdot 0,5}{P}$$

donde p es el peso de muestra expresada en g.

d) Efectuar la medida.

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: Longitud de onda 285, 2 nm; rendija 0,7 mm; llama oxidante: aire-acetileno.

C.10. DETERMINACION DE MAGNESIO

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml.

Pipetas de 0,5, 2 y 10 ml.

Espectrofotómetro de Absorción Atómica PERKIN-ELMER Modelo 290 B provisto de lámpara múltiple de cátodo hueco de Ca y Mg.

2) Reactivos

- Solución madre de magnesio de 1000 p.p.m.: En un matraz aforado de 1000 ml., atacar 1 g. de Mg (hilo de Mg) con 5 ml. de ClH concentrado. Terminado el ataque, enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución intermedia de 100 p.p.m. de Mg.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 10 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

a) Tomar 2 ml. de la "solución mineralizada" y verterlos en un matraz aforado de 100 ml.

b) Añadir 1 ml. de ClH concentrado.

c) Enrasar y homogeneizar.

d) Efectuar la medida.

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: Longitud de onda 285, 2 nm; rendija 0,7 nm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces aforados de 50 ml. se ponen 0, 2,5, 5, 7,5, y 10 ml. de la solución de 10 p.p.m. de Mg. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 0,5, 1, 1,5 y 2 p.p.m. de Mg.

5) Cálculos

Si n es el número de p.p.m. encontrados sobre la curva patrón, el porcentaje de Mg en planta seca, será:

$$\% \text{ Mg} = \frac{n \cdot 0,5}{p}$$

siendo p el peso de muestra expresado en g.

- Solución de trabajo de 100 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: Longitud de onda 248,3 nm; rendija 0,2 nm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces aforados de 50 ml., se ponen 0, 1,25, 2,5, 3,75, 5 y 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. de Fe. A cada matraz se le añade 0,5 ml. de HCl concentrado. Enrasar con agua y homogenizar. C.11. DETERMINACION DE HIERRO (0, 2,5, 5, 7,5, 10 y 20 p.p.m.)

5) Cálculos

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml.

Pipetas de 0,5 y 10 ml.

Espectrofotómetro de Absorción Atómica PERKIN-ELMER Modelo 290 B.

Lámpara múltiple de cátodo hueco de Fe, Mn, Cu y Zn.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Fe: Atacar 1 g. de Fe MERCK con 50 ml. de NO_3H (1:1) calentando. Después de frío, transferir a un matraz aforado de 1000 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 100 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: Longitud de onda 248,3 nm; rendija 0,2 nm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces aforados de 50 ml., se ponen 0, 1,25, 2,5, 3,75, 5 y 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. de Fe. A cada matraz se le añade 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con -- agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 2,5, 5, - 7,5, 10 y 20 p.p.m.

5) Cálculos

Siendo n la lectura obtenida sobre la curva patrón y p el peso en g. de la muestra tomada, el contenido en muestra -- seca será:

$$\text{p.p.m. Fe} = \frac{n \cdot 100}{p}$$

3) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Mn: Se disuelve 1,40 g. de Mn MERCK en un poco de HNO_3 (1:1). Se pone en un matraz aforado de 1000 ml. Se lleva a volumen con ClH al 1%. Homogeneizar.

- Solución de trabajo de 100 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: longitud de onda 278,5 nm; rendija 0,2 mm; llama oxidante: aj de acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces aforados de 50 ml., se ponen 0, 1,25, 2,5, 3,75, 5 y 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. de Mn. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Construir la curva patrón.

C.12. DETERMINACION DE MANGANESO

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Matraces aforados de 50, 100, y 1000 ml.

Pipetas de 0,5 y 10 ml.

Espectrofotómetro de Absorción Atómica PERKIN-ELMER Modelo 290 B.

Lámpara múltiple de cátodo hueco de Fe, Mn, Cu y Zn.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Mn: Se disuelve 1,40 g. de Mn MERCK en un poco de NO_3H (1:1). Se pone en un matraz aforado de 1000 ml. Se lleva a volumen con ClH al 1%. Homogeneizar.

- Solución de trabajo de 100 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: longitud de onda 279,5 nm; rendija 0,2 nm; llama oxidante: ai re-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces aforados de 50 ml., se ponen 0, 1,25, 2,5, 3,75, 5 y 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. de Mn. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 2,5, 5, 7,5, --- 10 y 20 p.p.m.

5) Cálculos

Se interpolan las lecturas en la curva patrón. Si n es la lectura obtenida y p el peso, en g. de muestra tomada, el contenido en materia seca será:

$$\text{p.p.m. Mn} = \frac{n \cdot 100}{p}$$

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Cu: En un matraz aforado de 1000 ml. se disuelven 3,9273 g. de $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, R.A. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución intermedia de 100 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 1000 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 10 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 p.p.m. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: longitud de onda 324,8 nm; rendija 0,7 nm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces de 50 ml. se ponen 0, 0,5, 1,25, 3, 7,5 y 10 ml. de la solución C.13. DETERMINACION DE COBRE a cada una 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 0,1, 0,25, 0,3, 3, 1,5 y 2 p.p.m.

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml.

Pipetas de 0,5 y 10 ml.

Espectrofotómetro de Absorción Atómica PERKIN-ELMER Modelo 290 B.

Lámpara múltiple de cátodo hueco de Fe, Mn, Cu y Zn.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Cu: En un matraz aforado de 1000 ml. se disuelven 3,9273 g. de $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$, R.A. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución intermedia de 100 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 1000 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 10 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 p.p.m. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: longitud de onda 324,8 nm; rendija 0,7 nm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces de 50 ml. se ponen 0, 0,5, 1,25, 5, 7,5 y 10 ml. de la solución de 10 p.p.m. de Cu. Añadir a cada matraz - 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar.- Contienen, respectivamente: 0, 0,1, 0,25, 0,5, 1, 1,5 y 2 --- p.p.m.

5) Cálculos

Si n es la lectura obtenida en la curva patrón, el resultado, expresado en p.p.m. de planta seca, será:

$$\text{p.p.m. Cu} = \frac{n \cdot 100}{P}$$

siendo p el peso en g. de la muestra tomada.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: longitud de onda 213,9 nm; rendija 0,7 mm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón.

obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces aforados de 50 ml., se ponen 0, 1, 2, 4, 8 y 10 ml. de la solución de 10 p.p.m. de Zn. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH . C.14. DETERMINACION DE ZINC agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6 y 2 p.p.m.

1) Material y aparatos

Bureta de 10 ml.

Matraces aforados de 50, 100 y 1000 ml.

Pipetas de 0,5 y 10 ml.

Espectrofotómetro de Absorción Atómica PERKIN-ELMER Modelo 290 B.

Lámpara múltiple de cátodo hueco de Fe, Mn, Cu y Zn.

2) Reactivos

- Solución madre de Zn de 1000 p.p.m.: En un matraz de 1000 ml., atacar 1 g. de Zn metal con 3,6 ml. de ClH concentrado. Terminado, el ataque, enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución intermedia de 100 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 10 p.p.m.: Tomar 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

3) Procedimiento

Se mide directamente sobre la "solución mineralizada".

Las condiciones del espectrofotómetro son las siguientes: longitud de onda 213,9 nm; rendija 0,7 nm; llama oxidante: aire-acetileno.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón,

obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces aforados de 50 ml., se ponen 0, 1, 2, 4, 8 y 10 ml. de la solución de 10 p.p.m. de Zn. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contienen, respectivamente: 0, 0,2, 0,4, 0,8, 1,6 y 2 -- p.p.m.

5) Cálculos

Se interpolan las lecturas en la curva patrón, y el resultado, expresado en p.p.m. de material vegetal seco, vendrá dado por:

$$\text{p.p.m. Zn} = \frac{n \cdot 100}{P}$$

siendo $n = n^\circ$ de p.p.m. encontrados en la curva patrón y $P = p_e$ peso de muestra tomada, expresada en g.

Espectrofotómetro de Absorción SPECTRONIC 88, equipado con cubeta de flujo continuo.

7) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Boro: Pesar 5,7150 g. de H_3BO_3 , R.A. previamente desecado en estufa a 105° durante 2 horas y enfriado en desecador durante 30 minutos. Verterlos en un matraz aforado de 1000 ml. y disolver con agua. Enrasar y homogeneizar.

- Solución intermedia de 100 p.p.m. de Boro: Verter 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 10 p.p.m. de B: Tomar 10 ml. de la solución de 100 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

C.15. DETERMINACION DE BORO

1) Material y aparatos

Baño de agua termostatzado.

Agitador mecánico de varilla.

Bureta de 10 ml.

Embudo de placa filtrante nº 3.

Matraces de 50, 100 y 1000 ml.

Tubos de ensayo de 15 ml.

pH-metro.

Pipetas de 0,5, 5 y 10 ml.

Espectrofotómetro de Absorción SPECTRONIC 88, equipado con cubeta de flujo continuo.

2) Reactivos

- Solución madre de 1000 p.p.m. de Boro: Pesar 5,7150 g. de BO_3H_3 , R.A. previamente desecado en estufa a 105° durante 2 horas y enfriado en desecador durante 30 minutos. Verterlos en un matraz aforado de 1000 ml. y disolver con agua. Enrasar y homogeneizar.

- Solución intermedia de 100 p.p.m. de Boro: Verter 10 ml. de la solución de 1000 p.p.m. en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Solución de trabajo de 10 p.p.m. de B: Tomar 10 ml. de la solución de 10 p.p.m. y verterlos en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar con agua y homogeneizar.

- Preparación de AZOMETHINA-H: en un vaso de 1 litro, -- poner 10 g. de la sal monosódica del ácido 4-amino-5-hidroxí-2, 7-naftalen-disulfónico y 500 ml. de agua. Mientras se agita, agregar NaOH al 10% hasta pH=7; sin dejar de agitar, acidificar con ClH concentrado hasta pH=1,5. Adicionar 10 ml. de salicilaldehído e introducir el vaso en el baño de agua, agitando vigorosamente durante una hora y calentando a 40-50°C.

Dejar reposar la solución durante, al menos, 16 horas, para conseguir una separación completa. Filtrar a través del embudo de placa y lavar 5 veces con etanol del 96%. El filtrado debe ser incoloro.

Secar el producto, color naranja, en estufa a 100°C durante tres horas y conservar en desecador.

- Solución de AZOMETHINA-H: disolver 0,9 g. de azomethina-H y 2 g. de ácido acórbico en 100 ml. de agua. Esta disolución debe prepararse cada día.

- Solución enmascarante: disolver 250 g. de acetato amónico, R.A., en 500 ml. de agua. Añadir 125 ml. de ácido acético del 99%. En esta solución, disolver 6,7 g. de EDTA-Na₂ y 6 ml. de ácido tioglicólico del 80%.

Todos estos reactivos deben guardarse en frascos de plástico.

3) Procedimiento

a) Tomar 5 ml. de la "solución mineralizada" y verterlos en un tubo de ensayo seco.

b) Añadir 4 ml. de solución enmascarante.

c) Añadir 2 ml. de solución de azomethina-H.

d) Tapar el tubo con papel "parafilm" y agitar.;

e) Realizar la medida espectrofotométrica al cabo de las

dos horas, frente a un ensayo en blanco obtenido en las mismas condiciones que la muestra, a una longitud de onda de 410 nm.

Las lecturas obtenidas se interpolan en la curva patrón, obtenida como se indica a continuación.

4) Curva patrón

En matraces de 50 ml. se ponen 0, 2, 4, 6 y 8 ml. de la solución de 10 p.p.m. de B. Añadir a cada matraz 0,5 ml. de ClH concentrado. Enrasar con agua y homogeneizar. Contendrán, respectivamente: 0, 0,4, 0,8, 1,2 y 1,6 p.p.m. El procedimiento a seguir es el mismo que el descrito para la muestra.

5) Cálculos

Se interpolan las lecturas en la curva patrón, expresando el resultado final en p.p.m. de material vegetal seco.

Como consecuencia de la combustión, los diversos compuestos de azufre contenidos en el material vegetal, son liberados en forma de SO_2 . Este gas es recogido en un matraz de reacción, siendo valorado de acuerdo con las reacciones siguientes:



2) Materiales y aparatos

Crisoles porosos LECO y tapas porosas.

Matraces aforados de 100 y 1000 ml.

Pipeta de 2 ml.

Probeta de 100 ml.

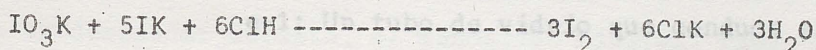
Aparato analizador de azufre, que consta de las siguientes partes:

a) Botella de gas oxígeno con mano-reductor.

b) C.16. DETERMINACION DE AZUFRE

1) Fundamento del método

La muestra, previamente seca, se introduce en un crisol de cerámica mezclada con catalizadores (generalmente hierro y estaño) que, además de hacer conductor el contenido del crisol, aceleran el proceso de combustión. El crisol se calienta a una temperatura de alrededor de 1600°C en corriente de oxígeno. Esta alta temperatura se consigue en pocos minutos mediante la inducción de un campo eléctrico en la muestra mezclada con los aceleradores antes mencionados. Como consecuencia de la combustión, los diversos compuestos de azufre contenidos en el material vegetal, son liberados en forma de SO_2 . Este gas es recogido en un matraz de reacción, siendo valorado de acuerdo con las reacciones siguientes:



2) Material y aparatos

Crisoles porosos LECO y tapas porosas.

Matraces aforados de 100 y 1000 ml.

Pipeta de 2 ml.

Probeta de 100 ml.

Aparato analizador de azufre, que consta de las siguientes partes:

- a) Botella de gas oxígeno con mano-reductor.
- b) Tren regulador y purificador: Regula el flujo de oxígeno de entrada al horno y purifica dicho gas con -- ascarita, perclorato de magnesio y ácido sulfúrico, que dando retenido el CO_2 , gases ácidos y la humedad del oxígeno.
- c) Horno LECO de inducción.
- d) Transformador variable LECO: Controla el voltaje aplicado al horno y, por tanto, la potencia que se consigue en la bobina inductora, con el fin de elevar paulatinamente la temperatura de combustión de las muestras.
- e) Sistema de valoración manual (modificación de LACHICA). Consta de un matraz reactor, de 250 ml. de capacidad y 75 mm. de diámetro, provisto de tapa con 5 bocas, con cierre roscado y ajuste de teflón, en cada una de las cuales va:
 - e-1: Un tubo de vidrio que conduce el -- SO_2 originado por la combustión de la muestra. -- Termina en un difusor de vidrio poroso que regula la difusión de los gases.
 - e-2: Por ella penetra el extremo de la -- bureta automática de valoración, de 10 ml. de capacidad.
 - e-3: Por ella penetra un tubo de vidrio que llega al fondo del recipiente. El otro extremo está unido a una llave de doble paso conectada a su vez, con una trompa de vacío. Su misión es --

vaciar el contenido del matraz de reacción, una vez finalizada ésta, manteniéndose cerrada durante la operación.

e-4: Penetra un tubo de vidrio, hasta unos 2 cm. por debajo del orificio de la tapa. El otro extremo está unido a la llave de doble paso que, a su vez, está conectado con la trompa de vacío. Su misión es permitir la salida de gases. Durante todo el proceso de valoración se mantiene la trompa de vacío sin hacer succión; solamente se le hace pasar una pequeña cantidad de agua que sirve para arrastrar los gases desprendidos al sumidero.

e-5: Por esta boca, tapada durante todo el proceso de valoración, se agregan los reactivos.

3) Reactivos

- Solución de iodato potásico de 0,1112 g. /1: Pesar 0,1112 g. de iodato potásico, R.A., en navecilla de vidrio, previamente desecado a 105°C en estufa durante 2 horas y mantenido en desecador durante, al menos, 30 minutos. Pasar dicha cantidad a un matraz aforado de 1000 ml., con la ayuda de un frasco lavador. Añadir agua y agitar hasta su total disolución. Enrasar y homogeneizar.

- Sn metal acelerador Leco.

- Fe metal acelerador Leco.

- Solución de IK y almidón: disolver 10 g. de almidón en agua fría y añadir la solución, gota a gota, a 250 ml. de agua hirviendo. Agregar 12 ml. de una solución de NaOH al 30% y diluir a 1000 ml. con agua, dejando enfriar. Disolver en esta so-

lución 24 g. de IK, R.A.

- Sulfato potásico, R.A. desecado en estufa a 105°C durante 2 horas y enfriado en desecador.

- Acido clorhídrico al 2%: poner 2 ml. de ClH concentrado en un matraz aforado de 100 ml. Enrasar y homogeneizar.

- Azida de sodio, R.A.

4) Procedimiento

a) Conectar a la red el aparato.

b) Colocar en "on" los mandos "Filament voltage" y "High voltage".

c) Colocar en el crisol poroso 0,1 g. de la muestra seca. Agregar 0,8 g. de Sn metal acelerador y 0,7 g. de Fe metal acelerador.

d) La llave de doble paso del matraz de reacción se coloca en la posición adecuada para que tenga salida la boca e-4.

e) Se destapa la boca e-5.

f) Se añaden 0,7 g. de Azida sódica al matraz de reacción, seguidos de, aproximadamente, 65 ml. de ClH al 2%, unos 2 ml. de la solución de IK y almidón, así como 2-3 gotas de la solución de IO_3K después de haber enrasado la bureta.

g) Cerrar la boca e-5.

h) Pasar O_2 con un flujo de 1 litro/minuto.

i) Colocar el transformador variable en la posición 40.

j) Situar el crisol en el horno, subiendo el elevador mecánico del mismo.

k) Transcurrido 1 minuto desde que se comienza a producir el desprendimiento de SO_2 , se avanza la posición del transformador variable a razón de 10 unidades cada 15 segundos hasta - llegar a 100. De esta forma, se va elevando paulatinamente la corriente de entrada del aparato y, por tanto, el potencial de las espiras.

1) Cuando la aguja del amperímetro "Plate" suba a 240 ó 250 ma (tarda 4 ó 5 minutos) el desprendimiento de SO_2 es muy rápido y la bureta del reactor hay que manejarla con rapidez, dejando caer de 0,2 a 0,3 ml. de IO_3K , cada vez que sea necesario, hasta color azul persistente durante unos segundos, en cuyo momento la adición de IO_3K ha de hacerse gota a gota.

11) La aguja del amperímetro "Plate" comienza a descender; cuando esto ocurre y si al cabo de un minuto no varía el color, se da por terminada la valoración.

m) Bajar el elevador mecánico y retirar el crisol.

n) Leer la cantidad de IO_3K consumido en la valoración.

0) Mediante la llave de doble paso, abrir la boca e-3 - del matraz de reacción, dando paso de agua a la trompa de vacío y será extraído el contenido de éste. Se realizan 2-3 lavados con agua y la llave se coloca de tal forma que quede -- abierta la boca e-4, colocando el transformador variable a ce ro y cortando el paso de agua de la trompa.

El aparato queda en condiciones de iniciar una nueva determinación.

Es necesario realizar una prueba en blanco y descontar el volumen gastado de IO_3K al consumido para cada muestra.

La relación entre el azufre y la solución de IO_3K , expresado en mg. de S/ml., se obtiene mediante la valoración con una substancia patrón, tal como SO_4K_2 , como se describe a con tinuación: se toman 50 mg. de SO_4K_2 . y se procede a su valora ción según el proceso descrito anteriormente.

5) Cálculos

Si n es el número de ml. de IO_3K gastados en una determi nación y b los ml. consumidos en el ensayo en blanco, el

$$\%S = \frac{(n-b) \times \text{mg. S/ml.}}{\text{peso de muestra en g.} \times 10}$$

En lo que sigue, se van a exponer los resultados analíticos obtenidos para los 11 elementos estudiados, seguidos de la correspondiente interpretación y discusión. Esta discusión nos exige el manejo de algunos cálculos estadísticos que nos permitan dar una adecuada interpretación a los mencionados resultados. Para ello, se han utilizado los esquemas que, sobre cálculo estadístico aplicado al análisis químico, de LACROIX (1962). Aunque, en su mayor parte, hemos seguido la nomenclatura adoptada por este autor, para los distintos términos utilizados, hemos creído conveniente, para mayor claridad, dar a continuación la equivalencia de todos los utilizados en este trabajo:

x = Resultados individuales.

$\bar{x}$ = Resultado medio.

$\bar{x}_1$ = Resultado medio de hojas lavadas.

$\bar{x}_2$ = **R. D. RESULTADOS OBTENIDOS Y DISCUSION**

T_1 = Suma de resultados individuales de hojas lavadas.

T_2 = Suma de resultados individuales de hojas sin lavar.

y = Término de corrección (= sustraendo general).

K = Número de series de resultados que se comparan.

n = Número de resultados de cada serie.

t = Coeficiente teórico de la tabla de Fischer.

t_{exp} = Coeficiente obtenido a partir de los datos experimentales.

d = Diferencia entre resultados medios.

s_m = Desviación típica de la media.

En lo que sigue, se van a exponer los resultados analíticos obtenidos para los 11 elementos estudiados, seguidos de la correspondiente interpretación y discusión. Esta discusión nos exige el manejo de algunos cálculos estadísticos que nos permitan dar una adecuada interpretación a los mencionados resultados. Para ello, se han utilizado los esquemas que, sobre cálculo estadístico aplicado al análisis químico, da LACROIX (1962). Aunque, en su mayor parte, hemos seguido la nomenclatura adoptada por este autor, para los distintos términos utilizados, hemos creído conveniente, para mayor claridad, dar a continuación la equivalencia de todos los utilizados en este trabajo:

x = Resultados individuales.

$\bar{x}$ = Resultado medio.

$\bar{x}_I$ = Resultado medio de hojas lavadas.

$\bar{x}_S$ = Resultado medio de hojas sin lavar.

T_1 = Suma de resultados individuales de hojas lavadas.

T_S = Suma de resultados individuales de hojas sin lavar.

y = Término de corrección (= sustraendo general).

K = Número de series de resultados que se comparan.

n = Número de resultados de cada serie.

t = Coeficiente teórico de la tabla de Fischer.

t_{exp} = Coeficiente obtenido a partir de los datos experimentales.

d = Diferencia entre resultados medios.

s_m = Desviación típica de la media.

s_d = Desviación típica de la diferencia.

s_1 = Desviación típica para el conjunto de los resultados de hojas lavadas.

s_s = Desviación típica para el conjunto de los resultados de hojas sin lavar.

F = Valor teórico de la tabla de Snedecor.

F_{exp} = Razón de varianzas, obtenida a partir de los datos experimentales.

Por último, sólo debemos advertir que todos los valores de significación, están dados para una probabilidad del 95%, límite seleccionado arbitrariamente pero aceptado universalmente para este tipo de trabajos.

Por otra parte, la comparación entre todos los valores de la Tabla 3 y de la Tabla 2 indica que no existen tampoco diferencias significativas entre hojas lavadas y sin lavar, como se deduce de la Tabla 4, lo cual está de acuerdo con LACHICA (1957). Además, los dos métodos son igualmente exactos, como puede apreciarse en la Tabla 5.

Tabla 1

Nitrógeno (%) en materia seca) - Hojas lavadas.

D.1. NITROGENO

Repeticiones

Días de almacenamiento

Como puede observarse en los valores medios resumidos en la última fila de la Tabla 1, no existe ninguno inferior al correspondiente a los 0 días de almacenamiento de las hojas, hecho que indica que no existe elución de este elemento si se almacena el material vegetal en frigorífico y se lava después de transcurridos, al menos, hasta 18 días, debiéndose las oscilaciones que presentan los distintos valores encontrados a errores al azar, como lo demuestra el hecho de no existir diferencias significativas al efectuar la comparación simultánea entre todos los tiempos de almacenamiento, según se deduce de la Tabla 3.

Por otra parte, la comparación entre todos los valores de la Tabla 1 y de la Tabla 2 indica que no existen tampoco diferencias significativas entre hojas lavadas y sin lavar, como se deduce de la Tabla 4, lo cual está de acuerdo con LACHICA (1967). Además, los dos métodos son igualmente exactos, como puede apreciarse en la Tabla 5.

	0	3	11	18
1	1,75	1,82	1,82	1,82
2	1,79	1,82	1,82	1,79
3	1,79	1,86	1,82	1,82
4	1,79	1,86	1,79	1,79
5	1,75	1,86	1,82	1,82
TOTAL	8,91	9,22	9,07	9,04
MEDIA	1,782	1,844	1,814	1,808

Tabla 1

Nitrógeno (% en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	1,75	1,86	1,79	1,79
2	1,82	1,82	1,82	1,79
3	1,82	1,82	1,82	1,82
4	1,82	1,82	1,82	1,79
5	1,79	1,82	1,82	1,86
TOTAL	9,00	9,14	9,07	9,05
MEDIA	1,800	1,828	1,814	1,810

Tabla 2

Nitrógeno (% en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	1,79	1,82	1,82	1,82
2	1,79	1,82	1,82	1,79
3	1,79	1,86	1,82	1,82
4	1,79	1,86	1,79	1,79
5	1,75	1,86	1,82	1,82
TOTAL	8,91	9,22	9,07	9,04
MEDIA	1,782	1,844	1,814	1,808

Tabla 3

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

Comparación entre tiempos de almacenamiento. (hojas lavadas)

$K = 4$

$n = 5$

$\Sigma x^2 = 65,751$

$y = (\Sigma x)^2/20 = 65,740$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	$A = 0,011$	19	
Variación de tratamientos	$B = 0,0014$	3	$V_t = 0,00046$
Variación de error experimental	$A-B = 0,0096$	16	$V_e = 0,0006$

$F_{exp} = V_t/V_e = 0,76$

$F = 3,24$

Tabla 4

Comparación de exactitudes

$\bar{x}_1 = 1,813$ $\bar{x}_2 = 1,812$ $d = 0,001$ $s_d = 2,783409 \cdot 10^{-2}$
 $t_{exp} = d/s_d = 3,5 \cdot 10^{-4}$ $t = 2,093$

Tabla 4

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

$$\begin{aligned}\bar{x}_1 &= 1,813 & \bar{x}_s &= 1,812 \\ T_1 &= 36,26 & T_s &= 36,24 \\ \Sigma(x_1^2) &= 65,751 & \Sigma(x_s^2) &= 65,6816\end{aligned}$$

$$y = 131,40625$$

Según se deduce de la observación de los valores salios

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 0,02635	39	$V_T = 0,0006756$
Variación de tratamientos	B = 0,00001	1	$V_t = 0,00001$
Variación del error experimental	A-B=0,02634	38	$V_e = 0,0006931$

$$d = 0,001$$

$$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / n} = 0,0083256$$

$$t_{\text{exp}} = d/s_d = 0,12$$

$$t = 2,037$$

Tabla 5

Comparación de exactitudes

$$\begin{aligned}\bar{x}_I &= 1,813 & \bar{x}_s &= 1,812 & d &= 0,001 & s_s &= 2,783409 \cdot 10^{-2} \\ t_{\text{exp}} &= d/s_s = 3,5 \cdot 10^{-4} & t &= 2,093\end{aligned}$$

Tabla 6

Fósforo (% en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
		11	18	

D.2. FOSFORO

Según se deduce de la observación de los valores medios de la Tabla 6, todos ellos están muy próximos entre sí, no existiendo ninguno inferior a los 0 días de almacenamiento, lo que nos conduce a creer que no existe elución de este elemento si las hojas se mantienen refrigeradas, por lo menos, hasta 18 días después de recolectadas. Sin embargo, el análisis de la varianza, realizado para los distintos períodos de almacenamiento, indica que el valor medio para la muestra sin almacenar es distinto del encontrado para los de las muestras almacenadas que, a su vez, son iguales entre sí. Este hecho es debido solo y exclusivamente a la igualdad existente en los valores medios de estas últimas, careciendo de significación práctica para la hipótesis de nuestro trabajo (Tabla 8).

En segundo lugar, se han comparado todos los valores de la Tabla 6 y de la Tabla 7, no encontrando diferencias significativas entre los dos tratamientos efectuados (material lavado y sin lavar), lo que está de acuerdo con LACHICA (1967) para el cultivo estudiado. Este hecho se pone de manifiesto en la Tabla 9.

5	0,095	0,095	0,095	0,095
TOTAL	0,475	0,475	0,475	0,475
MEDIA	0,0950	0,0950	0,0950	0,0950

Tabla 6

Fósforo (% en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,094	0,095	0,095	0,095
2	0,095	0,095	0,095	0,095
3	0,094	0,095	0,095	0,095
4	0,094	0,095	0,095	0,095
5	0,095	0,095	0,095	0,095
TOTAL	0,472	0,475	0,475	0,475
MEDIA	0,0944	0,0950	0,0950	0,0950

Tabla 7

Fósforo (% en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,095	0,095	0,095	0,095
2	0,095	0,095	0,095	0,095
3	0,095	0,095	0,095	0,095
4	0,095	0,095	0,095	0,095
5	0,095	0,095	0,095	0,095
TOTAL	0,475	0,475	0,475	0,475
MEDIA	0,0950	0,0950	0,0950	0,0950

Tabla 8

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas)

$K = 4$

$n = 5$

$\Sigma x^2 = 0,179933$

$y = (\Sigma x)^2 / 20 = 0,17993045$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A=0,00000255	19	
Variación de tratamientos	B=0,00000135	3	$V_t = 4,5 \cdot 10^{-7}$
Variación del error experimental	A-B=0,0000012	16	$V_e = 7,5 \cdot 10^{-8}$

$F_{\text{exp}} = V_t / V_e = 6$

$F = 3,24$

$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / n} = 0,000173$

$t = 2,12$

$d = t \cdot s_d = 0,000367$

Almacenamiento → ↓ (días)		0	3	11	18
Médias → ↓		0,0944	0,0950	0,0950	0,0950
0	0,0944	+			
3	0,0950		+	+	+
11	0,0950		+	+	+
18	0,0950		+	+	+
$\bar{x}-d$		0,09403	0,09463	0,09463	0,09463
$\bar{x}+d$		0,09476	0,09536	0,09536	0,09536

Tabla 9

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar

$\bar{x}_1 = 0,09485$

$\bar{x}_s = 0,0950$

$T_1 = 1,897$

$T_s = 1,900$

$\Sigma(x_1^2) = 0,179933$

$\Sigma(x_s^2) = 0,1805$

$y = 0,360430225$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A=0,000002775	39	$V_T=71,1538.10^{-7}$
Variación de tratamientos	$B=2,25.10^{-7}$	1	$V_t=2,25.10^{-7}$
Variación del error experimental	$A-B=25,5.10^{-7}$	38	$V_e=0,671052.10^{-7}$

$d = 0,00015$

$s_d = \sqrt{2.V_e/n} = 0,82.10^{-4}$

$t_{exp.} = 1,829$

$t = 2,037$

Tabla 10

Potasio (K en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	11	18	
1	0,79	0,77	0,77	0,79

D.3. POTASIO

En la Tabla 10 se observa que existen fluctuaciones en los valores medios obtenidos para los distintos días de almacenamiento de las hojas, no existiendo una tendencia definida a la pérdida de este elemento a medida que aumenta el tiempo. Además, en el estudio estadístico del efecto de los tiempos - de almacenamiento para hojas lavadas, resumido en la Tabla 12, se pone de manifiesto que no existen diferencias significativas entre las series correspondientes a los 0 y los 18 días.- Esto nos permite pensar que a medida que aumenta el tiempo de almacenamiento no se puede demostrar que exista elución, y -- que las diferencias existentes han de ser debidas a errores - al azar, atribuibles a la técnica instrumental seguida para - la determinación o al conjunto de operaciones previas a la -- misma.

Por último, la comparación entre los resultados obtenidos para el material lavado y sin lavar (Tablas 10 y 11) indica que no existen diferencias significativas entre ambos métodos de preparación de la muestra, como se aprecia en la Tabla 13, siendo, por otra parte, ambos métodos igualmente exactos al ser nula la diferencia entre sus resultados medios, como - ya había sido preconizado por LACHICA (1967).

TOTAL	3,81	3,89	3,88	3,87
MEDIA	0,792	0,778	0,776	0,774

Tabla 10

Potasio (% en materia seca) - Hojas lavadas. lavadas)

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,79	0,77	0,77	0,79
2	0,80	0,77	0,77	0,79
3	0,77	0,77	0,77	0,79
4	0,77	0,77	0,78	0,78
5	0,78	0,77	0,77	0,78
TOTAL	3,91	3,85	3,86	3,93
MEDIA	0,782	0,770	0,772	0,786

Tabla 11

Potasio (% en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,78	0,77	0,77	0,78
2	0,78	0,78	0,80	0,77
3	0,77	0,77	0,77	0,77
4	0,80	0,80	0,77	0,77
5	0,78	0,77	0,77	0,78
TOTAL	3,91	3,89	3,88	3,87
MEDIA	0,782	0,778	0,776	0,774

Tabla 12

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas)

$K = 4$

$n = 5$

$\Sigma x^2 = 12,0919$

$y = (\Sigma x)^2/20 = 12,090125$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	$A = 0,001775$	19	
Variación de tratamientos	$B = 0,000895$	3	$V_t = 29,83 \cdot 10^{-5}$
Variación del error experimental	$A - B = 0,00088$	16	$V_e = 5,5 \cdot 10^{-5}$

$F_{exp.} = V_t/V_e = 5,42$

$F = 3,24$

$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e/n} = 0,00469$

$t = 2,12$

$d = t \cdot s_d = 0,00994$

Almacenamiento → ↓ (días)	3	11	0	18
Medias → ↓	0,770	0,772	0,782	0,786
3	0,770	+	+	
11	0,772	+	+	
0	0,782		+	+
18	0,786		+	+
$\bar{x} - d$	0,760	0,762	0,772	0,776
$\bar{x} + d$	0,780	0,782	0,792	0,796

Tabla 13

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

$\bar{x}_1 = 0,7775$
 $T_1 = 15,55$
 $\Sigma(x_1^2) = 12,0919$

$\bar{x}_s = 0,7775$
 $T_s = 15,55$
 $\Sigma(x_s^2) = 12,0923$

$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 24,18025$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A= 0,00395	39	$V_T = 101,28 \cdot 10^{-6}$
Variación de tratamientos	B= 0	1	$V_t = 0$
Variación del error experimental	A-B= 0,00395	38	$V_e = 103,94 \cdot 10^{-6}$

$d = 0$
 $t_{exp} = d/s_d = 0$

$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / n} = 0,003224$
 $t = 2,037$

Este hecho, junto al estudio comparativo de los bloques completos de hojas lavadas frente a no lavadas (Tablas 14 y 15) nos llevan a la conclusión de que no es necesario lavar la hoja de olivo para la determinación de este elemento, ya que carece de significación estadística dicha comparación, - como se deduce de la Tabla 18, hecho demostrado anteriormente por LACHICA (1967).

Por otra parte, ambos métodos son igualmente exactos como puede comprobarse en la Tabla 19, ya que el valor de la t_{exp} es inferior al coeficiente tabúlico de la Tabla de Fischer.

D.4. CALCIO

Se observa en la Tabla 14 que el valor medio de los resultados obtenidos se mantiene constante hasta los 11 días de almacenamiento en frigorífico, sufriendo una disminución significativa a los 18 días, como se aprecia en la Tabla 16. Podría pensarse que para un período de tiempo superior a los 11 días se produce una elución de este elemento al lavar las hojas ó bien que este descenso es debido a algún error accidental.

Para salvar esta duda, hemos realizado la comparación entre las dos series analizadas tras 18 días de almacenamiento (las sometidas a lavado y las sin lavar). Los resultados obtenidos, resumidos en la Tabla 17, nos permiten concluir - que dicho descenso, efectivamente, es debido, a un error accidental al no existir una diferencia significativa entre dichas series.

Este hecho, junto al estudio comparativo de los bloques completos de hojas lavadas frente a no lavadas (Tablas 14 y 15) nos llevan a la conclusión de que no es necesario lavar la hoja de olivo para la determinación de este elemento, ya que carece de significación estadística dicha comparación, - como se deduce de la Tabla 18, hecho demostrado anteriormente por LACHICA (1967).

Por otra parte, ^{Tabla 14} ambos métodos son igualmente exactos co
mo puede comprobarse en la Tabla 19, ya que el valor de la --
texp es inferior al coeficiente teórico de la Tabla de Fischer.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	1,7	1,7	1,7	1,6
2	1,7	1,7	1,7	1,7
3	1,7	1,7	1,7	1,6
4	1,7	1,7	1,7	1,7
5	1,7	1,7	1,7	1,6
TOTAL	8,5	8,5	8,5	8,2
NEDIA	1,70	1,70	1,70	1,64

Tabla 15

Calcio (% en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	1,7	1,7	1,7	1,7
2	1,7	1,7	1,7	1,7
3	1,9	1,7	1,7	1,7
4	1,6	1,7	1,7	1,7
5	1,7	1,7	1,7	1,5
TOTAL	8,6	8,5	8,5	8,4
NEDIA	1,72	1,70	1,70	1,68

Tabla 14

Calcio (% en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	1,7	1,7	1,7	1,6
2	1,7	1,7	1,7	1,7
3	1,7	1,7	1,7	1,6
4	1,7	1,7	1,7	1,7
5	1,7	1,7	1,7	1,6
TOTAL	8,5	8,5	8,5	8,2
MEDIA	1,70	1,70	1,70	1,64

Tabla 15

Calcio (% en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	1,7	1,7	1,7	1,7
2	1,7	1,7	1,7	1,7
3	1,9	1,7	1,7	1,7
4	1,6	1,7	1,7	1,7
5	1,7	1,7	1,7	1,6
TOTAL	8,6	8,5	8,5	8,4
MEDIA	1,72	1,70	1,70	1,68

Tabla 16

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas)

$K = 4$

$n = 5$

$\Sigma x^2 = 56,81$

$y = (\Sigma x)^2 / 20 = 56,7845$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	$A = 0,0255$	19	
Variación de tratamientos	$B = 0,0135$	3	$V_t = 0,0045$
Variación del error experimental	$A-B = 0,012$	16	$V_e = 0,00075$

$F_{\text{exp}} = V_t / V_e = 6$

$F = 3,24$

$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / n} = 0,0173$

$t = 2,12$

$d = t \cdot s_d = 0,037$

Almacenamiento →		18	0	3	11
↓ (días)					
Medias →		1,64	1,70	1,70	1,70
↓					
18	1,64	+			
0	1,70		+	+	+
3	1,70		+	+	+
11	1,70		+	+	+
$\bar{X}-d$		1,603	1,663	1,663	1,663
$\bar{X}+d$		1,677	1,737	1,737	1,737

Tabla 17

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar a los 18 días de almacenamiento

$$\bar{x}_1 = 1,64$$

$$T_1 = 8,2$$

$$\Sigma x_1^2 = 13,46$$

$$\bar{x}_s = 1,68$$

$$T_s = 8,4$$

$$\Sigma x_s^2 = 14,12$$

$$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 27,556$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 0,024	9	$V_T = 0,002666$
Variación de tratamientos	B = 0,004	1	$V_t = 0,004$
Variación del error experimental	A-B = 0,02	8	$V_e = 0,0025$

$$d = 0,04$$

$$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / n} = 0,03162$$

$$t_{\text{exp}} = d / s_d = 1,265$$

$$t = 2,306$$

Tabla 18

Comparación de exactitudes

$$\bar{x}_1 = 1,685$$

$$\bar{x}_s = 1,700$$

$$d = 0,015$$

$$s_d = 5,619516 \cdot 10^{-2}$$

$$t_{\text{exp}} = d / s_d = 0,266$$

$$t = 2,093$$

Tabla 18

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar

$\bar{x}_1 = 1,685$
 $T_1 = 33,7$
 $\Sigma x_1^2 = 56,81$

$\bar{x}_s = 1,70$
 $T_s = 34$
 $\Sigma(x_s^2) = 57,86$

$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 114,58225$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 0,08775	39	$V_T = 2,25 \cdot 10^{-3}$
Variación de tratamientos	$B = 2,25 \cdot 10^{-3}$	1	$V_t = 2,25 \cdot 10^{-3}$
Variación del error experimental	A-B = 0,0855	38	$V_e = 2,25 \cdot 10^{-3}$

$d = 0,015$
 $t_{exp} = 1$

$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / n} = 0,015$
 $t = 2,037$

Tabla 19

Comparación de exactitudes

$\bar{x}_1 = 1,685$
 $t_{exp} = d/s_s = 0,266$

$\bar{x}_s = 1,700$
 $t = 2,093$

$d = 0,015$
 $s_s = 5,619514 \cdot 10^{-2}$

mento y, por otra parte, las investigaciones realizadas por LABANAUSKAS (1966) en cítricos, quien encuentra que existe elución de este elemento durante el proceso de lavado, y las de LACHICA (1957) que, a pesar de no encontrar significación siempre observa un ligero aumento en el contenido de este elemento en hojas lavadas, nos inducen a pensar que los valores inferiores encontrados después de someter a lavado el

D.5. MAGNESIO

Al comparar los datos de las Tablas 20 y 21 puede observarse que siempre se obtienen valores superiores del contenido en este elemento para las hojas no lavadas, independientemente del tiempo que se mantuvieron almacenadas a 2°C. Dichos valores son estadísticamente significativos como se deduce de la Tabla 22. Este hecho podría ser debido: 1) A la eliminación, durante el lavado, de una posible contaminación superficial; 2) A que este elemento se eluya durante el mencionado proceso de lavado, o 3) A que ambos efectos se den conjuntamente.

La comparación entre tiempos de almacenamiento para hojas lavadas, que presentamos en la Tabla 24, nos permite apreciar que, en líneas generales, al aumentar el tiempo de almacenamiento aumenta también la pérdida de este elemento por elución.

Al comparar las series de resultados obtenidos lavando y sin lavar el material vegetal antes de almacenarlo (0 días), resulta haber diferencia significativa entre ambos lotes de hojas, como se deduce de la Tabla 23.

Sin embargo, no tenemos elementos de juicio suficientes para poder discernir a cuál de las causas enunciadas anteriormente es debida la pérdida de este elemento. No obstante, teniendo en cuenta el criterio de MITCHELL (1960) acerca de que la razón "suelo/planta" nunca es superior a 100 para este ele

mento y, por otra parte, las investigaciones realizadas por LABANAUSKAS (1966) en cítricos, quien encuentra que existe - elución de este elemento durante el proceso de lavado, y las de LACHICA (1967) que, a pesar de no encontrar significación siempre observa un ligero decrecimiento en el contenido de - este elemento en hojas lavadas, nos inducen a pensar que los valores inferiores encontrados después de someter a lavado el material vegetal es debido a que parte del Mg se eluye con - suma facilidad.

	0,13	0,13	0,13	0,13
4	0,12	0,13	0,13	0,13
5	0,13	0,13	0,13	0,13
TOTAL	0,64	0,65	0,64	0,64
MEDIA	0,128	0,130	0,132	0,130

Table 21

Magnesium (%) in dry matter - Leaves not washed

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,14	0,14	0,14	0,14
2	0,14	0,14	0,14	0,14
3	0,15	0,14	0,14	0,14
4	0,13	0,14	0,14	0,14
5	0,13	0,14	0,14	0,14
TOTAL	0,69	0,70	0,70	0,70
MEDIA	0,138	0,140	0,140	0,140

Tabla 20

Magnesio (% en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,13	0,13	0,12	0,12
2	0,13	0,13	0,12	0,13
3	0,13	0,13	0,12	0,12
4	0,12	0,13	0,13	0,12
5	0,13	0,13	0,12	0,12
TOTAL	0,64	0,65	0,61	0,61
MEDIA	0,128	0,130	0,122	0,122

Tabla 21

Magnesio (% en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,14	0,14	0,14	0,14
2	0,14	0,14	0,14	0,14
3	0,15	0,14	0,14	0,14
4	0,13	0,14	0,14	0,14
5	0,13	0,14	0,14	0,14
TOTAL	0,69	0,70	0,70	0,70
MEDIA	0,138	0,140	0,140	0,140

Tabla 22

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar

$$\bar{x}_1 = 0,1255$$

almacenarlas

$$\bar{x}_s = 0,1395$$

$$T_1 = 2,51$$

$$T_s = 2,79$$

$$\Sigma(x_1^2) = 0,3155$$

$$\Sigma(x_s^2) = 0,3895$$

$$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 0,70225$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 0,00275	39	$V_T = 70,51 \cdot 10^{-6}$
Variación de tratamanientos	B = 0,00196	1	$V_t = 0,00196$
Variación del error experimental	A-B = 0,00079	38	$V_e = 20,79 \cdot 10^{-6}$

$$d = 0,014$$

$$s_d = 1,441839 \cdot 10^{-3}$$

$$t_{\text{exp}} = d/s_d = 9,7$$

$$t = 2,037$$

Tabla 23

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar antes de almacenarlas

$$K = 4$$
$$\bar{x}_1 = 0,128$$
$$T_1 = 0,64$$
$$\Sigma(x_1^2) = 0,082$$

$$n = 5$$
$$\bar{x}_s = 0,138$$
$$T_s = 0,69$$
$$\Sigma(x_s^2) = 0,0955$$

$$y = (T_1 + T_s)^2 / 10 = 0,17689$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A= 0,00061	9	$V_T = 6,77 \cdot 10^{-5}$
Variación de Tratamientos	B = 0,00025	1	$V_t = 0,00025$
Variación del error experimental	A-B = 0,00036	8	$V_e = 4,5 \cdot 10^{-5}$

$$d = 0,01$$
$$t_{exp} = d/s_d = 2,357$$

$$s_d = 0,00424264$$
$$t = 2,306$$

Medias	0,122	0,122	0,128	0,130
10	0,122	+	+	
11	0,122	+	+	
0	0,128		+	+
3	0,130		+	+
$\bar{x}-d$	0,1168	0,1168	0,1228	0,1248
$\bar{x}+d$	0,1272	0,1272	0,1332	0,1352

Tabla 24

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas).

$K = 4$

$n = 5$

$\Sigma x^2 = 0,3155$

$y = (\Sigma x)^2/20 = 0,3150$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 0,0005	19	
Variación de tratamientos	B = 0,00026	3	$V_t = 86,86 \cdot 10^{-6}$
Variación del error experimental	A-B = 0,00024	16	$V_e = 15 \cdot 10^{-6}$

$F_{\text{exp}} = V_t/V_e = 5,7$

$F = 3,24$

$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e/n} = 0,002449$

$t = 2,12$

$d = t \cdot s_d = 0,0052$

Almacenamiento + (días)	18	11	0	3
Medias +	0,122	0,122	0,128	0,130
↓				
18	0,122	+	+	
11	0,122	+	+	
0	0,128		+	+
3	0,130		+	+
$\bar{x}-d$	0,1168	0,1168	0,1228	0,1248
$\bar{x}+d$	0,1272	0,1272	0,1332	0,1352

Tabla 25

Azufre (% en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,18	0,19	0,18	0,18

A partir de los datos de las Tablas 25 y 26, hemos realizado el análisis de la varianza para ambos lotes completos de hojas, obteniendo los resultados que se resumen en la Tabla 27. De ellos se deduce que no existen diferencias significativas entre ambos lotes de hojas, lo cual se traduce en que para la determinación de este elemento no es necesario lavar el material vegetal, hecho que está de acuerdo con LACHICA (1967).

Por otra parte, en la Tabla 25, puede observarse que -- existen fluctuaciones en los valores medios obtenidos para los distintos tiempos de almacenamiento de las hojas antes de someterlas a lavado, pero sin que presenten una tendencia definida a disminuir el contenido de elemento a medida que crece el tiempo de almacenamiento.

Para comprobarlo, hemos hecho el estudio que, resumido, constituye la Tabla 28, donde se observa que, a pesar de existir tres bloques de tratamientos distintos, dichos bloques están enlazados entre sí de forma que las hojas almacenadas durante 18 días antes de someterlas a lavado y las no almacenadas, no presentan diferencias significativas. Esto nos conduce a -- atribuir todas aquellas fluctuaciones observadas en la Tabla 25 a errores al azar o, al menos, no debidos a la causa que -- constituye nuestro objetivo fundamental.

constituye nuestro objetivo fundamental.		0,98	0,93	
MEDIA	0,196	0,206	0,196	0,186

Tabla 25

Azufre (% en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,18	0,19	0,18	0,18
2	0,18	0,20	0,18	0,18
3	0,21	0,21	0,18	0,19
4	0,21	0,20	0,18	0,18
5	0,19	0,21	0,18	0,19
TOTAL	0,97	1,01	0,90	0,92
MEDIA	0,194	0,202	0,180	0,184

Tabla 26

Azufre (% en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	0,20	0,20	0,20	0,18
2	0,19	0,21	0,18	0,18
3	0,20	0,21	0,20	0,19
4	0,21	0,20	0,20	0,19
5	0,18	0,21	0,20	0,19
TOTAL	0,98	1,03	0,98	0,93
MEDIA	0,196	0,206	0,196	0,186

Tabla 27

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

$\bar{x}_1 = 0,190$

$\bar{x}_s = 0,196$

$T_1 = 3,80$

$T_s = 3,92$

$\Sigma(x_1^2) = 0,7248$

$\Sigma(x_s^2) = 0,7704$

$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 1,48996$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	$A = 5,24 \cdot 10^{-3}$	39	$V_T = 1,3436 \cdot 10^{-4}$
Variación de tratamientos	$B = 3,6 \cdot 10^{-4}$	1	$V_t = 3,6 \cdot 10^{-4}$
Variación del error experimental	$A - B = 4,88 \cdot 10^{-3}$	38	$V_e = 1,2842 \cdot 10^{-4}$

$d = 0,006$

$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / n} = 3,5836 \cdot 10^{-3}$

$t_{exp} = 1,67$

$t = 2,037$

Almacenamiento + (días)	11	18	0	3
Medias	0,180	0,184	0,194	0,202
11	0,180	+	+	+
18	0,184	+	+	+
0	0,194	+	+	+
3	0,202	+	+	+
$\bar{x} - d$	0,168	0,172	0,182	0,190
$\bar{x} + d$	0,192	0,196	0,206	0,214

Tabla 28

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas).

$$K = 4 \quad n = 5$$

$$\Sigma x^2 = 0,7248 \quad y = (\Sigma x)^2 / 20 = 0,7220$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas	
Variación total	A = 0,0028	19		
Variación de tratamientos	B = 0,00148	3	$V_t = 0,000493$	
Variación del error experimental	A-B = 0,00132	16	$V_e = 0,0000825$	
$F_{exp} = V_t/V_e = 5,97$ $F = 3,24$				
$s_d = \sqrt{2.V_e/n} = 0,00574$ $t = 2,12$				
$d = t.s_d = 0,01217$				
Almacenamiento + + (días)	11	18	0	3
Medias + +	0,180	0,184	0,194	0,202
11	0,180	+	+	
18	0,184	+	+	
0	0,194	+	+	+
3	0,202		+	+
$\bar{x}-d$	0,168	0,172	0,182	0,190
$\bar{x}+d$	0,192	0,196	0,206	0,214

rior a 100, lo que hace absolutamente necesario el lavado de las hojas para la determinación de este elemento con exactitud. Este hecho ha sido también descrito por MASON (1952) para el manzano, y por LABANAUSKAS (1966) para hojas de marango, y por NICHOLAS, LLOYD-JONES D.7. HIERRO (1957) para el tomate.

Los valores medios correspondientes a los distintos días de almacenamiento, presentan en la Tabla 29 un descenso progresivo. Ello parece deberse a la existencia de una elución, que es tanto más pronunciada cuanto mayor es el período transcurrido desde la recogida de la muestra hasta la realización del -- proceso de lavado. Para comprobarlo, hemos hecho el estudio estadístico expuesto en la Tabla 31, donde observamos que las series correspondientes a los 0 y 3 días son iguales entre sí, -- así como las correspondientes a los 3 y 11 días, siendo la de los 18 distinta a las demás. Esto nos permite afirmar que hasta los 3 días de almacenamiento no se produce elución de este elemento al lavar el material vegetal, presentándose a partir de dicho período de almacenamiento y yendo en aumento, paulatinamente, hasta transcurridos, al menos, 18 días desde que se -- tomó la muestra.

Por último, la comparación entre todos los valores de -- las Tablas 29 y 30 indica que existe una contaminación superficial muy notable (del 100%) del material vegetal debida, posiblemente, al polvo procedente del suelo y depositado sobre --- aquel (Tabla 32), hecho que ya fué descrito por LACHICA (1967) para este cultivo.

Ello está de acuerdo con lo indicado por MITCHELL (1960) para elementos cuya razón de contenido suelo: planta es supe-

rior a 100, lo que hace absolutamente necesario el lavado de las hojas para la determinación de este elemento con exactitud. Este hecho ha sido también descrito por MASON (1952) para el manzano, y por LABANAUSKAS (1966) para hojas de marango, y por NICHOLAS, LLOYD-JONES y FISCHER (1957) para el tomate.

	0	3	11	18
1	73	78	73	73
2	78	78	73	68
3	82	78	73	67
4	82	78	78	68
5	75	78	78	67
TOTAL	393	390	375	343
MEDIA	78,6	78,0	75,0	68,6

Tabla 32

Hierro (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	155	156	156	161
2	156	156	161	158
3	161	161	161	156
4	155	156	155	161
5	156	161	156	156
TOTAL	784	790	789	790
MEDIA	156,8	158,0	157,8	158,0

Tabla 29

Hierro (p.p.m. en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	73	78	73	73
2	78	78	73	68
3	82	78	73	67
4	82	78	78	68
5	78	78	78	67
TOTAL	393	390	375	343
MEDIA	78,6	78,0	75,0	68,6

Tabla 30

Hierro (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	156	156	156	161
2	156	156	161	156,6
3	161	161	161	156
4	155	156	155	161
5	156	161	156	156
TOTAL	784	790	789	790
MEDIA	156,8	158,0	157,8	158,0

Tabla 31

Comparación entre tiempos de almacenamiento (hojas lavadas).

$$K = 4$$

$$n = 5$$

$$\Sigma x^2 = 113075$$

$$y = (\Sigma x)^2 / 20 = 112650,05$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas	
Variación total	A = 424,95	19		
Variación de tratamientos	B = 314,55	3	$V_t = 104,85$	
Variación del error experimental	A-B = 110,4	16	$V_e = 6,9$	
$F_{exp} = V_t/V_e = 15,19$				
$s_d = \sqrt{2.V_e/n} = 1,66$				
$d = t.s_d = 3,52$				
Almacenamiento → + (días	18	11	3	0
Medias → ↓	68,6	75	78	78,6
18	68,6	+		
11	75	+	+	
3	78	+	+	+
0	78,6		+	+
$\bar{x}-d$	65,08	71,48	74,48	75,08
$\bar{x}+d$	72,12	78,52	81,52	82,12

Tabla 32

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

$$\bar{x}_1 = 75,05$$

$$\bar{x}_s = 157,65$$

$$T_1 = 1501$$

$$T_s = 3153$$

$$\Sigma(x_1^2) = 113075$$

$$\Sigma(x_s^2) = 497193$$

$$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 541492,9$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 68775,1	39	$V_T = 1763,4641$
Variación de tratamientos	B = 68227,6	1	$V_t = 68227,6$
Variación del error experimental	A-B = 547,5	38	$V_e = 14,4078$

$$d = 82,60$$

$$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / 20} = 1,2$$

$$t_{\text{exp}} = d / s_d = 68,833$$

$$t = 2,037$$

Tabla 33

Manganeso (p.p.m. en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	31	33	33	33

En la Tabla 33 puede observarse que sólo existe una mínima diferencia entre los valores medios obtenidos para los distintos días de almacenamiento de las hojas antes de proceder a su lavado, pero en ningún caso existe pérdida de este elemento, como se deduce del tratamiento estadístico resumido en la Tabla 35.

Por otra parte, se han comparado todos los valores de la Tabla 33 con los de la 34, encontrándose que no existe diferencia entre ellos (Tabla 36), lo que indica que para la de terminación de este elemento no es necesario el lavado del ma terial vegetal, hecho que está de acuerdo con LACHICA (1967).

Manganeso (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	32	33	33	33
2	33	33	33	33
3	33	33	33	33
4	33	33	33	32
5	33	33	33	33
TOTAL	164	165	165	164
MEDIA	32,8	33,0	33,0	32,8

Tabla 33

Manganeso (p.p.m. en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	31	33	33	33
2	31	33	31	33
3	33	33	33	33
4	33	33	33	33
5	32	33	33	33
TOTAL	160	165	163	165
MEDIA	32,0	33,0	32,6	33,0

Tabla 34

Manganeso (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	32	33	33	33
2	33	33	33	33
3	33	33	33	33
4	33	33	33	32
5	33	33	33	33
TOTAL	164	165	165	164
MEDIA	32,8	33,0	33,0	32,8

Tabla 35

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas).

$K = 4$
 $\Sigma x^2 = 21331$

$n = 5$
 $y' = (\Sigma x^2)/20 = 21320,45$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 10,55	19	
Variación de tratamientos	B = 3,35	3	$V_t = 1,116$
Variación del error experimental	A-B = 7,20	16	$V_e = 0,45$
$F_{exp} = 2,48$		$F = 3,24$	

Tabla 36

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

$\bar{x}_1 = 32,65$
 $T_1 = 653$
 $\Sigma(x_1^2) = 21331$

D.9. COBRE

$\bar{x}_s = 32,90$
 $T_s = 658$
 $\Sigma(x_s^2) = 21650$

$y = (T_1+T_s)^2/40 = 42968,025$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 12,975	39	$V_T = 0,3327$
Variación de tratamientos	B = 0,625	1	$V_t = 0,625$
Variación del error experimental	A-B = 12,35	38	$V_e = 0,325$

$d = 0,25$
 $t_{exp} = 1,39$

$s_d = \sqrt{2.V_e/20} = 0,1803$
 $t = 2,037$

Por otra parte, como ya se hizo constar al principio del trabajo, nuestra hipótesis de partida está basada en el estudio de la influencia que pudiese tener el almacenamiento de las muestras sobre una posible elución. Según se deduce de la simple observación de la Tabla 37 no existe este riesgo hasta, al menos, 18 días después de conservadas en frigorífico; este hecho es corroborado por el cálculo estadístico resumido en la Tabla 39.

Tabla 37

Cobre (p.p.m. en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	6	6	6	6

D.9. COBRE

Como puede apreciarse en las Tablas 37 y 38, las dos submuestras recién tomadas (0 días) dan resultados analíticos idénticos. De aquí se deduce que no existe ninguna contaminación superficial al llegar las muestras al laboratorio. En cambio, una vez almacenadas, se puede observar que existe un mayor contenido en las hojas no lavadas que en aquellas sometidas a un lavado previo. Ello nos induce a pensar que en el transcurso del almacenamiento y manipulaciones previas tuvo lugar una contaminación (hecho frecuente para este elemento) que da como consecuencia tener que invalidar los resultados correspondientes a los 3, 11 y 18 días de almacenamiento de las muestras analizadas sin lavado previo. Este hecho nos demuestra una vez más que, a pesar de operar con sumo cuidado existe un gran riesgo de contaminación de muestra con bajo contenido en este elemento.

Por otra parte, como ya se hizo constar al principio del trabajo, nuestra hipótesis de partida está basada en el estudio de la influencia que pudiese tener el almacenamiento de las muestras sobre una posible elución. Según se deduce de la simple observación de la Tabla 37 no existe este riesgo hasta, al menos, 18 días después de conservadas en frigorífico; este hecho es corroborado por el cálculo estadístico resumido en la Tabla 39.

	30	40	40	40
MEDIA	6,0	8,0	8,0	8,0

Tabla 37

Cobre (p.p.m. en materia seca)- Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	6	6	6	6
2	6	6	6	6
3	6	6	6	6
4	6	6	6	6
5	6	6	6	8
TOTAL	30	30	30	32
MEDIA	6,0	6,0	6,0	6,4

Tabla 38

Cobre (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	6	8	8	8
2	6	8	8	8
3	6	8	8	8
4	6	8	8	8
5	6	8	8	8
TOTAL	30	40	40	40
MEDIA	6,0	8,0	8,0	8,0

Tabla 39

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas).

$K = 4$
 $\Sigma x^2 = 748$

$n = 5$
 $y = 744,2$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 3,8	19	
Variación de tratamientos	B = 0,6	3	$V_t = 0,2$
Variación del error experimental	A-B = 3,2	16	$V_e = 0,2$

$F_{exp} = V_t/V_e = 1$

$F = 3,24$

Por otra parte, se ha realizado la comparación entre los distintos períodos de tiempo que se tuvieron las hojas almacenadas a 2°C antes de proceder a su lavado. Como puede observarse en la Tabla 43 las series correspondientes a los 0, 11 y 18 días de almacenamiento son iguales entre sí y distintas de la de los 3 días, lo que nos hace pensar que no exista elución a lo largo de los distintos períodos de almacenamiento, y que el valor medio más bajo obtenido a los 3 días es atribuible a un error al azar, pero sistemático, cometido en esta serie durante el conjunto de operaciones previas a la determinación anali

tica. De cualquier forma, desde un punto de vista práctico, parece de importancia el pequeño descenso a que ha dado lugar dicho error indeterminado.

D.10. ZINC

En primer lugar estudiaremos si los dos tratamientos globales, hojas lavadas frente a hojas sin lavar, tienen un efecto significativo. Para ello se han utilizado todos los datos anotados en las Tablas 40 y 41. De los resultados obtenidos, resumidos en la Tabla 42, se deduce que existe una diferencia significativa entre ambos lotes de hoja, hecho que parece ser debido a una ligera contaminación durante los períodos de almacenamiento, como se hace evidente al observar los valores medios correspondientes a las hojas sin almacenar (0 días) de ambos tratamientos (lavadas) y (sin lavar), que conducen a resultados idénticos. No es sorprendente la existencia de contaminaciones, dentro del laboratorio para este elemento, ya que es muy susceptible a las mismas, debido al propio material que ha de utilizarse.

Por otra parte, se ha realizado la comparación entre los distintos períodos de tiempo que se tuvieron las hojas almacenadas a 2°C antes de proceder a su lavado. Como puede observarse en la Tabla 43 las series correspondientes a los 0, 11 y 18 días de almacenamiento son iguales entre sí y distintas de la de los 3 días, lo que nos hace pensar que no existe elución a lo largo de los distintos períodos de almacenamiento, y que el valor medio más bajo obtenido a los 3 días es atribuible a un error al azar, pero sistemático, cometido en esta serie durante el conjunto de operaciones previas a la determinación analí

tica. De cualquier forma, desde un punto de vista práctico, ca
rece de importancia el pequeño descenso a que ha dado lugar di
cho error indeterminado.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	20	19	20	20
2	20	19	19	20
3	20	18	20	19
4	19	19	20	20
5	20	19	20	20
TOTAL	99	94	99	99
MEDIA	19,8	18,8	19,8	19,8

Tabla 41

Zinc (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	20	20	20	21
2	20	20	20	20
3	19	20	20	20
4	20	20	20	21
5	20	20	20	20
TOTAL	99	100	100	102
MEDIA	19,8	20,0	20,0	20,4

Tabla 40

Zinc (p.p.m. en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	20	19	20	20
2	20	19	19	20
3	20	18	20	19
4	19	19	20	20
5	20	19	20	20
TOTAL	99	94	99	99
MEDIA	19,8	18,8	19,8	19,8

Tabla 41

Zinc (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	20	20	20	21
2	20	20	20	20
3	19	20	20	20
4	20	20	20	21
5	20	20	20	20
TOTAL	99	100	100	102
MEDIA	19,8	20,0	20,0	20,4

Tabla 42

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

$$\bar{x}_1 = 19,55$$

$$\bar{x}_s = 20,05$$

$$T_1 = 391$$

$$T_s = 401$$

$$\Sigma(x_1^2) = 7651$$

$$\Sigma(x_s^2) = 8043$$

$$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 15681,6$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados libertad	Varianzas
Variación total	A = 12,4	39	$V_T = 0,3179$
Variación de tratamientos	B = 2,50	1	$V_t = 2,50$
Variación del error experimental	A-B = 9,9	38	$V_e = 0,2605$

$$d = 0,5$$

$$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / 20} = 0,1614$$

$$t_{\text{exp}} = 3,09$$

$$t = 2,037$$

Almacenamiento (días)	3	0	11	18
Medias	19,5	19,8	19,8	19,8
3	19,8			
0	19,8			
11	19,8			
18	19,8			
$\bar{x}-d$	19,2	19,2	19,2	19,2
$\bar{x}+d$	19,8	20,4	20,4	20,4

Tabla 43

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas)

$K = 4$

$n = 5$

$\Sigma x^2 = 7651$

$y = (\Sigma x)^2 = 7644,05$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas	
Variación total	A = 6,95	19		
Variación de tratamientos	B = 3,75	3	$V_t = 1,25$	
Variación del error experimental	A-B = 3,2	16	$V_e = 0,2$	
$F_{exp} = V_t/V_e = 6,25$ $s_d = \sqrt{2.V_e/n} = 0,2828$ $d = t.s_d = 0,6$				
$F = 3,24$ $t = 2,12$				
Almacenamiento → +(días)	3	0	11	18
Medias → ↓	18,8	19,8	19,8	19,8
3	18,8	+		
0	19,8	+	+	+
11	19,8	+	+	+
18	19,8	+	+	+
$\bar{x}-d$	18,2	19,2	19,2	19,2
$\bar{x}+d$	19,4	20,4	20,4	20,4

Boro (p.p.m. en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones

D.11. BORO almacenamiento

0

3

11

18

Además de pretender conocer la influencia que ejerce el tiempo de almacenamiento, queremos aclarar si para la determinación analítica de B en hojas de olivo es necesario el lavado de la muestra ya que no ha sido estudiado anteriormente. - De la simple observación de los valores medios de las Tablas 44 y 45 puede deducirse que no es necesario lavar el mencionado material vegetal, si bien queda demostrado en el cálculo - resumido en la Tabla 46.

Por otro lado y por las mismas razones expuestas anteriormente, observamos que no hay diferencias significativas - entre los valores correspondientes a los distintos días de almacenamiento antes de efectuar el lavado, lo que se traduce - en afirmar que no existe elución de este elemento para períodos de almacenamiento en frigorífico de, al menos, 18 días con - tados a partir de la toma de muestra, como se deduce de la Tabla 47.

	0	3	11	18
1	17	17	17	17
2	17	17	17	17
3	17	17	17	17
4	17	17	17	17
5	17	16	16	17
TOTAL	85	84	84	85
MEDIA	17,0	16,8	16,8	17,0

Tabla 44

Boro (p.p.m. en materia seca) - Hojas lavadas.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	17	16	17	17
2	17	17	17	17
3	17	16	16	17
4	17	17	17	17
5	17	17	17	17
TOTAL	85	83	84	85
MEDIA	17,0	16,6	16,8	17,0

Tabla 45

Boro (p.p.m. en materia seca) - Hojas sin lavar.

Repeticiones	Días de almacenamiento			
	0	3	11	18
1	17	17	17	17
2	17	17	17	17
3	17	17	17	17
4	17	17	17	17
5	17	16	16	17
TOTAL	85	84	84	85
MEDIA	17,0	16,8	16,8	17,0

Tabla 46

Comparación entre hojas lavadas y sin lavar.

$$\bar{x}_1 = 16,85$$

$$\bar{x}_s = 16,90$$

$$T_1 = 337$$

$$T_s = 338$$

$$\Sigma(x_1^2) = 5681$$

$$\Sigma(x_s^2) = 5714$$

$$y = (T_1 + T_s)^2 / 40 = 11390,625$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 4,375	39	$V_T = 0,1122$
Variación de tratamientos	B = 0,025	1	$V_t = 0,025$
Variación del error experimental	A-B = 4,35	38	$V_e = 0,1145$

$$d = 0,05$$

$$s_d = \sqrt{2 \cdot V_e / 20} = 0,1070$$

$$t_{\text{exp}} = d / s_d = 0,467$$

$$t = 2,037$$

Tabla 47

Comparación entre tiempos de almacenamiento (Hojas lavadas)

$$K = 4 \quad n = 5$$

$$\Sigma x^2 = 5681 \quad y = (\Sigma x)^2 / 20 = 5678,45$$

Causas de variación	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Varianzas
Variación total	A = 2,55	19	
Variación de tratamientos	B = 0,55	3	$V_t = 0,183$
Variación del error experimental	A-B = 2,00	16	$V_e = 0,125$

$$F_{\text{exp}} = V_t / V_e = 1,46$$

$$F = 3,24$$

Del estudio que antecede sobre el lavado de la hoja de olivo, previa a la determinación de 11 elementos nutritivos minerales esenciales para la planta, se deducen las siguientes conclusiones generales:

1º Que los elementos Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio, Azufre, Manganeso, Cobre, Zinc y Hierro no se eluyen durante el proceso de lavado, previo al análisis, aunque la muestra se mantenga almacenada en frigorífico hasta, al menos, 18 días antes del mencionado lavado, siempre que ésta se efectúe en un período de tiempo no superior a 15 segundos.

2º Magnesio y Hierro se pierden por elución cuando el lavado se efectúa después de los 3 días de almacenamiento en frigorífico a 2º C, siendo probable que el primero de estos elementos se vea afectado cuando el material vegetal se lava inmediatamente después de tomada la muestra.

E. CONCLUSIONES

3º La determinación de Zinc y Hierro no exige el lavado previo del material vegetal, ya que no se ha detectado contaminación alguna al llegar la muestra al laboratorio.

4º Se ha comprobado que para los restantes elementos, sólo la determinación de Hierro hace necesario el lavado de las hojas puesto que la contaminación del polvo superficial adherido es muy elevado, como ya ha sido descrito anteriormente por otros investigadores.

5º Se ha constatado que la contaminación de Cobre y Zinc en las manipulaciones a que hay que someter al material vegetal en el laboratorio es muy probable que se dé, aun extremando las precauciones.

Del estudio que antecede sobre el lavado de la hoja de olivo, previa a la determinación de 11 elementos nutritivos minerales esenciales para la planta, se deducen las siguientes conclusiones generales:

1° Que los elementos Nitrógeno, Fósforo, Potasio, Calcio, Azufre, Manganese, Cobre, Zinc y Boro no se eluyen durante el proceso de lavado, previo al análisis, aunque la muestra se mantenga almacenada en frigorífico hasta, al menos, 18 días antes del mencionado lavado, siempre que éste se efectue en un período de tiempo no superior a 15 segundos.

2° Magnesio y Hierro se pierden por elución cuando el lavado se efectúa después de los 3 días de almacenamiento en frigorífico a 2° C, siendo probable que el primero de estos elementos se vea afectado, incluso cuando el material vegetal se lava inmediatamente después de tomada la muestra.

3° La determinación de Zinc y Boro no exige el lavado previo del material vegetal, ya que no se ha detectado contaminación alguna al llegar la muestra al laboratorio.

4° Se ha comprobado que para los restantes elementos, sólo la determinación de Hierro hace necesario el lavado de las hojas puesto que la contaminación del polvo superficial adherido es muy elevado, como ya ha sido descrito anteriormente por otros investigadores.

5° Se ha constatado que la contaminación de Cobre y -- Zinc en las manipulaciones a que hay que someter el material vegetal en el laboratorio es muy probable que se dé, aún extremando las precauciones.

BATHURST, A.C. (1968): D. Sc. thesis, University of Stellenbosch, S. Africa.

BOUAT, A. y GROSZET, C. (1965): Notes techniques sur un appareil semiautomatique de dosage de l'azote (et des certains composés volatils). Ann. Agron., 16 (1), 107-19.

CADANHA, C. (1971): Determinación semi-cuántica de azufre orgánico y mineral en muestras agrícolas con espectroscopio. Anales Edaf. y Agrobiol. Tomo XXV, 517-525.

CHAPMAN, H.D. y BROWN, S.M. (1958): Analysis of orange leaves for diagnosing nutrient status with reference to potassium. Hilgardia, 19, 501.

DAVY, H. (1819): Elements of Agricultural Chemistry. London.

DE SAUSSURE, T. (1845) F. BIBLIOGRAFIA técnicas sur la végétation.

=====

DÍOS VIAL, R. y ALBARRACIN, J.E. (1954): Análisis Foliar. Aplicación del análisis químico de la hoja y del método de diagnóstico visual a la investigación de deficiencias en relación con los suelos de cultivo. Ann. Edafol., XIII, 339-418.

FERNANDEZ, F.G. (1966): Estudios sobre tomates de interés industrial. Centro de Edafología y Biología Vegetal del Segura. Vol. VI, nº 17.

GOODALE, B.W. y GREGORY, P.G. (1947): Chemical Composition of Plants as an Index of their Nutritional Status. Techn. Commun. 17 (Aberystwyth, Inst. Bur. Hort and Plantation Crops).

HOAGLAND, D.R. (1944): Lectures on the Inorganic Nutrition of Plants. Waltham, Mass: Chronica Botanica.

- BATHURST, A.C. (1948): D. Sc. thesis, University of Stellenbosh, S. Africa.
- BOUAT, A. y GROUZET, C. (1965): Notes techniques sur un appareil semiautomatique de dosage de l'azote (et des certains composés volatils). Ann. Agrom., 16 (1), 107-18.
- CADAHIA, C. (1971): Determinación semiautomática de azufre - orgánico y mineral en muestras agrícolas con aparato - Leco. Anales Edaf. y Agrobiol. Tomo XXX, 817-825.
- CHAPMAN, H.D. y BROWN, S.M. (1950): Analysis of orange leaves for diagnosing nutrient status with reference to - potasium. Hilgardia, 19, 501.
- DAVY, H. (1813): Elements of Agricultural Chemistry. London.
- DE SAUSSURE, T. (1804): Recherches chimiques sur la végétation.
- DIOS VIDAL, R. y ALBAREDA, J.M. (1954): Análisis Foliar. Aplicación del análisis químico de la hoja y del método de diagnóstico visual a la investigación de deficiencias en relación con los suelos de cultivo. Ann. Edafol., XIII, 339-418.
- FERNÁNDEZ, F.G. (1966): Estudios sobre tomates de interés industrial. Centro de Edafología y Biología Vegetal del Segura. Vol. VI, nº 177.
- GOODALL, D.W. y GREGORY, F.G. (1947): Chemical Composition of Plants as an index of their Nutritional Status. Techn. Commun. 17 (Aberystwyth. Ime. Bur. Hort and Plantation Crops).
- HOAGLAND, D.R. (1944): Lectures on the Inorganic Nutrition of Plants. Waltham, Mass: Chrnica Botanica.

- JACOBSON, L. (1945): Iron in the leaves and chloroplast of some plants in relation to their chlorophyll content. -- Plant Physiol. 20, 233-45.
- LABANAUSKAS, C.K. (1966): Effects of orange leaf-washing techniques on Removal of surface contaminants and Nutrient Losses. Department of Horticultural Science, University of California, Riverside.
- C.I.I. (1969): Métodos de referencia para la determinación de elementos minerales en vegetales. Anal. de Edaf. y agrobiol. XXVIII, 5-6.
- (1973): Methodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux. Détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Cu, Mn y Zn par absorption atomique. Oléagineux, 28 (2), 87-92.
- LACHICA, M. (1967): Análisis foliar. Estudio de la labor preparativa de la muestra. Agrochim. XI (2), 132-139.
- (1976): Estudio sobre la determinación de B en plantas con Azomethina-H. Comunicación presentada al 4º Colloque International sur le Controle de l'Alimentation des Plantes Cultivées. Gantes.
- LACROIX, Y. (1962): Analyse chimique, interpretation des resultats par le calcul stadistique. Masson et Cie. Ed., Paris.
- LAGATU, H. y MAUME, L. (1929): Le diagnostic foliaire et son degré de securité. C.R. Acad. Sci. Paris. 188, 1062-64.
- (1934): Ann. Ecole. Natl. Agr. Montpellier, 22, 257-306, (Smith, 1962).

- LIEBIG, J. (1852): Chemistry in its Application to Agriculture and Physiology. Playfair, L., and Gregory, W., Eds. John Wiley, New York, N.Y. 22, 257-306, (Smith, 1962).
- LUNDEGARDH, H. (1951): Leaf Analysis. Trad. R.L. Mitchell. - Hilger y Watts Ltd. Ed. London.
- MASON, A.C. (1952): The cleaning of leaves prior to analysis Rep. E. Malling Res. Sta., 104.
- MITCHELL, R.L. (1960): Contamination problems in soil and -- plant analysis. J. Sci. Fd. Agric., II, 553.
- NICHOLAS, D.J.D., LLOYD-JONES, C.P. y FISCHER, D.J. (1957): Some problems associated with determining iron in plants. Plant and Soil, 8, 367.
- PIPER, C.S. (1942): Soil and plant Analysis. Hassel Press. Adelaide. Australia.
- RECALDE, L. Y ESTEBAN, E. (1964): Diagnosis of mineral deficiencies in olive tree crops by leaf analysis. Colloque Europeen sur le controle de la nutrition minerale et de la fertilization. Montpellier.
- ROACH, W.A. (1939): Diagnostic of mineral deficiencies and -- excesses by sistematic leaf injection and analysis. Ann. Rept. of East Malling Res. Stn., 51-58.
- SMITH, P.F. (1962): Mineral analysis of plant tissues. Ann. - Rev. Plant Physiol., 13, 81-108.
- SMITH, P.F., REUTHER, W. y SPECHT, A.W. (1950): Mineral composition of chlorotic orange leaves and some observations on the relation of sample preparation technique to the interpretation of results. Plant Physiol., 25, 496.

STEYN, W.J.A. (1959): Leaf Analysis. Errors Involved in the Preparative Phase. *Agricultural and Food Chem.*, 7, 344.

THOMAS, W. y MACK, W.B. (1941): Foliar diagnosis in relation to soil heterogeneity. *Soil Sci.*, 52, 455-68.

ULRICH, A. (1948): Diagnostic Techniques for Soils and Crops. pg. 157. *Am. Potasch Inst.* Washington, D.C.

