



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN DE NUTRIENTES CALCIO, MAGNESIO,
POTASIO, FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN FOLIOLO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis*), A
TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA DE PLASMA**

Darwin José Morales Guerra

Asesorado por el Ing. Estuardo Edmundo Monroy Benítez

Guatemala, marzo de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN DE NUTRIENTES CALCIO, MAGNESIO,
POTASIO, FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN FOLIOLO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis Guineensis*), A
TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA DE PLASMA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

DARWIN JOSÉ MORALES GUERRA

ASESORADO POR EL ING. ESTUARDO EDMUNDO MONROY BENÍTEZ

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, MARZO DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayora
VOCAL IV	Br. Narda Lucía Pacay Barrientos
VOCAL V	Br. Walter Rafael Véliz Muñoz
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
EXAMINADOR	Ing. Carlos Salvador Wong Davi
EXAMINADOR	Ing. Orlando Posadas Valdez
EXAMINADOR	Ing. David Ricardo Cerezo Toledo
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN DE NUTRIENTES CALCIO, MAGNESIO, POTASIO, FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN FOLIOLO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis guineensis*), A TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA DE PLASMA

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 07 de octubre de 2014.

Darwin José Morales Guerra



Guatemala, 21 de Octubre de 2014

Ing. Víctor Manuel Monzón Vaidez
Director de la Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala.
Presente.

Apreciable ingeniero:

Por este medio me dirijo a usted para informarle que he revisado el Informe Final de tesis que me fue solicitado por su persona como Director de Escuela, del estudiante **Darwin Morales**, No. de carné **2001-13188**, trabajo de graduación que se titula: **“VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN DE NUTRIENTES CALCIO, MAGNESIO, POTASIO, FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN FOLIOLO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis Guineensis*), A TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA DE PLASMA”**, documento que revisé, se realizaron correcciones y luego de ello lo he aprobado.

Agradeciendo de antemano su atención a la presente,

Atentamente,

Ing. Estuardo Estuardo Monroy Benítez
Ingeniero Químico
Colegiado 446

Estuardo Monroy Benítez
Ingeniero Químico
Colegiado No. 446



Guatemala, 19 de enero de 2015.
Ref. EIQ.TG-IF.005.2015.

Ingeniero
Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **065-2014** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por el estudiante universitario: **Darwin José Morales Guerra**.
Identificado con número de carné: **2001-13188**.
Previo a optar al título de **INGENIERO QUÍMICO**.


Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN DE NUTRIENTES CALCIO, MAGNESIO, POTASIO, FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN FOLIOLO DE PALMA AFRICANA (*Elaeis Guineensis*), A TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA DE PLASMA

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por el Ingeniero Químico: **Estuardo Edmundo Monroy Benítez**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”


Inga. Adela María Marroquín González
COORDINADORA DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo



Ref.EIQ.TG.030.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación del estudiante, **DARWIN JOSÉ MORALES GUERRA** titulado: **"VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN DE NUTRIENTES CALCIO, MAGNESIO, POTASIO, FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN FOLIOLO DE PALMA AFRICANA (ELAEIS GUINEENSIS), A TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA DE PLASMA"**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

"Id y Enseñad a Todos"


Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, marzo 2015

Cc: Archivo
VMMV/ale



DTG. 101.2015

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **VALIDACIÓN DE UNA TÉCNICA DE CUANTIFICACIÓN DE NUTRIENTES CALCIO, MAGNESIO, POTASIO, FÓSFORO, AZUFRE Y BORO EN FOLIOLO DE PALMA AFRICANA (Elaeis guineensis), A TRAVÉS DE ESPECTROFOTOMETRÍA DE EMISIÓN ÓPTICA DE PLASMA**, presentado por el estudiante universitario: **Darwin José Morales Guerra**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:

Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
Decano

Guatemala, 10 de marzo de 2015

/gdech



ACTO QUE DEDICO A:

Dios	Por permitirme la vida y la oportunidad de llegar a este momento.
Mis padres	José Luis Morales y Aura Leticia Guerra de Morales, por su apoyo incondicional en todo momento de mi carrera.
Mis hermanos	Elisa, Rosa, Mirza y Yenner Morales Guerra, porque siempre estuvieron junto a mí en cada paso que di a lo largo de esta etapa.
Mi familia	Por la confianza que depositaron en mí para que pudiera lograr mis sueños.
Mis amigos	Que estuvieron junto a mí en los momentos más cruciales, con el afán de darme su apoyo incondicional cuando más lo necesité.
Mis compañeros de NATURALAB	Por su apoyo y colaboración, en la realización de este trabajo.

AGRADECIMIENTOS A:

Dios

Porque hasta aquí me ha dado la vida y la posibilidad de alcanzar mis metas y ser una persona de bien en este mundo.

Mi familia

Especialmente a mis padres y hermanos por su apoyo moral y económico durante toda mi carrera.

Mis amigos

Porque siempre estuvieron conmigo para ayudarme a salir adelante en los días duros de mi carrera.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	IX
GLOSARIO	XI
RESUMEN	XV
OBJETIVOS.....	XVII
Hipótesis	XVIII
INTRODUCCIÓN	XIX
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	3
2.1. Ley de Beer-Lambert	3
2.1.1. Expresión de la ley de Beer-Lambert.....	3
2.2. Espectroscopia atómica	5
2.2.1. Propiedades generales de la radiación electromagnética.....	6
2.2.2. Propiedades ondulatorias de la radiación electromagnética.....	7
2.3. Espectroscopia de emisión con fuentes de plasma	11
2.3.1. Fuente de plasma acoplado por inducción	13
2.3.2. Introducción de la muestra.....	14
2.3.3. Aspecto del plasma y espectros	15
2.3.4. Atomización e ionización de los analitos.....	17
2.3.5. Espectrómetros con fuente de plasma.....	18
2.4. Palma africana.....	20

2.4.1.	Características.....	21
2.4.2.	Botánica de la palma africana	21
2.4.3.	Morfología de la palma africana	23
2.4.4.	Requerimientos ambientales de la palma africana	28
2.4.5.	Elementos nutricionales esenciales.....	29
2.4.6.	Método de diagnóstico de nutrientes.....	32
2.4.7.	Interpretación del análisis foliar en palma africana.....	37
2.5.	Política del OGA (Organismo Guatemalteco de Acreditación) sobre la selección y validación de los métodos de ensayo	38
2.6.	Política y norma ISO.....	39
2.6.1.	Política de la Norma ISO 17025:2005	39
2.6.2.	Validación de los métodos.....	40
2.6.3.	Selección de los métodos.....	41
2.6.4.	Métodos desarrollados por el laboratorio.....	42
2.6.5.	Métodos no normalizados.....	42
2.6.6.	Tipos de validación de métodos	44
2.6.7.	Documentos operativos de validación	44
2.6.8.	Validación para los análisis químicos	44
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	51
3.1.	Variables	51
3.2.	Delimitación del campo de estudio.....	52
3.3.	Recursos humanos disponibles.....	52
3.4.	Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos)	53
3.5.	Técnica cuantitativa.....	54
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información	54
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información.....	58

3.8.	Análisis estadístico	66
4.	RESULTADOS	71
4.2.	Parámetros de desempeño analítico	71
4.2.1.	Exactitud (porcentaje de recuperación)	71
4.2.2.	Precisión	72
4.2.3.	Límite de Detección (LoD) y Límite de Cuantificación (LoQ).....	72
4.2.4.	Linealidad del intervalo de trabajo	73
4.3.	Evaluación de los parámetros de desempeño analítico.....	86
4.4.	Pruebas de hipótesis estadística	87
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	89
	CONCLUSIONES	93
	RECOMENDACIONES	95
	BIBLIOGRAFÍA.....	97
	APÉNDICES	99
	ANEXOS.....	113

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Naturaleza ondulatoria de un haz de radiación electromagnética de una sola frecuencia	7
2.	Cambio en la longitud de onda a medida que la radiación pasa del aire a un vidrio denso y regresa al aire	9
3.	Regiones en el espectro electromagnético	10
4.	Fuente representativa de plasma acoplado por inducción	12
5.	Nebulizador de Meinhard	14
6.	Temperaturas en una fuente de plasma acoplado por inducción	16
7.	Propiedades deseables de un espectrómetro de emisión.....	18
8.	Diagrama óptico de un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción	20
9.	Fruto de palma africana	27
10.	Cortes de hoja y folíolos para muestreo	37
11.	Diagrama de flujo	55
12.	Esquema ICP-OES	57
13.	Límite de Detección (LoD) I.....	59
14.	Límite de Detección (LoD) II.....	60
15.	Intervalo de trabajo lineal	61
16.	Recuperación	63
17.	Repetibilidad	64
18.	Intensidad <i>versus</i> concentración fósforo.....	74
19.	Líneas espectrales fósforo	75
20.	Intensidad <i>versus</i> concentración potasio	76

21.	Líneas espectrales potasio	77
22.	Intensidad <i>versus</i> concentración calcio	78
23.	Líneas espectrales calcio.....	79
24.	Intensidad <i>versus</i> concentración magnesio	80
25.	Líneas espectrales magnesio	81
26.	Intensidad <i>versus</i> concentración azufre.....	82
27.	Líneas espectrales azufre	83
28.	Intensidad <i>versus</i> concentración boro	84
29.	Líneas espectrales boro.....	85
30.	Gráfica de la Distribución “t” de <i>Student</i>	87

TABLAS

I.	Métodos espectroscópicos comunes basados en la radiación electromagnética	11
II.	Datos generales de la palma africana	23
III.	Requerimientos ambientales	29
IV.	Concentración de elementos en el follaje de palma africana adulta (hoja 17).....	38
V.	Definición operacional de las variables.....	51
VI.	Concentraciones determinadas de nutrientes.....	65
VII.	Lecturas de blancos de muestra.....	65
VIII.	Estándares de calibración.....	66
IX.	Porcentaje de recuperación IPE Sample 193	71
X.	Coeficiente de variación IPE Sample 193.....	72
XI.	Límite de detección y de cuantificación	72
XII.	Estándares para estudio de linealidad	73
XIII.	Test para la pendiente de la recta de P	75
XIV.	Test para la pendiente de la recta de K	76

XV.	Test para la pendiente de la recta de Ca	78
XVI.	Test para la pendiente de la recta de Mg.....	80
XVII.	Test para la pendiente de la recta de S	82
XVIII.	Test para la Pendiente de la recta de B.....	84
XIX.	Criterios de aceptación y evaluación de los parámetros de desempeño analítico	86
XX.	Resultados de comprobación de hipótesis estadística.....	87

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
A	Absorbancia
α'	Coeficiente de absorción
$r^2(R^2)$	Coeficiente de determinación
$r(R)$	Coeficiente de correlación
%CV	Coeficiente de variación
s	Desviación estándar de la muestra
σ	Desviación estándar de la población
“t”	Distribución de probabilidad t de <i>student</i>
H_1	Hipótesis de investigación
H_0	Hipótesis nula
I	Intensidad luminosa
LoQ	Límite de cuantificación
LoD	Límite de detección
λ	Longitud de onda
μ	Media estadística poblacional
α	Nivel de significancia
n	Número de datos analizados
%	Porcentaje
Σ	Suma
v_i	Velocidad de propagación

GLOSARIO

Blanco reactivo	Muestra o estándar de calibración sin analito, es decir solo contiene los reactivos que se utilizan para la preparación de la muestra.
Cuentas/s	Cantidad de intensidad luminosa mediada por unidad de tiempo.
Espectro	Distribución de la intensidad de una radiación en función de una magnitud característica, como la longitud de onda, la energía, la frecuencia o la masa.
Espectroscopia	La espectroscopia o espectroscopía es el estudio de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia, con absorción o emisión de energía radiante.
Exactitud	Puntualidad y fidelidad en la ejecución de algo.
Foliar	De las hojas de las plantas o relativo a ellas.
Folíolo	Cada una de las hojuelas de una hoja compuesta.
Follaje	Conjunto de hojas de los árboles y de otras plantas.

Hipótesis	Suposición de algo posible o imposible para sacar de ello una consecuencia.
Incertidumbre	Falta de conocimiento seguro y claro de algo.
Intensidad	Grado de fuerza o de energía con que se realiza una acción o se manifiesta un fenómeno, un sentimiento, otros.
Linealidad	Perteneiente o relativo a la línea.
Longitud de onda	Es la distancia real que recorre una perturbación (una onda) en un determinado intervalo de tiempo.
Morfología	Es el estudio de la forma de las plantas en todas sus partes que sirven para diferenciar, estudiar o identificar de otras especies.
Muestra	Porción de un producto o mercancía que sirve para conocer la calidad del género.
Nebulizador	Dispositivo para convertir en aerosol un líquido.
Norma	Regla que se debe seguir o a que se deben ajustar las conductas, tareas, actividades, otros.
Onda	En física, la que propaga la luz emitida por un cuerpo luminoso.

Palma aceitera	Es una planta perenne, cultivada para la extracción de aceite.
Plasma	Es gas ionizado, se forma cuando la temperatura es muy elevada, cuando la materia absorbe energía y se separa formando iones positivos y electrones o en algunos casos núcleos atómicos y electrones libres.
Raquis	Raspa o eje de una espiga o pluma.
Repetibilidad	En la metodología científica, cualidad de repetible.
Validación	El proceso de definir una necesidad analítica y confirmar que el método en cuestión tiene capacidades de desempeño consistentes con las que requiere la aplicación.

RESUMEN

El objetivo principal del trabajo de investigación fue planificar el diseño y desarrollo de un protocolo experimental para la evaluación de parámetros de desempeño analítico que permitieron la validación de una técnica para la cuantificación de los elementos P, Ca, K, Mg, S, y B, en tejido vegetal de palma africana. Para el proceso se utilizó una muestra de follaje de palma certificada.

Por ello se realizaron varios ensayos de esta técnica con la muestra de palma certificada, determinándose los parámetros de exactitud y precisión, a través del cálculo del porcentaje de recuperación y coeficiente de variación, respectivamente. Se realizaron también curvas de calibración de los elementos con distintas concentraciones, con lo que se determinó la linealidad del sistema, con la ayuda del análisis gráfico y estadístico. Además se realizó el ensayo de la técnica utilizando muestras de blancos reactivos, con lo cual se obtuvieron los valores del Límite de Detección (LoD) y Límite de Cuantificación (LoQ).

Al finalizar la investigación y evaluar los resultados, se pudo observar que de acuerdo a los criterios de aceptación presentados, la técnica estudiada es válida y puede utilizarse con toda confianza en la determinación de nutrientes en tejido vegetal de palma africana. También se evaluaron pruebas de hipótesis para determinar diferencias entre las mediciones hechas en el laboratorio y los resultados certificados de la muestra, de lo que se concluye que no hay evidencia de que exista diferencias significativa entre los valores analizados.

Toda la experimentación se llevó a cabo en el Laboratorio de Análisis de Suelos y Foliaves, NATURALAB, Naturaceites S. A.

OBJETIVOS

General

Validar una técnica de cuantificación de nutrientes calcio, magnesio, potasio, fósforo, azufre y boro en foliolo de palma africana (*Elaeis guineensis*), a través de espectrofotometría de emisión óptica de plasma.

Específicos

1. Cuantificar en tejido vegetal las concentraciones de calcio, magnesio, potasio, fósforo, azufre y boro, utilizando un espectrofotómetro de plasma inductivamente acoplado (ICP).
2. Evaluar los parámetros de desempeño analítico, exactitud, precisión (repetibilidad), linealidad, límite de detección y límite de cuantificación en la técnica analítica estudiada.
3. Documentar resultados y registros de la validación de la técnica analítica estudiada.
4. Comprobar hipótesis estadística por medio de la evaluación de los resultados obtenidos en las mediciones realizadas.

Hipótesis

- **Hipótesis científica**

Es posible validar una técnica que permita la cuantificación de P, Ca, Mg, K, S y B en tejido vegetal a través de la evaluación de parámetros estadísticos que garanticen su desempeño.

- **Hipótesis estadística**

Hipótesis de investigación (H_1)

Las concentraciones certificadas de P, Ca, Mg, K, S y B de la muestra de palma, IPE Sample 193, son iguales a las determinadas en el Laboratorio de Análisis de Suelos y Foliarés, NATURALAB.

- **Hipótesis nula (H_0)**

Las concentraciones certificadas de P, Ca, Mg, K, S y B de la muestra de palma, IPE Sample 193, no son iguales a las determinadas en el Laboratorio de Análisis de Suelos y Foliarés, NATURALAB.

INTRODUCCIÓN

En la actualidad, en análisis de laboratorio, se utilizan muchas técnicas de análisis que son adecuadas, todas ellas siguiendo lineamientos que permiten su correcta aplicación y desarrollo en un laboratorio. Sin embargo para que un laboratorio pueda ofrecer resultados verdaderamente confiables debe garantizar primero el uso y aplicación de las técnicas analíticas.

Por ello surge la necesidad de estudiar y probar las técnicas de laboratorio, evaluarlas y verificar que son las más adecuadas y que se aplican correctamente. Este proceso de evaluación de una técnica analítica se denomina validación o verificación.

A través de la evaluación de parámetros de desempeño de la técnica (exactitud, precisión, linealidad, límites de detección y cuantificación, especificidad, entre otros), se garantiza que esta es adecuada al propósito de la misma, y es así como se verifican los resultados del laboratorio que utiliza dicha técnica.

El término validación o verificación depende de la técnica que se va a evaluar, las técnicas oficializadas (normalizadas) solamente requieren evaluar algunos parámetros de desempeño y en este caso la validación se denomina verificación. Cuando se trata de una técnica nueva o desarrollada en el laboratorio se debe evaluar la mayor cantidad de parámetros posibles y el proceso se denomina validación.

1. ANTECEDENTES

En el Laboratorio Químico de Análisis de Suelos y Foliar, NATURALAB, se realizan análisis de tejidos vegetales y suelos con la finalidad de determinar la concentración de elementos nutrientes en ellos, de tener idea de la disponibilidad de nutrientes (suelos) y de la condición de nutrición actual de la palma aceitera (foliar) que se cultiva en diferentes regiones. Para esto se hace uso de diferentes técnicas de análisis.

Sin embargo por motivos de control de calidad y por estar NATURALAB en vías de acreditación de la Norma Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración ISO 17025:2005, es necesario que todas las metodologías utilizadas tengan una calificación de su funcionalidad, por lo que todas las técnicas que se utilizan deben estar validadas para poder presentar resultados valederos y confiables a los clientes.

Este procedimiento de validación de una técnica analítica tiene diferentes enfoques de acuerdo al origen de cada una de estas. Una de las técnicas utilizadas en NATURALAB, es la determinación de calcio, magnesio, fósforo, potasio, azufre y boro por espectrofotometría de plasma inducido por acoplamiento.

En esta técnica se hace uso de diferentes procedimientos de preparación de muestra para llevarla a una forma líquida capaz de ser analizada por un espectrofotómetro de plasma. Por ello la necesidad de validar la técnica y tener los procedimientos adecuados para la realización de análisis de tejido vegetal.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Ley de Beer-Lambert

En óptica, la ley de Beer-Lambert, también conocida como ley de Beer o ley de Beer-Lambert-Bouguer es una relación empírica que relaciona la absorción de luz con las propiedades del material atravesado.

La ley de Beer fue descubierta independientemente (y de distintas maneras) por Pierre Bouguer en 1729, Johann Heinrich Lambert en 1760 y August Beer en 1852. En forma independiente, Wilhel Beer y Johann Lambert propusieron que la absorbancia de una muestra a determinada longitud de onda depende de la cantidad de especie absorbente con la que se encuentra la luz al pasar por la muestra.

2.1.1. Expresión de la ley de Beer-Lambert

La ley de Beer-Lambert relaciona la intensidad de luz entrante en un medio con la intensidad saliente después de que en dicho medio se produzca absorción. La relación entre ambas intensidades puede expresarse a través de las siguientes relaciones:

Para líquidos:

$$\frac{I_1}{I_0} = 10^{-\alpha \ell} = 10^{-\epsilon \ell c} = 10^{-A}$$

Ecuación 1

Para gases:

$$\frac{I_1}{I_0} = e^{-\alpha'\ell} = e^{-\sigma\ell N} = e^{-A'} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

I_1, I_0 , son las intensidades saliente y entrante respectivamente

$A = \alpha\ell c$, es la absorbancia, que puede calcularse también como:

$$A = -\log_{(10)} \frac{I_1}{I_0} \quad \text{Ecuación 3}$$

ℓ es la longitud atravesada por la luz en el medio

c es la concentración del absorbente en el medio

α es el coeficiente de absorción,

$$\alpha' = \frac{4\pi k_\lambda}{\lambda} \quad \text{Ecuación 4}$$

Es el coeficiente de absorción:

λ es la longitud de onda de la luz absorbida

k_λ es el coeficiente de extinción

La ley explica que hay una relación exponencial entre la transmisión de luz a través de una sustancia y la concentración de la sustancia, así como también entre la transmisión y la longitud del cuerpo que la luz atraviesa. Si se

conoce ℓ y α , la concentración de la sustancia puede ser deducida a partir de la cantidad de luz transmitida.

Las unidades de c y α dependen del modo en que se exprese la concentración de la sustancia absorbente. Si la sustancia es líquida, se suele expresar como una fracción molar. Las unidades de α son la inversa de la longitud (por ejemplo cm^{-1}). En el caso de los gases, c puede ser expresada como densidad (la longitud al cubo, por ejemplo cm^{-3}), en cuyo caso α es una sección representativa de la absorción y tiene las unidades en longitud al cuadrado (cm^2 , por ejemplo). Si la concentración de c está expresada en moles por volumen, α es la absorbencia molar normalmente dada en mol centímetro cuadrado.

El valor del coeficiente de absorción α varía según los materiales absorbentes y con la longitud de onda para cada material en particular. La ley tiende a no ser válida para concentraciones muy elevadas. La relación de la ley entre concentración y absorción de luz está basada en el uso de espectroscopia para identificar sustancias.

2.2. Espectroscopia atómica

Está basada en la utilización de átomos al estado de vapor activados mediante energía electromagnética o energía térmica, midiendo la energía absorbida o emitida por los átomos al pasar a un estado activado o al volver del estado activado.

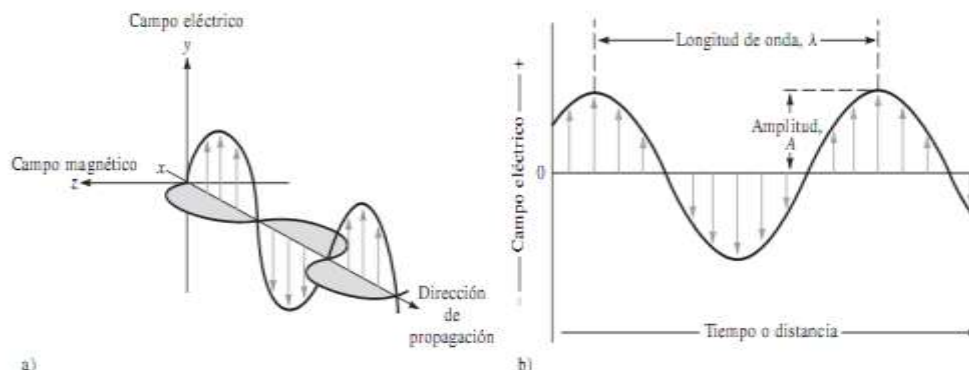
2.2.1. Propiedades generales de la radiación electromagnética

Muchas propiedades de la radiación electromagnética se describen por medio de un modelo ondulatorio sinusoidal clásico, el cual incorpora características como longitud de onda, frecuencia, velocidad y amplitud.

En contraste con otros fenómenos ondulatorios, como el sonido, la radiación electromagnética no requiere medio de soporte para su transmisión y, por tanto, pasa con facilidad por el vacío. El modelo ondulatorio no toma en cuenta los fenómenos relacionados con la absorción y emisión de energía radiante.

Para entender estos procesos, es necesario recurrir a un modelo de partículas en el cual la radiación electromagnética es vista como una corriente de partículas discretas, de paquetes de ondas o energía llamados fotones. La energía de un fotón es proporcional a la frecuencia de la radiación. Estos puntos de vista duales de la radiación como partículas y como ondas no son mutuamente excluyentes, sino más bien complementarios. De hecho, se encuentra que la dualidad onda-partícula se aplica al comportamiento de las corrientes de electrones, protones y otras partículas elementales, y es la mecánica ondulatoria la encargada de darle una explicación racional.

Figura 1. **Naturaleza ondulatoria de un haz de radiación electromagnética de una sola frecuencia**



Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed. p. 133.

En a) se muestra una onda polarizada en el plano que se propaga a lo largo del eje x. El campo eléctrico oscila en un plano perpendicular al campo magnético. Si la radiación no fuera polarizada, en todos los planos se vería un componente del campo eléctrico. En b) sólo se muestran las oscilaciones del campo eléctrico. La amplitud de la onda es la longitud del vector del campo eléctrico en el máximo de la onda, mientras que la longitud de onda es la distancia entre máximos sucesivos.

2.2.2. Propiedades ondulatorias de la radiación electromagnética

Para muchos propósitos la radiación electromagnética se representa convenientemente como campos eléctricos y magnéticos que experimentan en fase oscilaciones sinusoidales en ángulos rectos entre sí y respecto a la dirección de propagación. La figura 1a es una representación de un solo haz de radiación electromagnética polarizada en

el plano. El término polarizada en el plano significa que las oscilaciones de los campos eléctrico o magnético yacen en un solo plano. La figura 1b es la representación en dos dimensiones del componente eléctrico del haz que se representa en la figura 1a. La intensidad del campo eléctrico en la figura 1 se representa como un vector cuya longitud es proporcional a su magnitud.

La abscisa de esta gráfica es el tiempo cuando la radiación pasa por un punto fijo en el espacio, o la distancia cuando el tiempo se mantiene constante.

- Características de las ondas

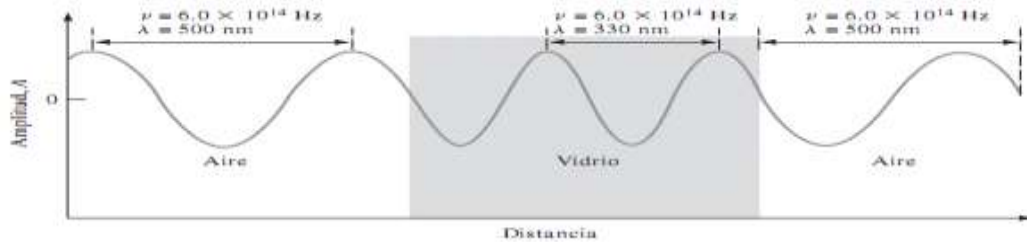
En la figura 1b, la amplitud A de la onda sinusoidal se muestra como la longitud del vector eléctrico en un máximo de la onda. El tiempo en segundos que se requiere para el paso de máximo o mínimos sucesivos por un punto fijo en el espacio se llama periodo p de la radiación.

La frecuencia n es el número de oscilaciones del campo que ocurren por segundo (Hertz) y es igual a una oscilación por segundo. Otra variable de interés es la longitud de onda λ , que es la distancia lineal entre dos puntos equivalentes cualesquiera en ondas sucesivas. La multiplicación de la frecuencia (ν) en ciclos por segundo por la longitud de onda en metros por ciclo, da la velocidad de propagación v_i en metros por segundo:

$$v_i = \nu \lambda_i \quad \text{Ecuación 5}$$

Es importante entender que la frecuencia de un haz de radiación está determinada por la fuente y permanece invariable.

Figura 2. **Cambio en la longitud de onda a medida que la radiación pasa del aire a un vidrio denso y regresa al aire**



Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 134.

- El espectro electromagnético

Como se muestra en la figura 3, el espectro electromagnético abarca una enorme gama de longitudes de onda y frecuencias (y, por tanto, de energías). De hecho, el intervalo es tan grande que se requiere una escala logarítmica. En la figura 3 se ilustran también de modo cualitativo las regiones espectrales principales.

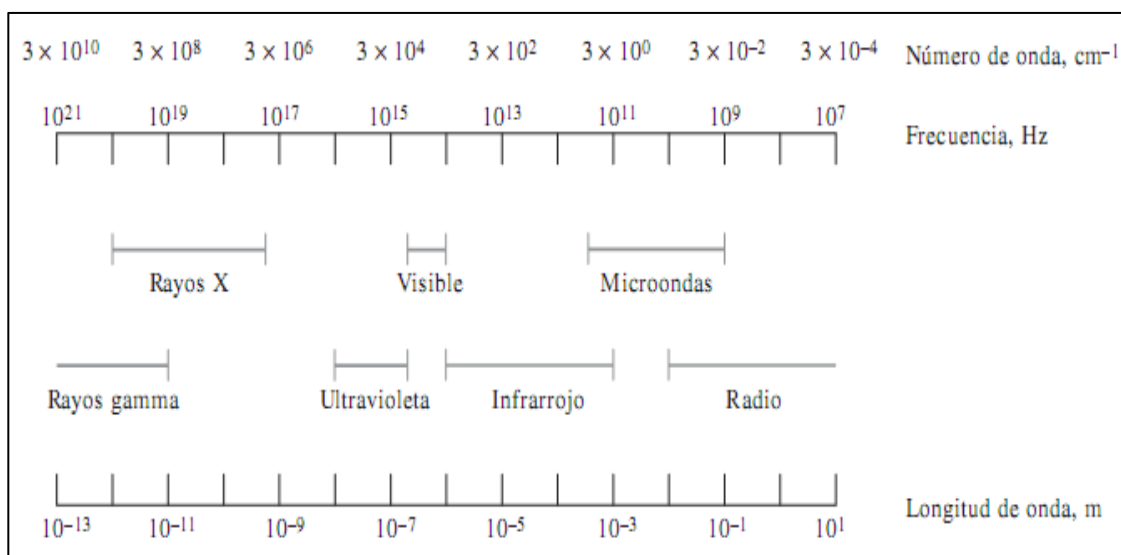
Las divisiones se basan en los métodos usados para generar y detectar las distintas clases de radiación. Varios traslapes son evidentes. Note que la porción del espectro visible para el ojo humano es pequeña comparada con otras regiones espectrales.

Obsérvese también que los métodos espectros químicos que emplean, no solo radiación visible, sino también ultravioleta se llaman métodos ópticos a pesar de la incapacidad del ojo humano para detectar cualquiera de los dos tipos de radiación. Esta terminología un poco ambigua surge de las muchas características comunes de los

instrumentos para las tres regiones espectrales y las similitudes en cómo se ven las interacciones de los tres tipos de radiación con la materia.

En la tabla I se enlistan los valores de la longitud de onda, los intervalos de frecuencia para las regiones del espectro que son importantes para propósitos analíticos y se proporcionan los nombres de los distintos métodos espectroscópicos relacionados con cada una. En la última columna de la tabla se enumeran los tipos de transiciones nucleares, atómicas o cuánticas moleculares que sirven como base para las diversas técnicas espectroscópicas.

Figura 3. **Regiones en el espectro electromagnético**



Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 135.

Tabla I. **Métodos espectroscópicos comunes basados en la radiación electromagnética**

Tipo de Espectroscopia	Intervalo Usual de Longitud de Onda	Intervalo Usual de número de onda, cm^{-1}	Tipo de transición cuántica
Emisión de rayos gamma	0,005-1,4 Å	-	Nuclear
Absorción, emisión, fluorescencia y difracción de rayos x	0,1-100 Å	-	Electrón interno
Absorción ultravioleta en el vacío	10-180 nm	1×10^6 a 5×10^4	Electrones de enlace
Absorción, emisión, y fluorescencia ultravioleta-visible	180-780 nm	5×10^4 a $1,3 \times 10^4$	Electrones de enlace
Absorción infrarroja y dispersión Raman	0,78-300 μm	$1,3 \times 10^4$ a $3,3 \times 10^1$	Rotación, vibración de moléculas
Absorción de microondas	0,75-375 mm	13-0,03	Rotación de moléculas
Resonancia de giro electrónico	3 cm	0,33	Espín de electrones en un campo magnético
Resonancia magnética nuclear	0,6-10 m	$1,7 \times 10^{-2}$ a 1×10^3	Espín de núcleos en un campo magnético

Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 135.

2.3. Espectroscopia de emisión con fuentes de plasma

Un plasma es una mezcla gaseosa eléctricamente conductora que contiene una concentración importante de cationes y electrones. (Las concentraciones de ambos son tales que la carga neta es cero).

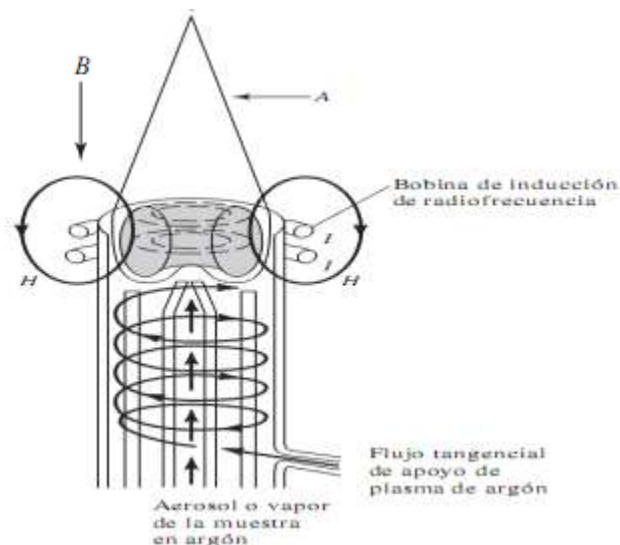
En el plasma de argón, que se usa con frecuencia para el análisis de emisión, los iones y los electrones de argón son las especies conductoras principales, aunque los cationes provenientes de la muestra también están presentes en cantidades pequeñas.

Los iones de argón, una vez formados en el plasma, son capaces de absorber suficiente potencia de una fuente externa para conservar la temperatura en un nivel en el que la ionización posterior mantiene indefinidamente al plasma, el cual alcanza temperaturas hasta de 10 000 kilovatios

Hay tres tipos principales de plasmas de alta temperatura:

- Plasma acoplado por inducción.
- Plasma de corriente continua.
- Plasma inducido por microondas. Las dos primeras de estas fuentes se consiguen en varias compañías de instrumentos, la tercera no se usa mucho en el análisis elemental.

Figura 4. **Fuente representativa de plasma acoplado por inducción**



Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 255.

2.3.1. Fuente de plasma acoplado por inducción

En la figura 4 se ilustra el esquema de una fuente característica para plasma acoplado por inducción (también conocido como plasma acoplado en forma inductiva) llamada antorcha. Está formada por tres tubos concéntricos de cuarzo a través de los cuales fluyen corrientes de argón. Según el diseño de la antorcha, el consumo total de argón es de 5 a 20 litros por minuto.

El diámetro del tubo más grande es casi siempre alrededor de 2,5 centímetros. La parte superior de este tubo está rodeada por una bobina de inducción, refrigerada por agua, que está alimentada por un generador de radiofrecuencia capaz de producir una potencia de 0,5 a 2 kilo watts a 27,12 Mega Hertz o 40,68 Mega Hertz. La ionización del argón que fluye se inicia mediante una chispa que proviene de una bobina Tesla.

Los iones resultantes y sus electrones asociados interaccionan entonces con un campo magnético oscilante (llamado H en la figura 4) producido por la bobina de inducción.

Esta interacción fuerza a los iones y los electrones, dentro de la bobina, a moverse en trayectorias circulares, como se ilustra en la figura 4. La resistencia que manifiestan los iones y los electrones a este flujo de carga es la causa del calentamiento óhmico del plasma.

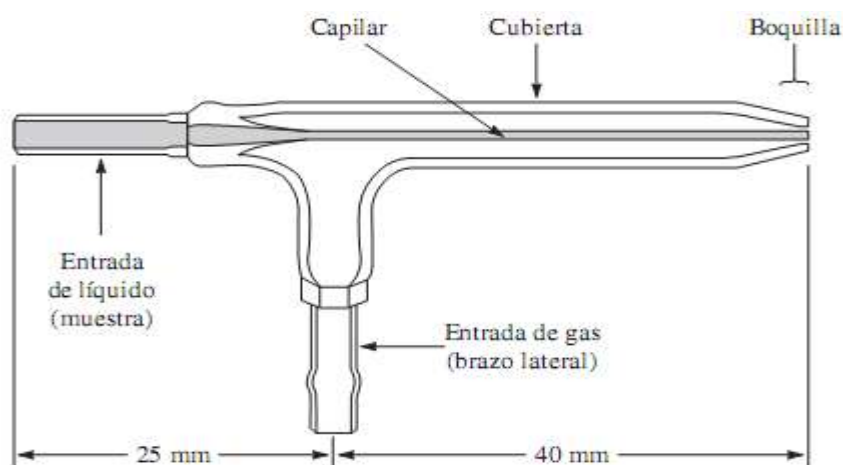
La temperatura del plasma así formado es lo suficientemente elevada como para que el cilindro exterior de cuarzo requiera aislamiento térmico. Para lograrlo, se hace fluir argón de forma tangencial alrededor de las paredes del tubo, como lo indican las flechas en la figura 4. Este flujo tangencial enfría las paredes interiores del tubo central y concentra radialmente el plasma.

Un diseño que ofrece la mayoría de los fabricantes gira la antorcha 90° de modo que se alinea axialmente con el sistema del espectrómetro (B en la figura 4). La radiación emitida desde el centro del plasma es la que se utiliza en los análisis.

2.3.2. Introducción de la muestra

Las muestras se introducen en el plasma acoplado por inducción mediante un flujo de argón de casi 1 litro por minuto por el tubo central de cuarzo. La muestra puede ser aerosol, vapor generado térmicamente o polvo fino. El medio más común para introducir la muestra es el nebulizador concéntrico de vidrio que se muestra en la figura 5. La muestra se transporta hasta la punta por medio del efecto de Bernoulli (aspiración o succión). La alta velocidad del gas divide al líquido en gotitas finas de varios tamaños que son transportadas hacia el interior del plasma.

Figura 5. **Nebulizador de Meinhard**



Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 256.

Otro tipo común de nebulizador tiene un diseño de flujo cruzado. En este caso, un flujo de gas a alta velocidad atraviesa la punta de un capilar en ángulos rectos, lo que ocasiona el mismo efecto de Bernoulli.

A menudo, en este tipo de nebulizador, el líquido se hace pasar a través del capilar mediante una bomba peristáltica. Hay muchos otros tipos de nebulizadores de mayor rendimiento, para nebulización de muestras con alto contenido de sólidos y para producir neblinas ultra finas.

2.3.3. Aspecto del plasma y espectros

Un plasma característico tiene un núcleo opaco, blanco brillante y muy intenso, cubierto en la parte superior por una cola en forma de llama. El núcleo, que sobresale algunos milímetros del tubo, produce el espectro atómico del argón que se superpone a un espectro continuo.

El continuo es característico de las reacciones de recombinación de electrones, iones, y la *bremstrahlung*, que es la radiación continua que se genera cuando las partículas cargadas se detienen o bajan su velocidad. En la zona situada entre 10 y 30 milímetros por encima del núcleo, la emisión continua se desvanece y el plasma es ópticamente transparente.

Por lo general, las observaciones espectrales se efectúan a una altura de 15 a 20 milímetros por encima de la bobina de inducción donde la temperatura es de 6 000 a 6 50 kilovatios. En esta zona la radiación de fondo carece de las líneas del argón y resulta adecuada para el análisis. Muchas de las líneas más sensibles del analito en esta zona del plasma provienen de iones como Ca^+ , Cd^+ , Cr^+ , y Mn^+ .

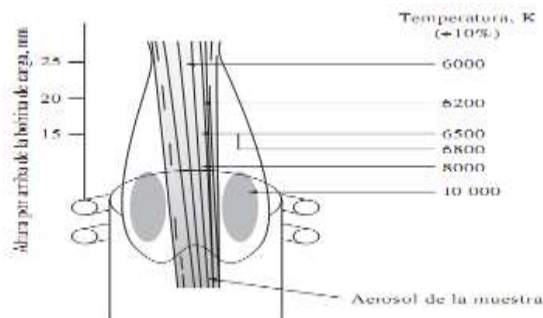
En los espectrómetros de plasma acoplado por inducción, la antorcha se puede ver radialmente, perpendicular a su eje (A en la figura 4), o axialmente (B en la misma figura) o pueden contener un sistema de conmutación controlado mediante computadora para ver ambos esquemas.

Las ventajas del acomodo axial respecto a la configuración radial incluyen una intensidad de radiación incrementada resultante de una trayectoria más larga y una precisión superior, lo cual produce límites de detección inferiores (un factor de 2 a 30 con nebulización ultrasónica).

Las desventajas son que la cola de plasma frío se tiene que eliminar de la trayectoria de la luz para evitar interferencia proveniente de los óxidos; y que la degradación contaminante y térmica de las partes ópticas del espectrómetro es más difícil de evitar en la configuración axial que en la radial.

La decisión sobre qué configuración usar depende del comportamiento químico del analito en el plasma, la línea espectral elegida para el análisis, la calidad de los datos requeridos y la naturaleza detallada del experimento.

Figura 6. **Temperaturas en una fuente de plasma acoplado por inducción**



Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 258.

2.3.4. Atomización e ionización de los analitos

En la figura 6 se muestran las temperaturas del plasma mediante curvas isotérmicas. El tiempo de residencia de los átomos de la muestra es de unos 2 milímetros antes de alcanzar el punto de observación. Durante ese lapso los átomos experimentan temperaturas que varían entre 5 500 y 8 000 kilovatios. El tiempo y las temperaturas son aproximadamente dos o tres veces mayores que los que se encuentran en las llamas de combustión más calientes, (acetileno/óxido nitroso) que se utilizan en los métodos espectroscópicos de llama. Por tanto, la atomización es más completa en los plasmas que en las flamas y hay menos problemas de interferencias químicas.

Sorprende que los efectos de interferencia por ionización sean pequeños, tal vez porque la gran concentración de electrones que provienen de la ionización del argón mantiene una concentración de electrones casi constante en el plasma.

Hay otras ventajas asociadas con las fuentes de plasma. Primero, la atomización se produce en un medio inerte desde el punto de vista químico, lo que tiende a aumentar el tiempo de vida del analito porque evita la formación de óxidos. Segundo y a diferencia del arco, las chispas y las flamas, el corte transversal de la temperatura del plasma es relativamente uniforme tercero, por consiguiente, no se presentan tan a menudo efectos de auto absorción y auto inversión; por tanto, las curvas de calibración suelen ser lineales y abarcan varios órdenes de magnitud de concentración. Por último, el plasma produce una ionización importante, lo cual lo hace una fuente excelente para la espectrometría de masas con plasma acoplado por inducción.

2.3.5. Espectrómetros con fuente de plasma

En la figura 7 se proporcionan las propiedades más importantes de un instrumento ideal para espectroscopia de emisión de plasma. El espectrómetro ideal no existe todavía, en parte porque algunas de estas propiedades se excluyen mutuamente; por ejemplo, una elevada resolución requiere rendijas estrechas, que casi siempre reducen la relación señal-ruido y, por tanto, la precisión de las lecturas de intensidad. No obstante, los instrumentos actuales se aproximan a los ideales que se enlistan en la figura.

Figura 7. **Propiedades deseables de un espectrómetro de emisión**

1. Alta resolución (0.01 nm o $\lambda/\Delta\lambda > 100\ 000$)
2. Adquisición y recuperación de la señal rápidas
3. Baja luz parásita
4. Amplio intervalo dinámico ($>10^6$)
5. Exactitud y precisión en la identificación y selección de la longitud de onda
6. Lecturas de intensidad precisas (desviación estándar relativa $<1\%$ a $500 \times$ el límite de detección)
7. Elevada estabilidad respecto a los cambios ambientales
8. Fácil corrección del fondo
9. Operación controlada por computadora: lectura, almacenamiento, manipulación de los datos, etcétera.

Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 259.

En la actualidad, una docena o más de fabricantes de instrumentación ofrecen espectrómetros de emisión de plasma. Sus diseños, las características de desempeño y los intervalos de longitud de onda son muy variados. La mayoría abarca por completo el espectro ultravioleta y visible, desde 170 hasta 800 nanómetros.

Algunos instrumentos están equipados para trabajar en condiciones de vacío, con lo que pueden llegar a longitudes de onda del espectro ultravioleta de hasta 150 o 160 nanómetros. Esta región de longitudes de onda cortas es importante porque elementos como fósforo, azufre y carbono tienen líneas de emisión en ella.

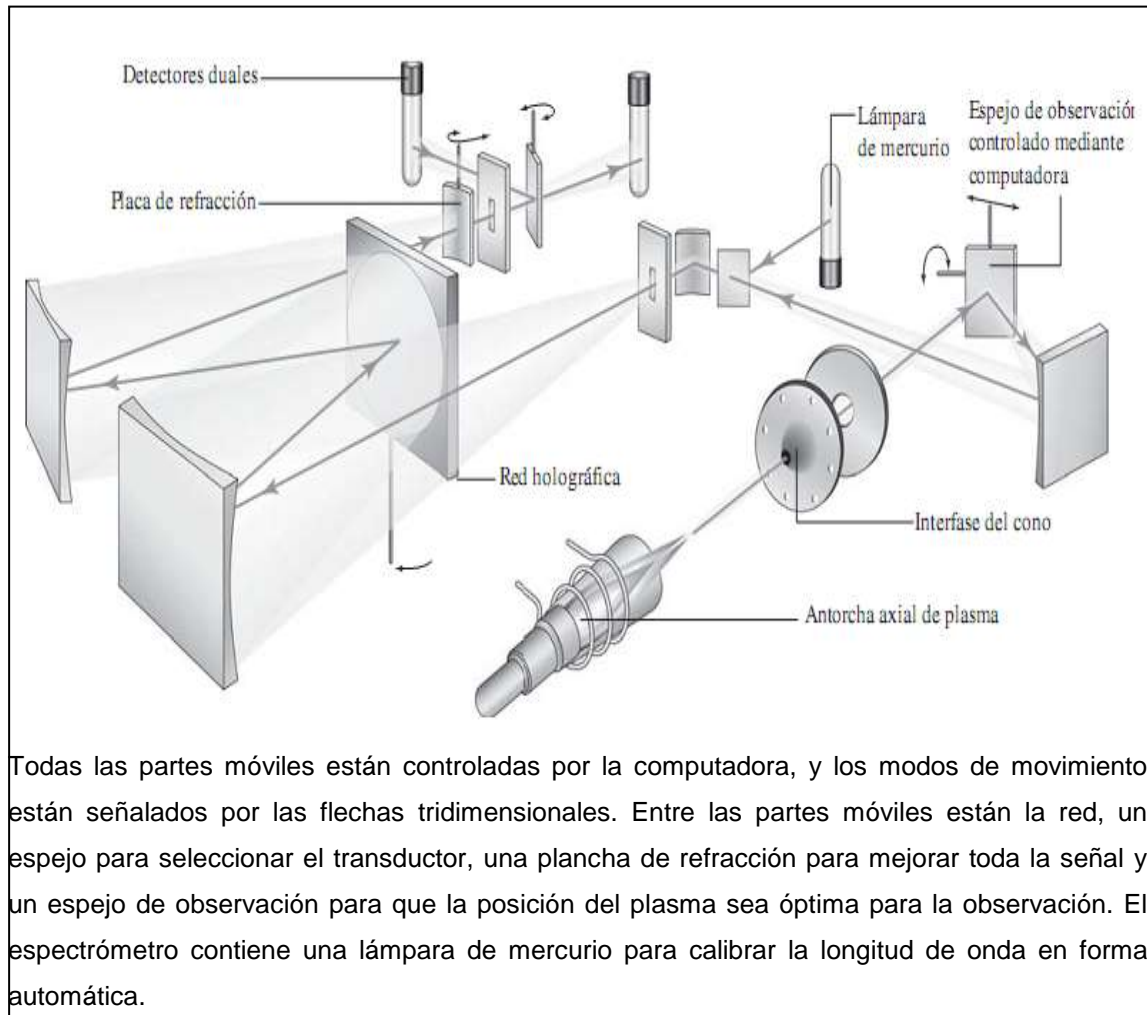
Los instrumentos para la espectroscopia de emisión son de tres tipos básicos: secuenciales, de varios canales simultáneos y de transformada de Fourier. Estos últimos se usan poco en la espectroscopia de emisión.

Los instrumentos secuenciales se programan para pasar desde la línea de un elemento hasta la línea del segundo elemento, deteniéndose solo lo suficiente (algunos segundos) en cada una para medir sus intensidades con una relación señal-ruido satisfactoria.

En cambio, los instrumentos multicanal están diseñados para medir en forma simultánea, o casi, las intensidades de las líneas de emisión para una gran cantidad de elementos, a veces 50 o 60. Cuando se tienen que determinar varios elementos, los instrumentos secuenciales requieren mucho más tiempo para la introducción de las muestras que los otros dos tipos. Por tanto, estos instrumentos, aunque son más sencillos, son costosos en cuanto al consumo de muestra y de tiempo.

Tanto los espectrómetros secuenciales como los de emisión por varios canales o multicanal son de dos tipos generales: uno usa un espectrómetro de red clásico y el otro un espectrómetro en escalera.

Figura 8. Diagrama óptico de un espectrómetro de emisión óptica con plasma acoplado por inducción



Todas las partes móviles están controladas por la computadora, y los modos de movimiento están señalados por las flechas tridimensionales. Entre las partes móviles están la red, un espejo para seleccionar el transductor, una plancha de refracción para mejorar toda la señal y un espejo de observación para que la posición del plasma sea óptima para la observación. El espectrómetro contiene una lámpara de mercurio para calibrar la longitud de onda en forma automática.

Fuente: Douglas Skoog, James Holler. *Principios de Análisis Instrumental*. 6ta. Ed., p. 260.

2.4. Palma africana

Elaeis guineensis, comúnmente llamada palma africana de aceite o palma aceitera, es una especie del género *Elaeis*.

2.4.1. Características

Como todas las especies de su género *Elaeis* posee un tronco (estipe) alto y único. Las inflorescencias se producen en las axilas de las hojas, éstas son grandes y de tipo pinnado compuesto, con folíolo (hojas pequeñas que componen la hoja) que parten desde el raquis sobre dos planos regulares. Los folíolos son lanceolados.

Es una planta perenne, alcanzando más de 100 años, pero bajo cultivo solo se le permite llegar hasta los 25 años, que es cuando alcanza los 12 metros de altura. En estado natural llega a superar los 40 metros.

Los frutos se agrupan en una fruticencia, una drupa, cubiertos con un tejido ceroso llamado exocarpio, una pulpa denominada mesocarpo y una estructura dura y redonda, en cuyo interior se aloja una almendra, denominada endocarpio, que es la que protege el embrión.

Los frutos que produce *E. guineensis* son frutos normales, aunque a veces produce frutos blancos caracterizados por no contener ni aceite, ni almendra, igualmente con poca frecuencia se producen algunos sin almendra denominados frutos partenocárpico, pero son más comunes en *E. oleifera* o en el híbrido *oleifera x guineensis*.

2.4.2. Botánica de la palma africana

Palmera monoica con tronco solitario de 10 a 15 metros de altura y de 30 a 60 centímetros de diámetro con cicatrices de las hojas viejas. Hojas pinnadas de 4 a 5 metros de longitud, con 100 a 150 pares de folíolos de 50-100 centímetros de longitud.

El científico Hutchinson ha clasificado la palma aceitera como:

- División = fanerógamas
- Tipo = angiosperma
- Clave = monocotiledóneas
- Orden = palmales
- Familia = palmaceae
- Tribu = cocoinea
- Género = elaeis
- Especie = guineensis y oleífera

La palma aceitera es una planta perenne, cultivada para la extracción de aceite. La especie de palma tiene tres variedades: dura, pisifera y tenera. De ellas la variedad tenera es la que se utiliza comercialmente para la extracción del aceite y es un cruce entre las otras dos variedades (dura y pisifera).

La palma africana es una especie monoica, que produce inflorescencias masculinas y femeninas por separado (ciclos femeninos y masculinos alternos evitando autofecundaciones).

Una inflorescencia femenina se convierte en un racimo con frutos maduros, de color rojo amarillento, después de cinco meses a partir de la apertura de las flores. El número de racimos y de hojas producidas por palma por año es variable, de acuerdo a la edad y a los factores genéticos.

A la edad de cinco años (palma adulta), se espera que una palma produzca catorce racimos por año, con un peso promedio de 7 kilogramos por racimo y ya a los ocho años se estima que el número de racimos producidos es de ocho con un peso de 22 kilogramos cada uno.

El siguiente cuadro muestra los datos generales de producción de una palma africana.

Tabla II. **Datos generales de la palma africana**

Producción de hojas	24- 30 / palma
Producción de racimos	12 / año / palma
Peso del racimo	20 - 30 kg
Peso del fruto.	10 gramos
Semilla (nuez) fruto	5 - 8 % (1 – 1,6 ton / ha)
Aceite de almendra	0.50 ton / ha
Torta de almendra	0.45 ton. / ha
Producción de cáscaras (de semilla)	5 %
Pericarpio / fruto	85 - 92 %
Aceite / racimo	20 - 25 %
Producción de aceite	5 - 8 ton /ha / año
Producción de fibras / racimo	13 %
Producción de raquis / racimo	22%

Fuente: TechnoServe. *Manual Técnico de Palma Africana*. San pedro Sula Cortes 2009, p. 5.

2.4.3. Morfología de la palma africana

La morfología de la palma de aceite es la característica de las monocotiledóneas: raíces de anclaje, raíces primarias, raíces secundarias y raíces terciarias.

La morfología es el estudio de la forma de las plantas en todas sus partes que sirven para diferenciar, estudiar o identificar de otras especies.

- Raíces

Poseen raíces de anclaje, raíces primarias, raíces secundarias, raíces terciarias. Las raíces en su mayor parte son horizontales. Se encuentran en los primeros 50 centímetros del suelo, las raíces primarias descienden en el suelo y algunas llegan hasta 4,5 metros de la superficie, el número es muy variado y continúan produciéndose a lo largo de la vida de la palma. La distribución de raíces en el suelo depende grandemente de las condiciones de suelo.

Las raíces se encuentran en las interlíneas, como a 3 o 4 metros de la palma (ASD, antecedentes y generalidades de la palma. Costa Rica. Consultado en febrero de 2006).

Las funciones principales de la raíz son:

- Absorción de agua y minerales (nutrientes) del suelo.
- Anclaje del cuerpo de la planta.
- Traslocación del agua y minerales al tallo y de algunos productos fotosintéticos más allá del tronco.

- Tronco o estípite

Un solo punto de crecimiento (tronco), es de forma cilíndrica y cubierto con las bases de las hojas de los años anteriores, el diámetro es normalmente de 45-68 centímetros, la circunferencia es más o menos de 355 centímetros, pero la base comienza más gruesa.

La proporción anual de elongación del tronco está entre 35 -75 centímetros (en Malasia hay un promedio de elongación de 45 centímetros anuales).

Con este crecimiento en altura de las palmas la cosecha de la fruta llega a ser muy difícil ya después de 15 años de edad. Los cruces interespecíficos entre *E. guineensis* y *E. oleífera* han tenido un incremento en el crecimiento anual muy bajo y han atraído el interés de los fitomejoradores (ASD, 2006).

Las funciones del tronco:

- El soporte de las hojas y su exposición sistemática (filotaxia) para maximizar la intercepción de la luz por las hojas.
 - El soporte de inflorescencias tanto masculinas como femeninas.
 - La traslocación de agua, minerales y productos de la fotosíntesis.
 - El almacenamiento de nutrientes y líquidos, sirve de reseborio o depósito.
- Hojas

Bajo condiciones normales, el tronco sostiene entre 40 y 56 hojas. Produce entre 20 a 30 hojas por año. Usualmente se obtiene una proporción de 3 hojas por cada racimo producido. La mayoría de las palmas adultas producen un promedio entre dos y tres hojas nuevas cada mes. Las hojas son de color verde, tienen un largo de 6 a 8 metros y están arregladas en espirales sobre el tronco. Si se mira desde arriba, se observa que en la mayoría de las palmas el espiral del estípote corre en sentido de las agujas del reloj de arriba hacia abajo.

El eje de la hoja se divide en una parte basal o más ancha, en cuyos bordes aparecen espinas planas, gruesas, agudas y un raquis en el que se insertan los folíolos (ASD, 2006).

Las partes de una hoja de palma son:

- base de la hoja
 - peciolo
 - raquis
 - Foliolos.
-
- Inflorescencias

Las especies de *Elaeis* tienen inflorescencias axilares unisexuales, las primeras aparecen aproximadamente a los tres años y a partir de esa edad hay una por cada hoja que se abre. La relación ideal entre flores femeninas y masculinas de 3:1.

En las palmas adultas la flor está formada 33 - 34 meses antes de la antesis. El sexo de las inflorescencias de la palma aceitera es diferenciada 20 meses antes de que se haga visible en la palma (ASD, 2006).

La inflorescencia masculina de la palma aceitera está constituida por un raquis carnoso con espigas de 12-20 centímetros de longitud de forma aproximadamente cilíndrica. Cada espiga reúne entre 600 y 1 200 pequeñas flores. El polen es de forma tetraédrica y de color amarillo y despide un fuerte olor a anís. La cantidad de polen producido por una inflorescencia es entre 25 y 30 gramos, y este es formado y liberado en un periodo 2 - 3 días después de que se ha completado la antesis.

La inflorescencia femenina está constituida por un raquis central sobre el cual están distribuidos en espirales espigas que terminan en una punta dura. Las flores femeninas tienen tres estigmas carnosos, de colores blanco cremoso mientras son receptivos, y luego color rosado o rojo, hasta que se secan. La receptibilidad de los estigmas dura más de dos o tres días. (ASD, 2006).

- El fruto y el racimo

El fruto es una drupa sésil cuya forma varía desde casi esférica a ovoide o alargada y un poco más gruesa en el ápice. Su longitud varía desde 2-5 centímetros, el pericarpio del fruto consta del exocarpio exterior o piel, el mesocarpio o pulpa y el endocarpio o huesco. Los pigmentos del fruto son:

- Frutos negruzcos antes de la madurez, adquieren color rojo al menos su parte inferior: forma nigrescens.
- Frutos verdosos antes de la madurez, luego van tomando un color rojo claro, más o menos intenso: forma virescens.
- Formación de carotenoides en la pulpa cuando llega a madurar, lo que da al aceite un color rojizo.
- Ausencia forma los albescens.

Figura 9. **Fruto de palma africana**



Fuente: TechnoServe. *Manual Técnico de Palma Africana*. San Pedro Sula Cortes 2009, p. 16.

Las partes del fruto son: (1) estigma, (2) exocarpo o epicarpio, (3) mesocarpo o pulpa, (4) endocarpo o cuesco, (5) endospermo o almendra, (6) embrión. El pericarpo está conformado por el epicarpio y el mesocarpo juntos y es de donde se extrae la mayor proporción de aceite.

Los racimos llevan sólidamente adheridos a sus espigas de 800-4 000 frutos, en promedio el rango varia de 1 200-1 500 frutos por racimo, pueden llegar a pesar de 2-3 kilogramos. En plantillas, hasta 90 kilos en plantaciones adultas, este incremento de peso es gradual a medida que la planta va en desarrollo.

Durante el desarrollo de los racimos la polinización y la fecundación generalmente ocurre en las hojas +17 a +20, mientras que los racimos maduros están en la posición +32 a + 37, alrededor de cinco y medio a seis meses después.

Las frutas individuales comienzan a incrementar su tamaño 18 días después de la polinización y alcanza su tamaño total antes que el racimo este maduro. La formación de aceite en el mesocarpo y la almendra, se produce al finalizar el periodo de maduración del racimo.

2.4.4. Requerimientos ambientales de la palma africana

Las palmas africanas necesitan características especiales de clima, cantidad de luz, y agua en el área a desarrollarse. El siguiente cuadro muestra las necesidades ambientales básicas de la palma africana.

Tabla III. **Requerimientos ambientales**

Luminosidad	Como mínimo 1 800-2 000 horas luz por año, 5 horas por día
Humedad ambiental	Promedio mensual 75-80 %
Altitud	Rango de 0 a 500 msnm
Topografía	Planos o ligeramente ondulados con pendientes menores a 15 %
Medios Edáficos	La palma necesita medios edáficos, bien drenados, con un perfil de 60-100 cm. De profundidad, textura franco arcilloso o franco arenoso, con pH entre 4,5 a 7,0
Temperatura medio	25,5 °C
Precipitación	Igual o superior de 1 800 mm, bien distribuido en todo el año.
Déficit Hídrico	Inferior a 150 mm/año

Fuente: TechnoServe. *Manual Técnico de Palma Africana*. San Pedro Sula Cortes 2009, p. 16.

2.4.5. Elementos nutricionales esenciales

Elementos nutricionales son los elementos necesarios en la planta para que complete su ciclo de vida vegetativo y reproductivo, se les conoce como esenciales porque no pueden faltar en la planta para que esta se desarrolle normalmente.

Para su normal desarrollo las plantas necesitan 16 elementos nutritivos. El hidrógeno (H), oxígeno (O) y carbono (C) son elementos que la planta obtiene sin necesidad de aplicaciones, y que pueden obtenerlos del agua y el aire.

Los restantes 13 elementos se conocen como minerales porque son aplicados artificialmente a la planta por medio de fertilización al suelo o follaje. Estos elementos son nitrógeno (N), potasio (K), fósforo (P), magnesio (Mg), azufre (S), calcio (Ca), cobre (Cu), zinc (Zn), manganeso (Mn), molibdeno (Mo), boro (B), hierro (Fe) y cloro (Cl).

Según la cantidad que la planta necesite los elementos se conocen como macro y micronutrientes, la división de macro y micro es:

- Macro – elementos = N, P, K, Ca, Mg
- Micro - elementos = Fe, Cu, Cl, B, Mn, Zn, Mo, S
- Nitrógeno (N)

El nitrógeno es esencial para el crecimiento de la planta, especialmente en el desarrollo de follaje en las plantas. El nitrógeno participa en la fotosíntesis que es la forma en las plantas adquieren energía.

- Fósforo (P)

El fósforo es esencial para el crecimiento de la planta, particularmente para el crecimiento de la raíz durante el establecimiento y las primeras etapas de la plantación

- Potasio (K)

Participa en el crecimiento de la planta, sobre todo en los frutos. Controla la apertura y el cierre de los estomas (poros de la planta) por lo que controla el agua en la planta, contrarresta condiciones de sequía.

Es un factor nutricional importante para mayor rendimiento, su carencia resulta en fruto vano (vacío) y quebradura de tallos con vientos fuertes, también ayuda en la resistencia a enfermedades.

- Magnesio (Mg)

El magnesio es el elemento central en la fotosíntesis y respiración de la planta. Es importante para que la planta absorba la energía solar.

- Boro (B)

Participa en el crecimiento, maduración y elongación de la planta. El boro es esencial para el crecimiento, en ausencia de boro el crecimiento decrece. Promueve el crecimiento del tubo de polen y la germinación.

- Calcio (Ca)

Interviene en la elongación de las células en los tallos, puntos de crecimiento y puntos de crecimiento de la raíces. La descomposición de flores, follaje, frutas y vegetales en la pos-cosecha depende del calcio.

- Azufre (S)

El azufre estimula la producción de semillas. Ayuda a la planta a soportar temperaturas bajas. Es importante en la formación de vitaminas para la planta.

2.4.6. Método de diagnóstico de nutrientes

Es necesario conocer la cantidad de nutrientes que existen en el follaje de la planta y el suelo para conocer si tiene de donde adquirir los nutrientes que necesita. Existen varios métodos de diagnóstico para detectar deficiencias nutricionales en las planta, algunos de ellos son: diagnóstico visual, análisis de suelo y análisis foliar o de follaje.

- **Análisis foliar**

Es un análisis de los tejidos de las hojas de la planta que proporciona información sobre la forma y cantidad en que los elementos nutritivos son absorbidos por las plantas. Reporta los contenidos de los nutrimentos en la parte de la planta analizada. Indica lo que la planta ha absorbido del suelo o de la atmósfera en el período de tiempo anterior al muestreo.

El análisis foliar contempla la absorción de nutrientes como resultado de la influencia directa o indirecta de nutrientes del suelo, factores edáficos físicos y químicos, condiciones climáticas y prácticas de manejo del cultivo.

La corrección temprana de las deficiencias minerales en la planta, así como la aplicación de las cantidades exactas de fertilizantes es condición indispensable para alcanzar y mantener altos niveles de rendimientos en la producción de frutos de la palma.

Todo palmicultor debe practicar el análisis foliar y de suelos como una rutina anual, que le sirva de guía para la fertilización de sus fincas. El muestreo foliar es más decisivo que el muestreo de suelos, que no muestra lo disponible para la planta como el de suelo sino lo que la planta tiene.

En palma aceitera para el muestreo foliar se toma a la hoja número 17 como representativa, ya que se ubica en la parte media de la corona y ha madurado recientemente pero no ha comenzado a envejecer.

- Toma de muestras

La toma de muestras es conocer los pasos necesarios a seguir para realizar la toma de muestras y lograr que los resultados obtenidos sean útiles para la fertilización futura.

Se debe tomar en cuenta aspectos como: edad, posición de la hoja, sección o parte de la hoja, época del año, patrones de lluvia, período de producción y periodo de fertilización, para que los resultados sean verídicos y confiables.

Los pasos de la toma de muestra son:

- Determinar las unidades de muestreo (UM). Una unidad de muestreo (UM) corresponde a un área homogénea de la plantación; teóricamente refleja el estado nutricional del resto de las plantas que se encuentran en esta área. Las UM deben tener homogeneidad por tipo de suelo, topografía del terreno, drenaje, edad de la plantación, material genético, manejo actual y pasado.
- En general es una muestra por 20 hectareas en terrenos uniformes. Cada muestra está formada de 15 a 25 submuestras.
- La mezcla de todas las submuestras forman la muestra final a ser enviada al laboratorio.
- Una vez establecidas las UM se deben identificar para que cada año sea en las mismas UM y se puede comparar resultados, para

monitorear la evolución de los niveles de nutrientes a través del tiempo.

- Se debe utilizar las mismas áreas tanto para muestreo foliar como para el muestreo de suelo. Se recomienda muestrear después de 3 -6 meses de la última aplicación de fertilizantes.

Se puede muestrear en cualquier época del año, pero se debe evitar tomar muestras después de una lluvia de más de 20 milímetros. La colección de las muestras se debe realizar en la misma época del año para que los resultados sean comparables de un año con respecto al otro, debido a que los contenidos de nutrientes en las hojas de las palmeras varían durante las estaciones del año, principalmente por efectos de lluvias y luminosidad.

Para realizar el muestreo se necesitan herramientas como: cuchillo malayo para cortar las hojas, cinta métrica para medir la longitud del raquis y los folíolos; cuchillo o navaja para remover los folíolos, etiquetas para identificación de las muestras y bolsa plásticas grandes (25 x40 cm) perforadas para colocar las muestras.

- Procedimiento para el muestreo

Son los pasos que se deben seguir para realizar una actividad. Para realizar un análisis de follaje son:

- Utilizar las mismas UM que para el análisis de suelo.
- La hoja a muestrear es la número 17 en palmas adultas, la hoja número 9 en palmas jóvenes (2-3 años) en producción, y la hoja número 3 en palmas menores de un año y para análisis de Boro.

las hojas en palma se encuentran ubicadas en forma de espiral y es fácil de reconocer la sucesión 1, 9, 17, 25. La hoja número 1 es aquella que se encuentra más cerca de la hoja flecha y que tiene todos los folíolos inferiores completamente abiertos.

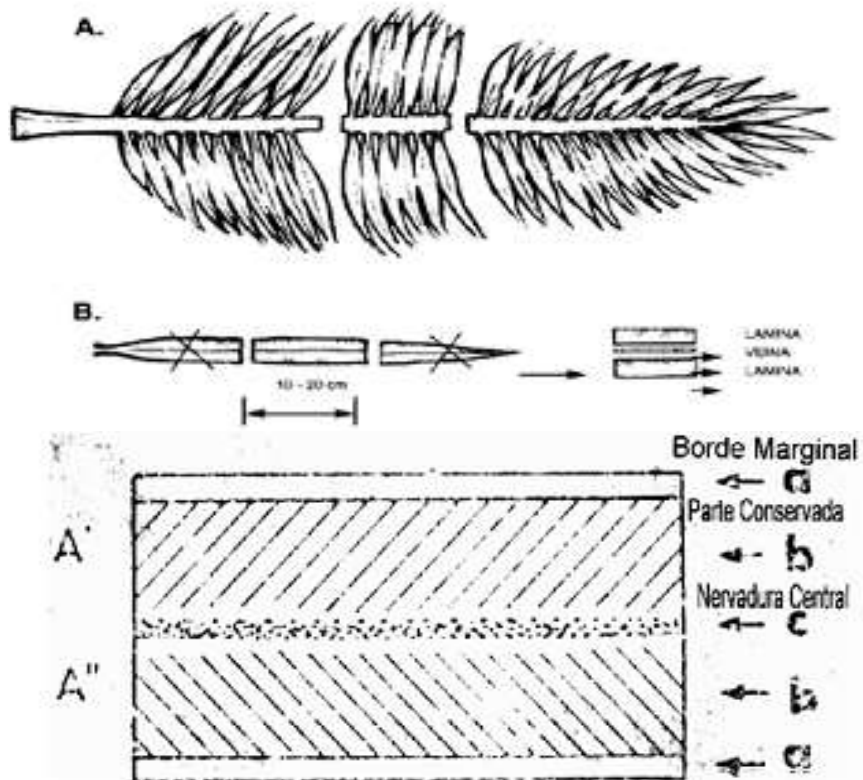
- Las palmas deben ser inspeccionadas en el campo desechando cualquiera localizada en los bordes de carreteras, drenajes o cauces naturales, localizadas junto a otras que han muerto y que disponen de mucho más luz solar; que muestran síntomas de deficiencias nutricionales, que estén atacadas por plagas o enfermas; replantadas, sin anomalías genéticas, pisíferas o hembras estériles.
- De la parte central de la hoja 17 (9 o 3) se cortan 2 pares de folíolos sanos, o sea, dos de cada lado. Es necesario que un folíolo de cada par sea de la fila superior y el otro de la fila inferior.
- Normalmente la hoja a muestrear es cortada de la palma, pero en plantas jóvenes los folíolos pueden ser cortados sin necesidad de cortar la hoja completamente.
- Los folíolos cortados de cada hoja o submuestra se van colocando en una bolsa plástica grande y perforada destinada para cada muestra. No se deben coleccionar folíolos con daños mecánicos, por insectos o enfermedades y tejido muerto en la muestra.

- Manejo de las muestras

Las muestras deben ser preparadas en la tarde del mismo día que fueron colectadas.

- Las submuestras se van colocando en un balde plástico limpio.
- Se deben limpiar los folíolos cuidadosamente con una esponja suave o algodón humedecido con agua destilada o agua de lluvia para retirar la capa de polvo.
- Una vez que se han limpiado los folíolos se eliminan los extremos de los folíolos con una navaja o tijera de acero inoxidable, dejando una porción central de 10 centímetros de longitud para palmas adultas y de 20 centímetros para palmas jóvenes.
- Finalmente se les elimina los bordes marginales (2mm) y la nervadura central, de modo que al final de esta operación cada segmento quede dividido en dos partes homólogas.
- Se coloca en una bolsa de plástico debidamente identificada para su envío al laboratorio.
- La muestra debe ser identificada con una etiqueta que indique fecha, número de lote o finca, edad de las palmas y número de la hoja muestreada en las palmas.

Figura 10. Cortes de hoja y foliolos para muestreo



Fuente: TechnoServe. *Manual Técnico de Palma Africana*. San Pedro Sula Cortes 2009, p. 51.

2.4.7. Interpretación del análisis foliar en palma africana

La palma africana es una planta tropical propia de climas cálidos cuyo origen se ubica en la región occidental y central del continente africano, concretamente en el golfo de Guinea.

La siguiente tabla muestra los niveles de nutrientes en el follaje de palmas y su catalogación, para poder conocer la nutrición de las plantas.

Tabla IV. **Concentración de elementos en el follaje de palma africana adulta (hoja 17)**

Elemento	Deficiente	Optimo	Excesivo
N (%)	<2,30	2,4-2,8	>3,0
P (%)	<0,15	0,15-0,19	>0,25
K (%)	<1,00	0,90-1,20	>1,6
Mg (%)	<0,20	0,25-0,40	>0,70
Ca (%)	<0,30	0,50-0,75	>1,00
S (%)	<0,20	0,25-0,35	>0,60
Cl (%)	<0,25	0,50-0,70	>1,00
B (mg/kg)	<8	15-25	>40
Cu (mg/kg)	<3	5 - 8	>15
Zn (mg/kg)	<10	12 - 18	>80

Fuente: TechnoServe. *Manual Técnico de Palma Africana*. San Pedro Sula Cortes 2009, p. 53.

2.5. **Política del OGA (Organismo Guatemalteco de Acreditación) sobre la selección y validación de los métodos de ensayo**

Es común que para la determinación de cierto analito en un tipo específico de muestra, haya varios métodos analíticos disponibles de orígenes muy variados. Existen muchas entidades nacionales e internacionales que publican métodos para los diferentes campos analíticos (físicos, químicos y biológicos) y sus aplicaciones. El laboratorio usuario de la metodología debe evaluar los diferentes métodos disponibles y seleccionar aquel que mejor se adecue a las necesidades y los recursos del caso.

El método seleccionado debe haber sido validado como parte de su desarrollo. Además, como parte de la implementación del método, el laboratorio usuario debe verificar su desempeño contra las especificaciones de la validación.

La verificación del método, unida a la cualificación del equipo involucrado, permite evaluar el desempeño del sistema completo y, por ende, su adecuación al propósito del análisis, demostrando así el laboratorio usuario dominio del método y su uso correctamente.

2.6. Política y norma ISO

La Norma ISO 17025.2005 define en su sección 5.4 de forma genérica el concepto validación, indicando algunos de los elementos básicos del mismo. El concepto de validación y su alcance se confunde con los términos verificación de métodos y calibración de métodos. El alcance del término validación se aplica a múltiples aspectos como:

- Validación de equipos
- Validación de procesos
- Validación de planes
- Validación de limpieza
- Validación de sistemas (aire, gas, agua, otros)
- Validación de ordenadores
- Validación de formación

2.6.1. Política de la Norma ISO 17025:2005

Según la Norma, en su sección 5.4.1, Métodos de ensayo y de calibración y validación de los métodos, el laboratorio debe aplicar métodos y procedimientos apropiados para todos los ensayos o las calibraciones dentro de su alcance. Estos incluyen el muestreo, la manipulación, el transporte, el almacenamiento y la preparación de los ítems a ensayar o a calibrar y, cuando corresponda, la estimación de la incertidumbre de la medición, así como,

técnicas estadísticas para el análisis de los datos de los ensayos o de las calibraciones.

El laboratorio debe tener instrucciones para el uso y el funcionamiento de todo el equipamiento pertinente, para la manipulación y la preparación de los ítems a ensayar o a calibrar, o ambos, cuando la ausencia de tales instrucciones pudieran comprometer los resultados de los ensayos o de las calibraciones. Todas las instrucciones, normas, manuales y datos de referencia correspondientes al trabajo del laboratorio se deben mantener actualizados y deben estar disponibles para el personal (véase 4.3). Las desviaciones respecto de los métodos de ensayo y de calibración deben ocurrir solamente si la desviación ha sido documentada, justificada técnicamente, autorizada y aceptada por el cliente.

2.6.2. Validación de los métodos

Según la Norma, en el numeral 5.4.5., describe:

La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto.

El laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los que diseña o desarrolla, los normalizados empleados fuera del alcance previsto; así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados, para confirmar que los métodos son aptos para el fin previsto.

La validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades del tipo de aplicación o del campo de aplicación dados. El

laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento utilizado para la validación y una declaración sobre la aptitud del método para el uso previsto.

La gama y la exactitud de los valores que se obtienen empleando métodos validados por ejemplo: la incertidumbre de los resultados, el límite de detección, la selectividad del método, la linealidad, el límite de repetitividad o de reproducibilidad, la robustez ante influencias externas o la sensibilidad cruzada frente a las interferencias provenientes de la matriz de la muestra o del objeto de ensayo; tal como fueron fijadas para el uso previsto, deben responder a las necesidades de los clientes.

2.6.3. Selección de los métodos

De acuerdo con la Norma en el numeral 5.4.2:

El laboratorio debe utilizar los métodos de ensayo o de calibración, incluidos los de muestreo, que satisfagan las necesidades del cliente y que sean apropiados para los ensayos o las calibraciones que realiza. Se deben utilizar preferentemente los métodos publicados como normas internacionales, regionales o nacionales. El laboratorio debe asegurarse de que utiliza la última versión vigente de la Norma, a menos que no sea apropiado o posible.

Cuando sea necesario, la Norma debe ser complementada con detalles adicionales para asegurar una aplicación coherente. Cuando el cliente no especifique el método a utilizar, el laboratorio debe seleccionar los métodos apropiados que hayan sido publicados en normas internacionales, regionales o nacionales, por organizaciones técnicas reconocidas, en libros revistas científicas especializados o especificados por el fabricante del equipo.

También se pueden utilizar los métodos desarrollados o adoptados por el laboratorio si son apropiados para el uso previsto y si han sido validados. El cliente debe ser informado del método elegido.

El laboratorio debe confirmar que puede aplicar correctamente los métodos normalizados antes de utilizarlos para los ensayos o las calibraciones. Si el método normalizado cambia, se debe repetir la confirmación. Si el método propuesto por el cliente se considera inapropiado o desactualizado, el laboratorio debe informárselo.

2.6.4. Métodos desarrollados por el laboratorio

La introducción de los métodos de ensayo y de calibración desarrollados por el laboratorio para su propio uso debe ser una actividad planificada y debe ser asignada a personal calificado, provisto de los recursos adecuados.

Los planes deben ser actualizados a medida que avanza el desarrollo y se debe asegurar una comunicación eficaz entre todo el personal involucrado.

2.6.5. Métodos no normalizados

Cuando sea necesario utilizar métodos no normalizados, éstos deben ser acordados con el cliente y deben incluir una especificación clara de los requisitos del cliente y del objetivo del ensayo o de la calibración. El método desarrollado debe haber sido validado adecuadamente antes del uso.

NOTA: para los métodos de ensayo o de calibración nuevos es conveniente elaborar procedimientos antes de la realización de los ensayos o

las calibraciones, los cuales deberían contener, como mínimo, la información siguiente

- Una identificación apropiada.
- El alcance.
- La descripción del tipo de ítem a ensayar o a calibrar.
- Los parámetros o las magnitudes y los rangos a ser determinados.
- Los aparatos y equipos, incluidos los requisitos técnicos de funcionamiento.
- Los patrones de referencia y los materiales de referencia requeridos.
- Las condiciones ambientales requeridas y cualquier período de estabilización que sea necesario.
- La descripción del procedimiento, incluida la siguiente información: la colocación de las marcas de identificación, manipulación, transporte, almacenamiento, preparación de los ítems y las verificaciones a realizar antes de comenzar el trabajo.
- La verificación del correcto funcionamiento de los equipos y, cuando corresponda, su calibración y ajuste antes de cada uso.
- El método de registro de las observaciones y de los resultados.
- Las medidas de seguridad a observar.
- Los criterios o requisitos para la aprobación o el rechazo.
- Los datos a ser registrados y el método de análisis y de presentación.
- La incertidumbre o el procedimiento para estimar la incertidumbre.

2.6.6. Tipos de validación de métodos

A este tipo de producción agrícola se le atribuye efectos como una tarea fácil, ante todo se debe tomar medidas sanitarias estrictas y métodos para el desarrollo y la validación de protocolos de manejo integrado.

Los dos tipos de validación de métodos existentes son: interna y externa, además de posibles situaciones intermedias o conjuntas.

2.6.7. Documentos operativos de validación

Son dos los documentos relativos a la validación, el primero es el PNT, o procedimiento de validación, que debe contener los criterios de validación. El registro de validación supone acomodar los resultados de validación, las interpretaciones y decisiones y finalmente la declaración de validación del método a un formato prefijado.

2.6.8. Validación para los análisis químicos

De acuerdo con EURACHEM/CITAC, en un caso ideal, la validación de un método para análisis químico cuantitativo debería incluir las siguientes actividades y parámetros de desempeño.

- La evaluación de la selectividad y la especificidad, para asegurar que el método responde a la especie particular de interés y no a especies similares a ella. (Esto también aplica al análisis químico cualitativo).
- La evaluación por medio de un material de referencia certificado, para demostrar que el método no da lugar a desviaciones significativas en

comparación con resultados trazables obtenidos de manera independiente.

- Evaluaciones de posibles efectos particulares, adicionales a los considerados en las especificaciones del método, para justificar que no es necesario incluir otros efectos.
- Estudios de precisión dentro de un intervalo de tiempo y un set de condiciones tan amplios como sea razonablemente posible, para demostrar que no existen otros efectos significativos no sospechados. (Esto también aplica al análisis químico cualitativo).
- Estudios adicionales sobre posibles fuentes específicas de desviación, incluyendo estudios de enriquecimiento y recuperación, posibles interferencias y reactividad cruzada, para demostrar que no existen efectos adicionales importantes.

Nota: el comportamiento del analito agregado puede no ser equivalente al del analito nativo; por lo tanto, el resultado del estudio de enriquecimiento y recuperación puede dar una indicación equivocada de lo que sería la recuperación del analito nativo.

- La evaluación de la linealidad, para demostrar que el resultado coincide con el valor calculado a partir de la relación entre respuesta y concentración dada por la curva de calibración.
- Frecuentemente se evalúan otros parámetros de desempeño, tales como los límites de detección y cuantificación, para demostrar que el método

es adecuado para el propósito. (El límite de detección también aplica al análisis químico cualitativo).

- Las comparaciones entre analistas y entre laboratorios, o con otros métodos, también pueden demostrar posibles deficiencias en el método. Además, éstas pueden aportar evidencia adicional de que los efectos considerados son suficientes para establecer las especificaciones del método.

Es importante considerar que todos los materiales de referencia a utilizar durante la validación, para la calibración, el control y las pruebas, deben ser trazables. Esto asegura que los estudios de validación sean directamente relevantes para los resultados obtenidos durante el uso rutinario del método.

A la vez, la validación juega un papel clave para poder establecer la trazabilidad de los resultados y, por ello, no es un proceso optativo. Aún cuando se está adoptando un método normalizado, que se sabe fue validado y ampliamente probado, es necesario que en el laboratorio se empiece por verificar que éste funciona acorde a sus especificaciones.

Es debido a que los métodos analíticos implican procesos complejos, y que por ello son susceptibles al error humano, que siempre es necesario verificar que el laboratorio puede ejecutarlos correctamente.

La mejor manera de hacer esta verificación es usando un material certificado de referencia. Otra evidencia del funcionamiento correcto del método es la que se puede obtener de los ensayos de aptitud y otros estudios realizados con ese objetivo.

Se debe reconocer que las evaluaciones a realizar para la validación de un método analítico no pueden ser exhaustivas y que existe la posibilidad de que las limitaciones prácticas sean considerables.

- Evaluación de los parámetros de desempeño del método

Las características a validar de un método han sido definidas por diferentes organizaciones nacionales e internacionales. La guía Eurachem también ha contribuido notablemente en la concreción de criterios de validación en el campo del análisis químico.

Las tablas-resumen permiten una aproximación conceptual de cada característica a validar y a los aspectos y conceptos relacionados con la misma. Los anexos asociados a las mismas, contienen algunos criterios de validación, consistentes con los métodos de ensayo químico. Por último, a través de los ejercicios resueltos, comentados, se puede ver la aplicación de los criterios de validación a distintos casos prácticos.

- Exactitud

Preparar muestras en un rango que contenga al menos cinco concentraciones diferentes del analito, las cuales aproximadamente estén espaciadas entre 50 por ciento (concentración más baja) y 150 por ciento (concentración más alta) del rango de trabajo esperado. Usar por lo menos seis réplicas por concentración. Analizar muestras de acuerdo al método en cuestión, usando la matriz del producto o la matriz de la muestra ambiental.

- Repetibilidad

Hay dos posibles procedimientos a seguir para determinar la precisión intra ensayo, o repetibilidad, trabajando con submuestras de una misma muestra homogénea, bajo las mismas condiciones de operación a lo largo de un intervalo corto de tiempo:

- Hacer un mínimo de 9 determinaciones que cubran el intervalo especificado para el análisis, esto es, 3 réplicas a cada una de 3 concentraciones diferentes.
- Hacer un mínimo de 6 determinaciones a una concentración que corresponda con la de la muestra problema .

- Precisión intermedia

Se evalúa de acuerdo a un diseño experimental específico que responda a las circunstancias bajo las cuales será utilizado el método y minimice el número de experimentos que se necesite efectuar; dicho diseño puede incluir las variaciones que globalmente se dan de día a día, y las variaciones en analista y en equipo.

No es necesario determinar precisión intermedia, cuando se ha determinado reproducibilidad.

- Especificidad

Es la habilidad que muestra un método para distinguir entre un analito e impurezas conocidas, precursores sintéticos, metabolitos, o productos de degradación. Esta se muestra en su resolución hacia estos componentes.

- Límite de detección

Determinar la menor concentración a la que se detecte el analito en la matriz de la muestra.

- Límite de cuantificación

Determinar la menor concentración en la que un analito en la matriz/muestra puede ser determinada con la exactitud y precisión requeridas para el método en particular. Este valor puede ser la menor concentración en la curva del patrón.

- Linealidad

Preparar soluciones patrón de por lo menos cinco diferentes concentraciones del analito, que estén distribuidas regularmente y que cubran del 50 por ciento (concentración más baja) al 150 por ciento (concentración más alta) del intervalo de trabajo esperado. Los rangos del 75 al 125 por ciento no son atípicos de la industria farmacéutica. Usar por lo menos seis réplicas por concentración.

Las soluciones patrón deberían prepararse en la misma matriz utilizada con las muestras, si es posible. Analizar las soluciones patrón conforme el método en cuestión.

- Reproducibilidad

Se determina en los casos en que se quiere normalizar un método, para transferirlo de un laboratorio a otro o para incluirlo en una farmacopea, y por ello se necesita conocer la precisión entre laboratorios.

En el caso más común, que es el de la transferencia directa del método, del laboratorio de origen al laboratorio destino, ambos laboratorios deben analizar el mismo lote de muestras homogéneas trabajando bajo el mismo diseño experimental.

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables

Es una característica, cualidad o propiedad de un hecho o fenómeno que tiende a variar, puede adquirir diferentes valores y que es susceptible de ser medida o evaluada.

Tabla V. Definición operacional de las variables

VARIABLE	PARÁMETRO	TEMÁTICA
Documentación	Diagnóstico	Recopilación de los datos para la tesis.
Parámetros de Desempeño	Cuantitativos	Características para la validación de un método.
Materiales y equipos	Tecnológico	Materiales y equipos utilizados para la cuantificación de nutrientes en foliares.
Protocolo de validación	Cualitativo	Guía para el inicio de la Validación.
Determinación de Ca, Mg, K, P, S y B	Cuantitativo	Determinaciones de Nutrientes en foliar.
Cálculo estadístico	Cuantitativo	Métodos para el análisis de los resultados
Presupuesto	Económico	Costos del proyecto.
Investigador	Humano	Persona que realizará el proyecto.

Fuente: elaboración propia.

3.2. Delimitación del campo de estudio

El trabajo de campo se realizó directamente en el laboratorio y se inició con una inspección acerca de la calificación de equipo y materiales con los cuales se trabaja en NATURALAB. Se verificó Informes escritos sobre el estado de calificación y/o calibración a los equipos que se utilizan en este ensayo para constatar el estado de mantenimiento de los mismos.

- Tipo de estudio

Para la realización del presente trabajo, se hizo una investigación de tipo descriptiva y deductiva, tomando como base la guía de validación de la Oficina Guatemalteco de Acreditación (OGA), la Norma ISO 17025:2005 y métodos analíticos adecuados a su propósito, Guía de Laboratorio para la Validación de métodos y temas relacionados, Eurachem.

3.3. Recursos humanos disponibles

Consiste en la planeación, organización, desarrollo y coordinación, así como también. control de técnicas capaces de promover el desempeño eficiente del personal, a la vez que la organización representa el medio que permite a las personas que colaboran en ella alcanzar los objetivos individuales relacionados directa o indirectamente con la investigación.

- Investigador: Darwin José Morales Guerra
- Asesor: Ing. Estuardo Monroy
- Personal del Laboratorio (analistas y auxiliares NATURALAB)

3.4. Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos)

Estos recursos representan todo el material y equipo que permite a las personas que colaboran en la investigación a alcanzar los objetivos individuales relacionados directa o indirectamente.

- Edificio: Laboratorio Análisis de Suelos y Foliare, NATURALAB, Departamento Técnico Agrícola, NATURACEITES S. A.
- Equipo: espectrofotómetro de plasma inducido por acoplamiento y auto muestreador, Horno microondas Multiwave 3000, Computador fijo o portátil.
- Cristalería: balones volumétricos de 50,mililitro pipetas volumétricas automáticas, pisetas, goteros, otros.
- Documentación del laboratorio (políticas, procedimientos, documentos de trabajo).
- Material de estudio: libro, tesis, manuales de calidad u otro documento que el investigador considere necesario.
- Material de referencia certificado, *oil*, palm leaves IPE sample 193 (ver certificado en anexo 2 para ver detalles).
- Reactivos: estándares de calibración para ICP-OES, ácido nítrico al 65 por ciento agua desmineralizada.

3.5. Técnica cuantitativa

Se trabajó con una muestra de hojas de palma certificada, para esta muestra se realizaron determinaciones independientes de sus nutrientes: Ca, Mg, K, P, S y B. También se utilizaron estándares de calibración de ICP certificados para el estudio de linealidad del sistema. La técnica que se validó es referenciada del método de la EPA (*Environmental Protection Agency*, ver anexo 3).

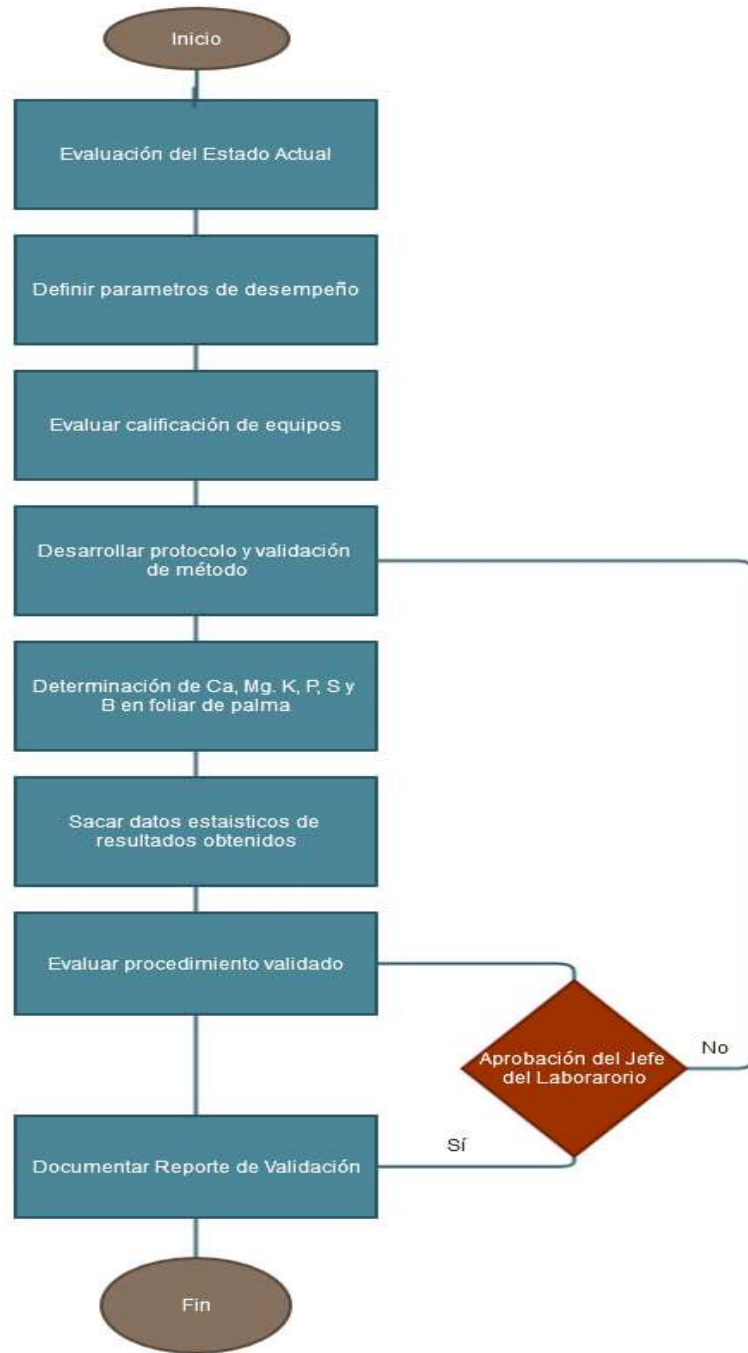
3.6. Recolección y ordenamiento de la información

La recolección de la información debe realizarse utilizando un proceso de comparación, diferenciación y ordenamiento de posiciones los cuales pueden ser la observación, la entrevistas, la recolección de datos, entre otros.

- Diagrama de flujo

El esquema seguido en el desarrollo del presente trabajo se basó en el siguiente diagrama de flujo, en el que se indican los pasos que se siguieron para la conclusión de la investigación:

Figura 11. Diagrama de flujo



Fuente: elaboración propia.

- Desarrollo experimental y presentación del trabajo

El desarrollo de la validación se llevó a cabo primeramente evaluando y recopilando toda la información referente a la técnica utilizada para la determinación de nutrientes en tejido vegetal en su estado actual, es decir, se revisarán procedimientos y secuencias de la preparación y análisis de muestras.

Una vez revisados los procedimientos de preparación y análisis final de muestras, se definieron los parámetros de desempeño analítico a evaluar, y se elaboró el protocolo de validación, considerando para ello la guía de validación de EURACHEM.

Luego se realizó la parte experimental de la validación, evaluando cada uno de los parámetros de desempeño definidos previamente en el protocolo de validación.

Realizados los experimentos de validación se hizo al análisis estadístico de los resultados, para ello se utilizaron diferentes herramientas dependiendo de los parámetros a evaluar con los resultados. Se calcularon los siguientes datos:

- Media y desviación estándar de la media de los resultados.
- Porcentaje de recuperación de muestra certificada.
- Porcentaje de variación del ruido del equipo en ausencia de muestras.

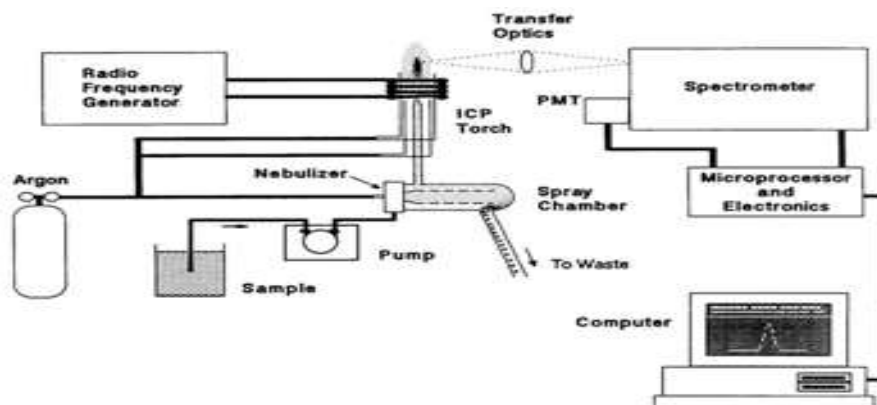
Finalmente se presentó por escrito el procedimiento de la técnica validada, así como, la documentación de los resultados de los parámetros de desempeño analítico. La declaración de validación fue presentada al jefe de laboratorio, quien aprobó en informe y se dio por terminado el proceso de validación.

- Esquema de trabajo de funcionamiento de ICP-OES

El esquema de funcionamiento del ICP-OES, es el siguiente:

- *Sample:* muestra
- *Nebulizer:* nebulizador
- *Spray Chamber:* cámara ciclónica
- *To Waste:* desechos
- *Espectrometer:* espectrofotómetro
- *Torch ICP:* Antorcha ICP
- *Radio Frequency Generator:* generador de radio frecuencia
- *Pump:* bomba peristáltica

Figura 12. Esquema ICP-OES



Fuente: elaboración propia.

3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Esta etapa consiste en el ordenamiento de la información que se ha recogido, revisión de los instrumentos ya aplicados, clasificación según lugares, periodos, entre otros.

- Evaluación de los parámetros de desempeño

Se evaluaron con el ensayo los siguientes parámetros:

- Límite de detección

Cuando se realizan mediciones a niveles bajos del analito o de la propiedad relacionada, como en el análisis de trazas, es importante saber cuál es la concentración más baja del analito o el valor de su propiedad relacionada, que puede detectarse confiablemente por el método.

La importancia de determinar esto y los problemas implícitos, surgen del hecho que la probabilidad de detección no cambia repentinamente de cero a la unidad cuando se cruza un umbral. Los problemas han sido investigados estadísticamente con detalle y se ha propuesto una gama de criterios de decisión. Surgen confusiones adicionales debido a que no existe actualmente un acuerdo universal sobre la terminología aplicada.

Figura 13. Límite de Detección (LoD) I

Límite de Detección (LoD)- Referencia Rápida	
Qué analizar	Qué calcular a partir de los datos
a) 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno	Desviación estándar de la muestra "s" de a) valores de los blancos de muestra o b) valores de los blancos de muestra fortificados.
o	
b) 10 blancos de muestra independientes fortificados a la menor concentración aceptable, medidos una vez cada uno	Expresar LoD como la concentración del analito correspondiente a: a) el valor promedio de los blancos de muestra + 3s o b) 0 + 3s
Esta propuesta supone que una señal de más de 3s arriba del valor del blanco de muestra podría surgir del blanco en mucho menos que 1% de las veces y por lo tanto es probable que dicha señal sea el resultado de otro efecto, tal como el mensurando. La propuesta a) es útil sólo cuando el blanco de muestra da una desviación estándar diferente de cero. Obtener un blanco "verdadero" puede ser difícil.	

Fuente: *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito Guía EURACHEM*. p. 18.

o Límite de Cuantificación

El límite de Cuantificación (LoQ) estrictamente es la concentración más baja del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de precisión de repetibilidad y veracidad.

También se define por diversas convenciones como la concentración del analito correspondiente al valor del blanco de muestra más 5, 6 o 10 desviaciones estándar de la media del blanco. Algunas veces también se conoce como límite de determinación. LoQ es un valor indicativo y no deberá usarse en la toma de decisiones.

Figura 14. Límite de Detección (LoD) II

Límite de Cuantificación (LoQ) - Referencia Rápida	
Qué se analiza	Qué calcular a partir de los datos
a) 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno	Desviación estándar de la muestra "s" de los blancos de muestra expresar LoD como la concentración del analito correspondiente a los valores del blanco de muestra más: i)5s, ii)6s, iii)10s
Obtener un blanco de muestra verdadero puede ser difícil.	
b) Fortificar alícuotas de un blanco de muestra a varias concentraciones del analito cercanas al LoD. Medir, una vez cada una, 10 réplicas independientes a cada nivel de concentración.	Calcular la desviación estándar "s" de los valores del analito a cada concentración. Graficar s contra concentración y asignar un valor al LoQ por inspección. Expresar LoQ como la concentración mínima del analito que puede ser determinada con un nivel aceptable de incertidumbre.
Normalmente LoQ forma parte del estudio para determinar el intervalo de trabajo. Éste no deberá determinarse por extrapolación debajo de la concentración más baja del blanco fortificado.	
Si las mediciones se realizan bajo condiciones de repetibilidad, también se obtiene una medida de la precisión de repetibilidad a esta concentración.	

Fuente: *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito Guía EURACHEM*, p. 20.

Para cualquier método cuantitativo es necesario determinar el intervalo de concentraciones del analito o los valores de la propiedad relacionada, sobre los cuales el método puede aplicarse.

Note que esto se refiere al intervalo de concentraciones o a los valores de la propiedad relacionada, de las disoluciones medidas realmente más que de las muestras originales. En el extremo inferior del intervalo de concentración, los factores limitantes son los valores del límite de detección y/o cuantificación.

En el extremo superior del intervalo de concentración, las limitaciones serán impuestas por varios efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

Dentro del intervalo de trabajo puede existir un intervalo de respuesta lineal. Dentro del intervalo lineal la señal de respuesta tendrá una relación lineal con la concentración del analito o del valor de la propiedad relacionada. La extensión de este intervalo puede establecerse durante la evaluación del intervalo de trabajo. Note que los cálculos de regresión por ellos mismos, son insuficientes para establecer la linealidad. Para hacer esto, puede ser suficiente una inspección visual de la línea y de los residuales.

Figura 15. **Intervalo de trabajo lineal**

Intervalo de trabajo e intervalo lineal. Referencia Rápida			
Análisis	Repeticiones	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
1. Blanco más materiales de referencia o blancos de muestra fortificados a varias concentraciones Se necesitan al menos 6 concentraciones, más el blanco.	1	Grafique la respuesta de medición (eje y) contra la concentración del mensurando (eje x)	Idealmente las diferentes concentraciones deberán prepararse independientemente, y no de alícuotas de la misma solución madre.
		Visualmente examinar para identificar el intervalo lineal aproximado y los límites superior e inferior del intervalo de trabajo. Entonces vaya a 2	Esto dará una confirmación visual si el intervalo de trabajo es lineal o no.
2. Materiales de referencia o blancos de muestra fortificados al menos de 6 diferentes concentraciones dentro del intervalo lineal.	3	Grafique la respuesta de medición (eje y) contra la concentración del mensurando (eje x) Visualmente examine para identificar valores aberrantes ("outliers") los cuales pueden no estar reflejados en la regresión. Calcule el coeficiente apropiado de regresión. Calcule y grafique los valores residuales (diferencia entre el valor verdadero de "y" y el valor predicho por la línea recta, para cada valor de "x"). La distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirma la linealidad. Tendencias sistemáticas indican no-linealidad	Esta etapa es necesaria para probar un intervalo de trabajo que se piensa es lineal y si se pretende usar un sólo punto de calibración. Es inseguro retirar los puntos aberrantes sin verificar primero mediante el uso de determinaciones adicionales a concentraciones cercanas. Si la varianza de las réplicas es proporcional a la concentración, entonces utilice un cálculo de regresión ponderada en lugar de una regresión no ponderada.

Fuente: *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito Guía EURACHEM*. p. 21.

- Recuperación

Los métodos analíticos no siempre miden todo el analito de interés presente en la muestra. Los analitos pueden estar presentes en una variedad de formas en las muestras de las cuales no todas son de interés para el analista.

El método debe entonces diseñarse deliberadamente para determinar solamente una forma específica del analito. No obstante, la incapacidad de un método para determinar todo el analito presente puede reflejar un problema inherente. De cualquier forma, es necesario evaluar la eficiencia del método para detectar todo el analito presente.

Debido a que usualmente no se conoce la cantidad de un analito en particular que está presente en una porción de prueba, es difícil estar seguros de que tan exitoso ha sido el método para extraer el analito de la matriz.

Alternativamente es posible realizar estudios de recuperación sobre materiales de referencia adecuados, si estos se encuentran disponibles. Siempre que los materiales de referencia hayan sido producidos a partir de materiales naturales, en lugar de materiales sintéticos en los que el analito ha sido agregado, el estudio de recuperación deberá representar exactamente la extracción en porciones de pruebas reales.

Figura 16. Recuperación

Recuperaciones – Referencia Rápida			
Analizar	Repeti ciones	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
Blancos de matriz o muestras no fortificadas y fortificadas con el analito de interés en una gama de concentraciones	6	Determinar la recuperación del analito a varias concentraciones. Recuperación (%) = $100 (C_1 - C_2) / C_3$ Donde C_1 = concentración determinada en la muestra fortificada C_2 = concentración determinada en la muestra no fortificada C_3 = concentración de fortificación.	Las muestras fortificadas deberán ser comparadas con la misma muestra no fortificada para evaluar la recuperación neta de la fortificación. Las recuperaciones de muestras o blancos de matriz, fortificadas usualmente serán más altas que las de muestras reales en las cuales el analito está más fuertemente enlazado
Materiales de referencia certificados (MRC)		Determine la recuperación del analito relativa al valor certificado	Dependiendo de cómo fue producido y caracterizado el material de referencia certificado, es posible obtener recuperaciones superiores al 100 %.

Fuente: *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito Guía EURACHEM*. p. 30.

○ Precisión

Normalmente, la precisión se determina para circunstancias específicas las cuales en la práctica pueden ser muy variadas. Las medidas de precisión más comunes son la repetibilidad y la reproducibilidad. Estas representan las dos medidas extremas de precisión que pueden obtenerse.

La repetibilidad (la precisión más pequeña esperada) dará una idea de la clase de variabilidad esperada cuando un método se ejecuta por un solo analista, con un equipo en un corto período de tiempo, es decir, es la clase de

variabilidad que se espera entre resultados cuando una muestra se analiza por duplicado.

Si la muestra se analiza por varios laboratorios para fines comparativos, entonces una medida de precisión más significativa a usarse es la reproducibilidad (esta es la medida de precisión más grande normalmente encontrada, a pesar de que formalmente se excluye la variación con respecto del tiempo). La precisión se determina por lo general en términos de la desviación estándar o la desviación estándar relativa.

Figura 17. **Repetibilidad**

Precisión de Repetibilidad y Precisión de Reproducibilidad- Referencia Rápida			
Analizar	Repeticio- nes (inde- pendiente)	Qué calcular a partir de los datos	Comentarios
Patrones, materiales de referencia o blanco de muestra fortificados a varias concentraciones en el intervalo de trabajo.			
a) Mismo analista, equipo y laboratorio, en un período de tiempo corto	10	Determinar la desviación estándar (s) a cada concentración	Determina la desviación estándar de repetibilidad a cada concentración.
b) Diferente analista y equipo, mismo laboratorio, período de tiempo prolongado	10	Determinar la desviación estándar (s) a cada concentración	Determina la desviación estándar de reproducibilidad dentro del laboratorio a cada concentración
c) Diferentes analistas, equipos y laboratorios, en período de tiempo prolongado	10	Determinar la desviación estándar (s) a cada concentración	Determina la desviación estándar de reproducibilidad entre laboratorios a cada concentración
			Requiere de un estudio de colaboración

Fuente: *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito Guía EURACHEM*. p. 26.

- Recolección de datos

Para el estudio de exactitud y precisión se realizaron corridas independientes de 10 muestras del material certificado IPE 193.

Tabla VI. **Concentraciones determinadas de nutrientes**

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						
IPE 193						

Fuente: elaboración propia.

Para la determinación del límite de detección y cuantificación se realizaron 10 corridas de muestras de blancos independientes:

Tabla VII. **Lecturas de blancos de muestra**

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
Bk						
Bk						
Bk						
Bk						
Bk						
Bk						
Bk						
Bk						
Bk						
Bk						

Fuente: elaboración propia.

Para el estudio de linealidad se prepararon 6 diferentes concentraciones de estándares de calibración.

Calibración para cada elemento:

Tabla VIII. **Estándares de calibración**

ST	Concentración
Bk	
1	
2	
3	
4	
5	
6	

Fuente: elaboración propia.

3.8. **Análisis estadístico**

Es el que emplea técnicas estadísticas para interpretar datos, ya sea para ayudar en la toma de decisiones o para explicar los condicionantes que determinan la ocurrencia de algún fenómeno.

- Dato promedio estadístico

$$\bar{a} = \frac{\sum_i^n a_i}{n} = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n} \quad \text{(Ecuación 6)}$$

Donde: \bar{a} : valor promedio.
 a_i : valor i
 n : número de datos.

- Desviación estándar

$$S_a = \sqrt{\frac{\sum_i^n |\bar{a} - a_i|}{n-1}} \quad \text{(Ecuación 7)}$$

Donde: \bar{a} : valor promedio.
 a_i : valor i
 n : número de datos.
 S_a : desviación estándar de la variable a .

- Linealidad y coeficiente de correlación (r)

Para la recta con ecuación:

$$y = b_1x + b_0 \quad \text{(Ecuación 8)}$$

Método de mínimos cuadrados

$$b_1 = \frac{n \sum xy - \sum x \sum y}{n \sum x^2 - (\sum x)^2} \quad \text{(Ecuación 9)}$$

$$b_0 = \frac{\sum y - b_1 \sum x}{n} \quad \text{(Ecuación 10)}$$

$$b_0 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)} \quad (\text{Ecuación 11})$$

- Porcentaje de recuperación

$$\text{Porcentaje de recobro} = \frac{\text{Cantidad recuperada}}{\text{Cantidad adicionada}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 12})$$

- Coeficiente de variación ó desviación estándar relativa.

$$CV = \frac{s}{\bar{Y}} \times 100 \quad (\text{Ecuación 13})$$

- Coeficiente de determinación

$$r^2 = \frac{(n(\sum xy) - (\sum x)(\sum y))^2}{(n(\sum x^2) - (\sum x)^2)(n(\sum y^2) - (\sum y)^2)} \quad (\text{Ecuación 14})$$

- Comprobación de hipótesis estadística

$$H_0: \mu \neq \mu_0$$

$$H_1: \mu = \mu_0$$

$$t = \frac{\bar{X} - \mu}{s/\sqrt{n}} \quad (\text{Ecuación 15})$$

- Intervalo de confianza para la pendiente b_1 del estudio de linealidad

$$IC(B_1) = b_1 \pm t_{0,975,n-2} S_{b1} \quad (\text{Ecuación 16})$$

$$S_{b1} = S_{y/x} \sqrt{\frac{1}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}} \quad (\text{Ecuación 17})$$

$$S = S_{y/x} \sqrt{\frac{\sum x^2 - b_1 \sum xy - b_0 \sum y}{n-2}} \quad (\text{Ecuación 18})$$

- Incertidumbre de la medición (u)

Definición del mesurando

Elementos: K, P, Mg, Ca, y S

$$\text{ppm} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \left(\frac{\% \text{ peso}}{100} \right) * \left(\frac{\text{peso mg}}{\text{volumen mL}} \right) * \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) \quad (\text{Ecuación 19})$$

Elementos: B

$$\text{ppm} \left(\frac{\text{mg}}{\text{L}} \right) = \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) * \left(\frac{1 \text{ g}}{1 \text{ Exp } 6 \mu\text{g}} \right) * \left(\frac{\text{peso mg}}{\text{volumen mL}} \right) * \left(\frac{1000 \text{ mL}}{1 \text{ L}} \right) \quad (\text{Ecuación 20})$$

U_{balanza}

$$U \text{ rel balanzaEQ} = \frac{\sqrt{\mu\text{peso tara}^2 + \mu\text{peso muestra}^2}}{\text{peso muestra}} \quad (\text{Ecuación 21})$$

$U_{\text{balón}}$

$$U \text{ rel balon de } 50 \text{ mL} = \left(\frac{0.12}{\sqrt{3}} \right) / 50 \quad (\text{Ecuación 22})$$

$U_{\text{estándar}}$

$$U \text{ rel estándar} = 2,5 \text{ E-}6 \text{ g/mL} * \text{Vol. mL} \quad (\text{Ecuación 23})$$

U_{curva}

$$U_{\text{curva}} = \sqrt{DSR_{\text{Blanco}}^2 + DSR_{ST1}^2 + DSR_{ST2}^2 + DSR_{ST3}^2 + DSR_{ST4}^2} \quad (\text{Ecuación 24})$$

$U_{\text{combinada}}$

$$U_{\text{comb}} = \sqrt{u_{\text{balanza}}^2 + u_{\text{balon}}^2 + u_{\text{estándar}}^2 + u_{\text{analista}}^2 + u_{\text{curva}}^2}$$

(Ecuación 25)

$U_{\text{expandida}}$

Para un nivel de confianza del 95% $k = 2$

$$(\%) U_{\text{Expandida}} = U_{\text{combinada}} * 2 \quad (\text{Ecuación 26})$$

4. RESULTADOS

4.2. Parámetros de desempeño analítico

Acción documentada que demuestra que un procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema conduce realmente a los resultados previstos de la investigación.

4.2.1. Exactitud (porcentaje de recuperación)

Se reporta el valor promedio resultante de 6 mediciones realizadas ($n = 6$), y se indican sus incertidumbres, (ver apéndices, datos calculados):

Tabla IX. Porcentaje de recuperación IPE Sample 193

Unidades	Elemento	Media IPE Sample 193	Valor Certificado	Recuperación (%)
g/kg	P	$1,73 \pm 0,04275$	1,66	104,42
	K	$11,27 \pm 0,03230$	10,70	105,30
	Ca	$7,08 \pm 0,05300$	6,72	105,41
	Mg	$3,13 \pm 0,03950$	2,96	105,86
	S	$1,83 \pm 0,04900$	1,79	102,42
mg/kg	B	$18,56 \pm 0,06300$	18,00	103,09

Fuente: elaboración propia.

4.2.2. Precisión

Se realizó el ensayo en 10 muestras independientes (ver apéndices, datos calculados) preparadas por un mismo analista en un período de tiempo corto, se reportan la media y el coeficiente de variación obtenidos:

Tabla X. **Coeficiente de variación IPE Sample 193**

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
Media IPE Sample 193	1,79	11,65	7,22	3,11	1,99	18,97
%CV Aceptado	10,00	10,00	10,0	10,0	10,00	15,00
%CV Reportado	2,86	1,63	2,65	1,97	2,44	3,15

Fuente: elaboración propia.

4.2.3. Límite de Detección (LoD) y Límite de Cuantificación (LoQ)

Se realizó el ensayo para 10 muestras de blancos reactivos independientes (ver apéndices, datos originales), se calculó la desviación estándar de las mediciones obtenidas, (s), se reporta el valor calculado para LoD(3s) y LoQ(10s):

Tabla XI. **Límite de detección y de cuantificación**

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
LoD (3s)	0,0086	0,0208	0,0430	0,0054	0,0046	0,5486
LoQ (10s)	0,0285	0,0695	0,1432	0,0180	0,0153	1,8288

Fuente: elaboración propia.

4.2.4. Linealidad del intervalo de trabajo

Se utilizó el método de mínimos cuadrados para estimar la mejor recta que ajustaba los datos, se realizaron 3 réplicas de cada estándar de calibración preparado.

Se prepararon los siguientes estándares de calibración basados en los siguientes criterios: el primer estándar de calibración se preparó a una concentración por encima de LoQ (ver tabla XI y XXVIII).

El último estándar de calibración se preparó a una concentración por encima del nivel excesivo del elemento nutriente en palma africana (ver tabla IV). Los estándares intermedios se prepararon en proporciones equidistantes a las concentraciones del primer y el último estándar.

Tabla XII. Estándares para estudio de linealidad

ESTANDAR	mg/L					
	ST1	ST2	ST3	ST4	ST5	ST6
P	1,00	3,00	9,00	18,00	36,00	40,00
K	4,00	15,00	45,00	90,00	180,00	200,00
Ca	2,00	10,00	30,00	60,00	120,00	150,00
Mg	1,00	5,00	15,00	30,00	60,00	80,00
S	1,00	3,00	9,00	18,00	36,00	40,00
B	0,03	0,05	0,15	0,30	0,60	0,80

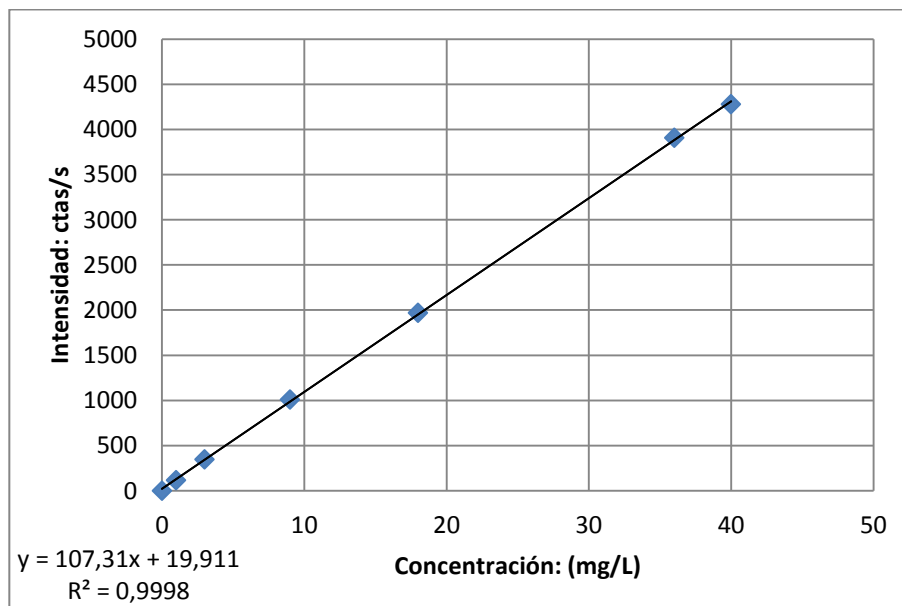
Fuente: elaboración propia.

- Curva de calibración y líneas espectrales

Se presentan las gráficas de Intensidad (cuentas/s) vs Concentración (mg/L) ajustadas por mínimos cuadrados. Se evaluaron 3 réplicas para cada estándar de calibración, pero se grafica la media de estos datos, debido a la repetibilidad de los resultados, (ver apéndices, tabla XXIV). La intensidad graficada es la intensidad corregida, es decir la intensidad neta percibida por el equipo, menos la intensidad del blanco reactivo de calibración.

Se reporta también un test con las incertezas asociadas al cálculo de las estimaciones de las curvas, y se evalúan con un intervalo de confianza (IC) del 95% y 5 grados de libertad para la pendiente de la recta.

Figura 18. **Intensidad versus concentración fósforo**



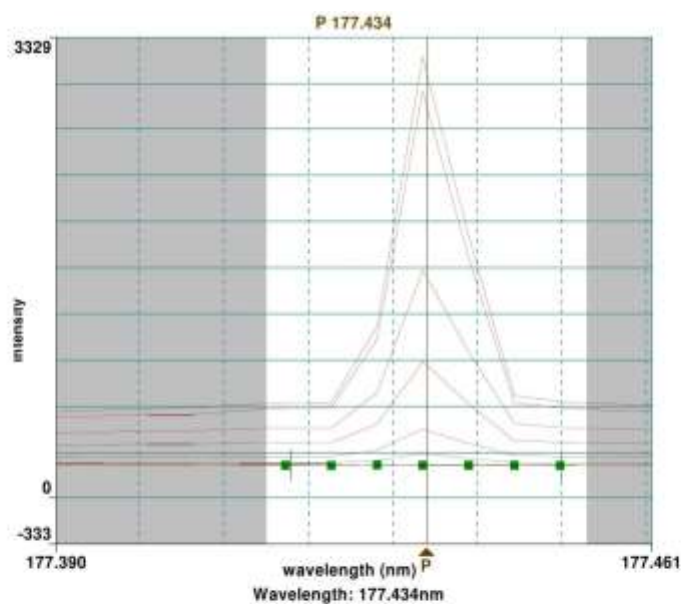
Fuente: elaboración propia.

Tabla XIII. **Test para la pendiente de la recta de P**

Parámetro	Resultado
Incerteza de la pendiente (S_{b1})	0,4778
Incerteza combinada ($S_{y/x}$)	19,5592
t student	2,5710
IC (95%)	107,31 \pm 1,2285

Fuente: elaboración propia.

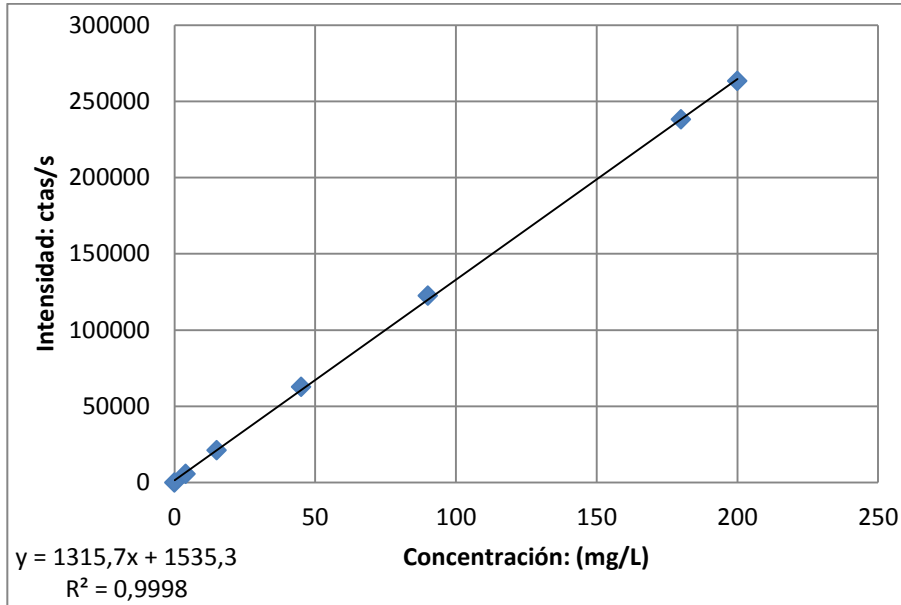
Figura 19. **Líneas espectrales fósforo**



T = 21°C, Humedad Relativa (%) = 45

Fuente: base de datos ICP-OES NATURALAB.

Figura 20. **Intensidad versus concentración potasio**



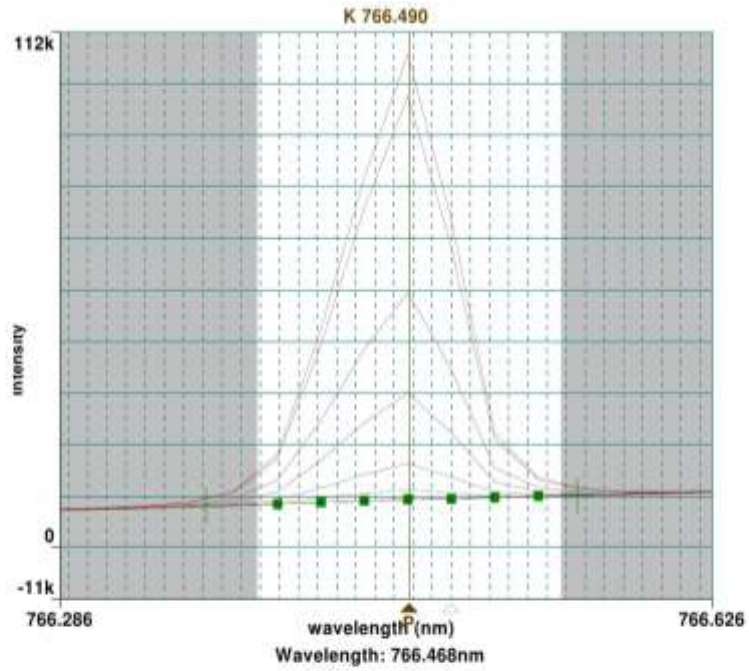
Fuente: elaboración propia.

Tabla XIV. **Test para la pendiente de la recta de K**

Parámetro	Resultado
Incerteza de la pendiente (S_{b1})	7,0750
Incerteza combinada ($S_{y/x}$)	1 450,4594
t student	2,5710
IC (95%)	1 315,7 \pm 18,1899

Fuente: elaboración propia.

Figura 21. Líneas espectrales potasio

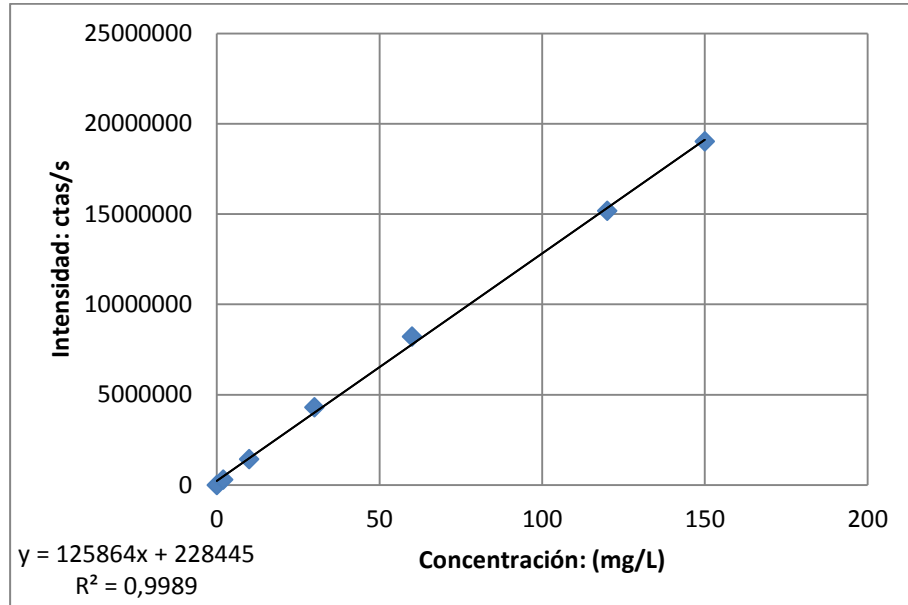


Sample ID	Intensity	Style	Scale	Offset
->Calib Blank 1	10486.4	—	1.0	0.0
Calib Std 1	12556.9	—	1.0	0.0
Calib Std 2	18165.0	—	1.0	0.0
Calib Std 3	33299.5	—	1.0	0.0
Calib Std 4	55013.5	—	1.0	0.0
Calib Std 5	97199.6	—	1.0	0.0
Calib Std 6	106184.7	—	1.0	0.0

T = 21°C, Humedad Relativa (%) = 45

Fuente: base de datos ICP-OES NATURALAB

Figura 22. **Intensidad versus concentración calcio**



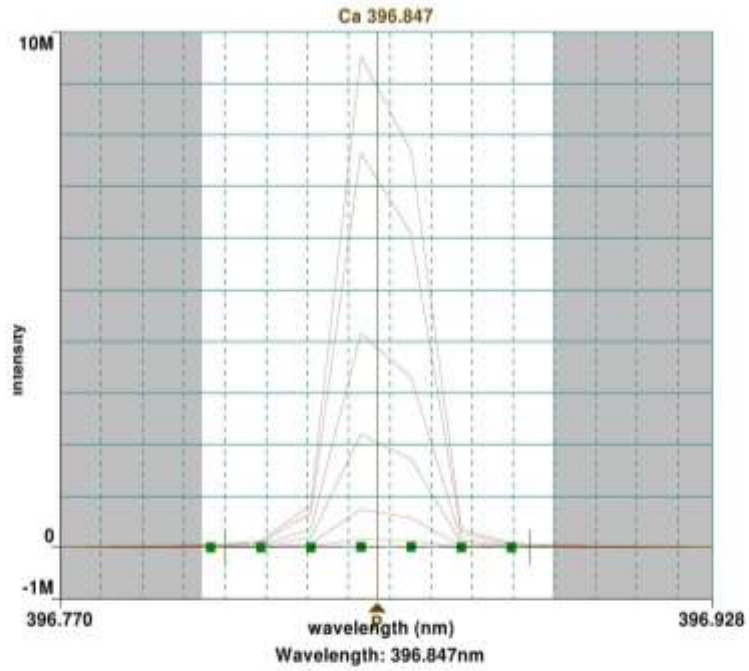
Fuente: elaboración propia.

Tabla XV. **Test para la pendiente de la recta de Ca**

Parámetro	Resultado
Incerteza de la pendiente (S_{b1})	1 897,5028
Incerteza combinada ($S_{y/x}$)	279 744,0328
t student	2,5710
IC (95%)	125 864 \pm 4 878,4798

Fuente: elaboración propia.

Figura 23. Líneas espectrales calcio

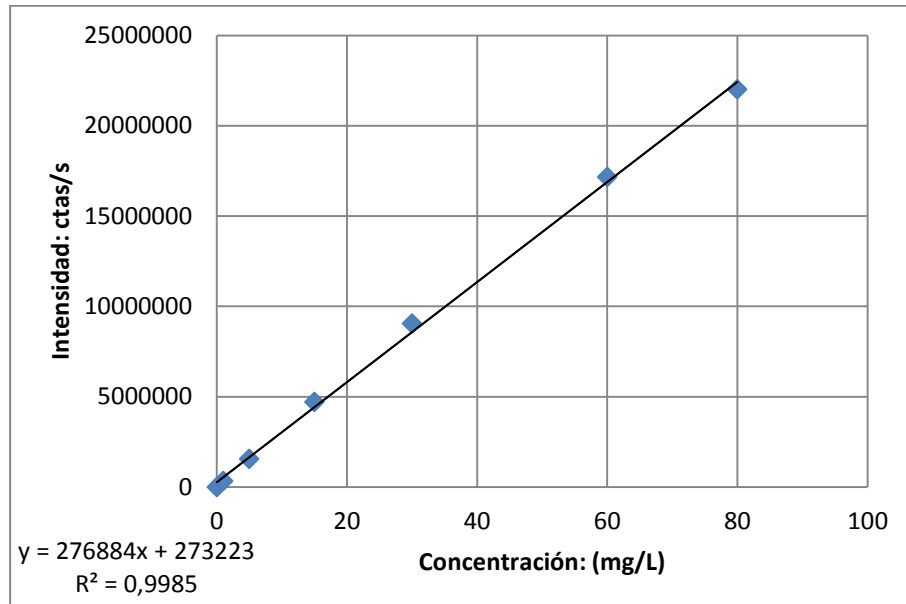


Sample ID	Intensity	Style	Scale	Offset
->Calib Blank 1	11803.2		1.0	0.0
Calib Std 1	162144.5		1.0	0.0
Calib Std 2	718976.4		1.0	0.0
Calib Std 3	2141551.7		1.0	0.0
Calib Std 4	4061733.6		1.0	0.0
Calib Std 5	7495825.5		1.0	0.0
Calib Std 6	9373142.6		1.0	0.0

T = 21°C, Humedad Relativa (%) = 45

Fuente: base de datos ICP-OES NATURALAB.

Figura 24. **Intensidad versus concentración magnesio**



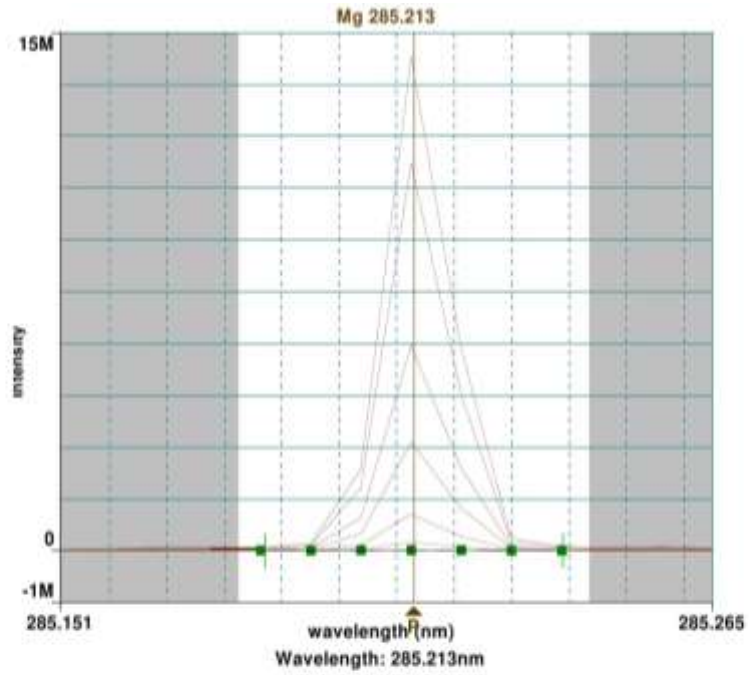
Fuente: elaboración propia.

Tabla XVI. **Test para la pendiente de la recta de Mg**

Parámetro	Resultado
Incerteza de la pendiente (S_{b1})	4 734,7876
Incerteza combinada ($S_{y/x}$)	364 899,1367
t student	2,5710
IC (95%)	276 884 \pm 12 173,1390

Fuente: elaboración propia.

Figura 25. Líneas espectrales magnesio

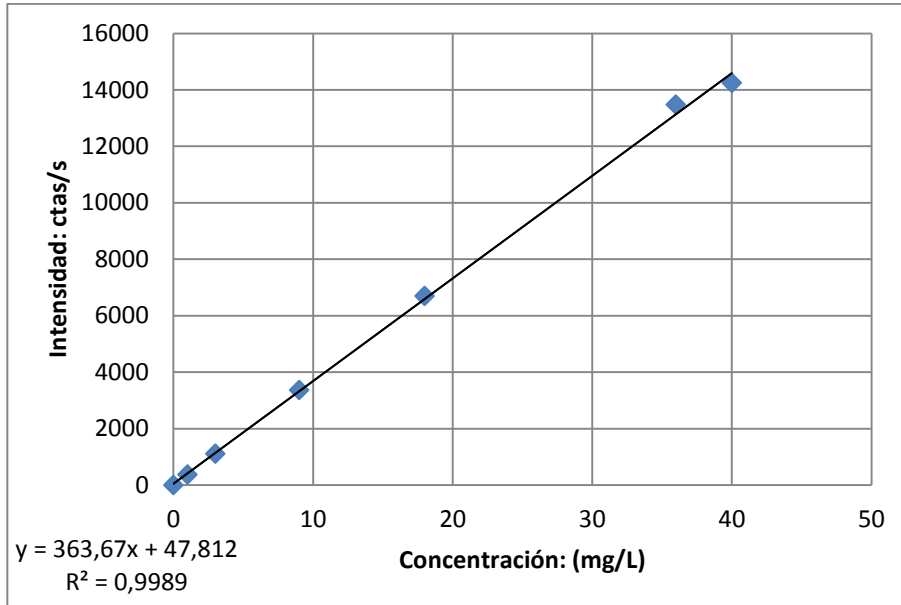


Sample ID	Intensity	Style	Scale	Offset
->Calib Blank 1	10938.3		1.0	0.0
Calib Std 1	222538.7		1.0	0.0
Calib Std 2	986388.9		1.0	0.0
Calib Std 3	2972527.9		1.0	0.0
Calib Std 4	5631058.2		1.0	0.0
Calib Std 5	10644271.5		1.0	0.0
Calib Std 6	13565761.0		1.0	0.0

T = 21°C, Humedad Relativa (%) = 45

Fuente: base de datos ICP-OES NATURALAB.

Figura 26. **Intensidad versus concentración azufre**



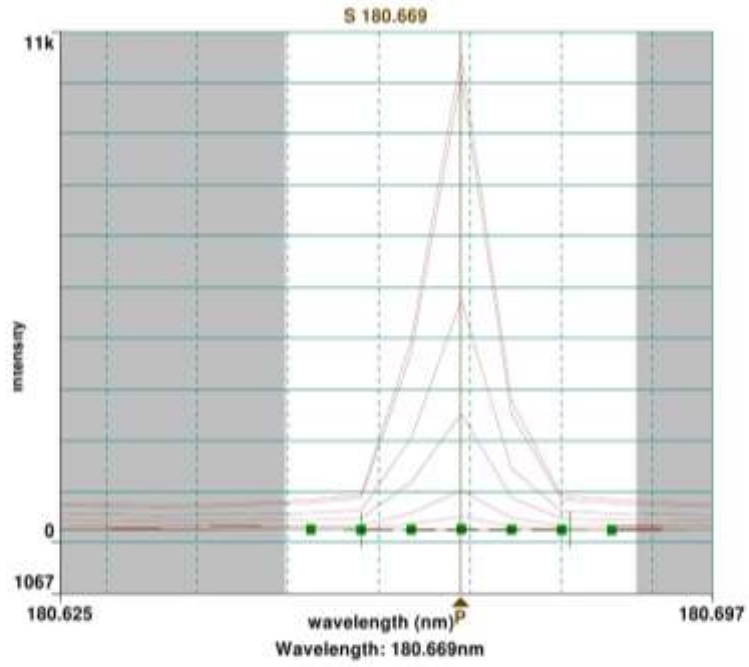
Fuente: elaboración propia.

Tabla XVII. **Test para la pendiente de la recta de S**

Parámetro	Resultado
Incerteza de la pendiente (S_{b1})	5,4770
Incerteza combinada ($S_{y/x}$)	224,1859
t student	2,5710
IC (95%)	$363.67 \pm 14,0815$

Fuente: elaboración propia.

Figura 27. Líneas espectrales azufre

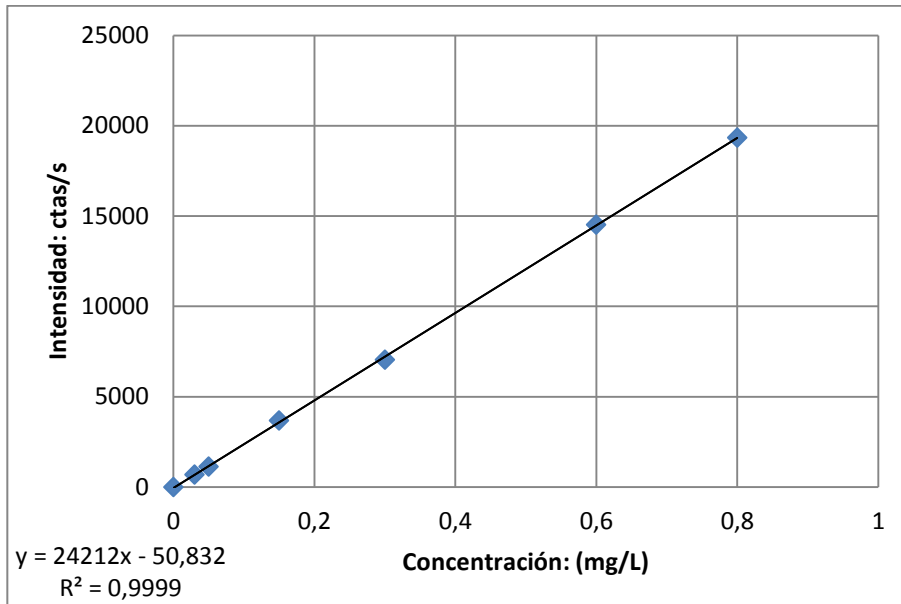


Sample ID	Intensity	Style	Scale	Offset
->Calib Blank 1	281.0		1.0	0.0
Calib Std 1	538.3		1.0	0.0
Calib Std 2	1077.7		1.0	0.0
Calib Std 3	2670.7		1.0	0.0
Calib Std 4	5016.4		1.0	0.0
Calib Std 5	9649.7		1.0	0.0
Calib Std 6	10092.1		1.0	0.0

T = 21°C, Humedad Relativa (%) = 45

Fuente: base de datos ICP-OES NATURALAB.

Figura 28. **Intensidad versus concentración boro**



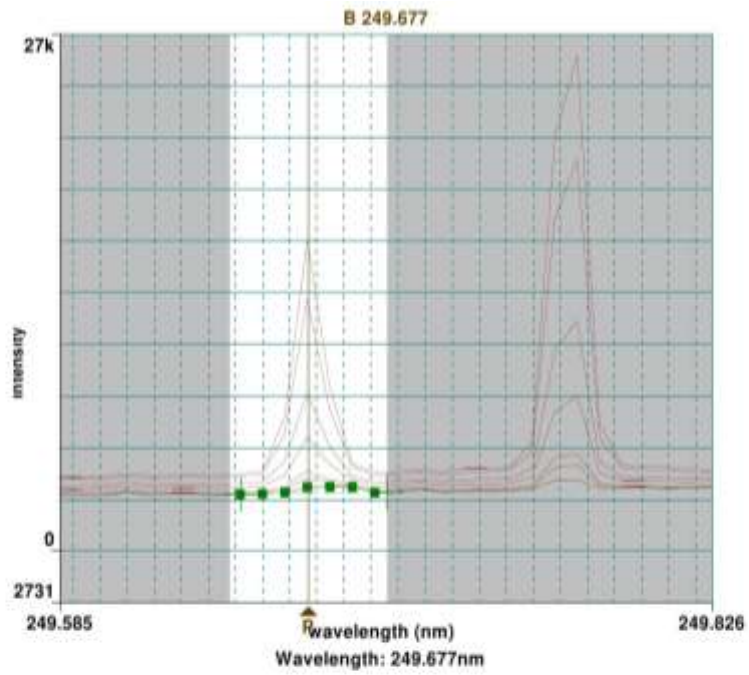
Fuente: Elaboración propia.

Tabla XVIII. **Test para la Pendiente de la recta de B**

Parámetro	Resultado
Incerteza de la pendiente (S_{b1})	112,7110
Incerteza combinada ($S_{y/x}$)	86,1168
t student	2,5710
IC (95%)	24 212 \pm 289,7800

Fuente: elaboración propia.

Figura 29. Líneas espectrales boro



Sample ID	Intensity	Style	Scale	Offset
->Calib Blank 1	3374.9		1.0	0.0
Calib Std 1	3829.8		1.0	0.0
Calib Std 2	4201.9		1.0	0.0
Calib Std 3	5949.0		1.0	0.0
Calib Std 4	8245.1		1.0	0.0
Calib Std 5	13080.7		1.0	0.0
Calib Std 6	16104.0		1.0	0.0

T = 21°C, Humedad Relativa (%) = 45

Fuente: base de datos ICP-OES NATURALAB.

4.3. Evaluación de los parámetros de desempeño analítico

Su objetivo es establecer los lineamientos generales mínimos, necesarios para llevar a cabo el proceso de validación de métodos analíticos de un componente específico analítico de una muestra.

Tabla XIX. **Criterios de aceptación y evaluación de los parámetros de desempeño analítico**

Parámetro	Criterio	Aprobación/Reprobación						
Exactitud (%Recuperación)	El porcentaje de recuperación debe ser no menor del 90% y no mayor del 110% para productos no regulados. (OGA-GEC-016, pág. 21 de 29)	Aprobado, valores obtenidos están dentro de los rangos de variación permitidos. (Ver Tabla IX)						
Precisión (Repetibilidad)	<p>El coeficiente de variación (%CV) permitido para el análisis de tejido vegetal</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Elemento</th> <th>%CV</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>P, K, Ca, Mg, y S</td> <td>10</td> </tr> <tr> <td>B</td> <td>15</td> </tr> </tbody> </table> <p>(Variación de los análisis de suelos y foliares y criterios para su interpretación agronómica , p. 6 de 18)</p>	Elemento	%CV	P, K, Ca, Mg, y S	10	B	15	Aprobado, valores obtenidos son menores a los permitidos (Ver Tabla X)
Elemento	%CV							
P, K, Ca, Mg, y S	10							
B	15							
Límite de Detección (LoD)	Las concentraciones mínimas detectadas por el sistema, estén debajo de las concentraciones rutinariamente medidas.	Aprobado, los rangos de concentraciones de trabajo son muy superiores a LoD. (Ver Tabla XI)						
Límite de Cuantificación (LoQ)	Las concentraciones mínimas cuantificadas por el sistema, estén debajo de las concentraciones rutinariamente medidas.	Aprobado, los rangos de concentración de trabajo están por arriba de LoQ. (Ver Tablas XI y XXVIII)						
Linealidad del Intervalo de Trabajo	La curva de calibración (señal versus concentración) debe ser lineal con un coeficiente de determinación (R^2) de por lo menos 0,98.(OGA-GEC-016, pág. 23 de 29)	Aprobado, las curvas de calibración son lineales y los coeficientes R^2 son superiores al valor de aceptación referido. (Ver Figuras: 18, 20, 22, 24, 26 y 28)						

Fuente: elaboración propia.

4.4. Pruebas de hipótesis estadística

Se realizaron las pruebas estadísticas para comprobar hipótesis planteadas en el diseño de investigación, con *t* de *student* al 95 por ciento ($\alpha = 0,05$). Se acepta la hipótesis de investigación si los valores *t* de prueba caen en el rango de -2,57 a 2,57.

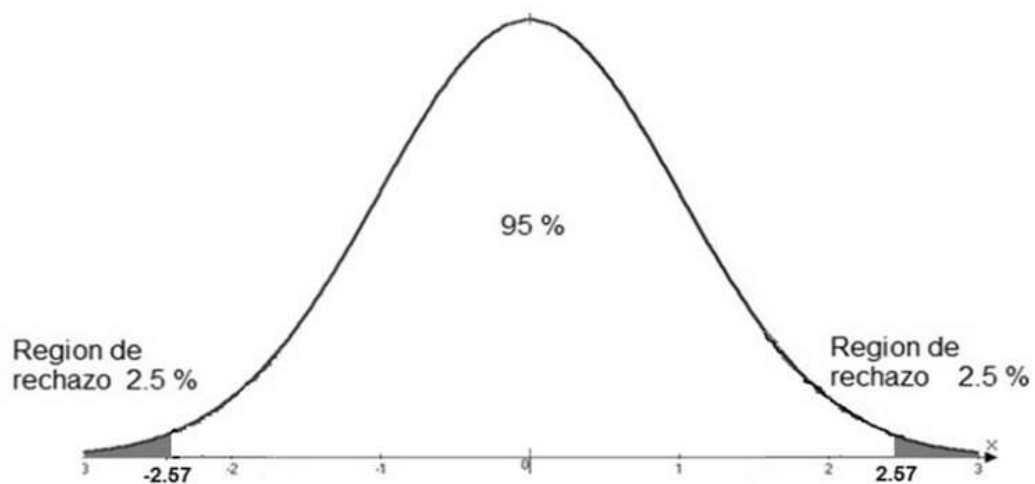
:

Tabla XX. Resultados de comprobación de hipótesis estadística

Unid	Elemento	n	α	Nivel de Confianza (%)	t Crítico	t de Prueba	Aceptación/Rechazo H1
g/kg	P	6	0,05	95	2,57	1,74<tc	Acepta H1
	K	6	0,05	95	2,57	1,72<tc	Acepta H1
	Ca	6	0,05	95	2,57	2,10<tc	Acepta H1
	Mg	6	0,05	95	2,57	2,15<tc	Acepta H1
	S	6	0,05	95	2,57	0,68<tc	Acepta H1
mg/kg	B	6	0,05	95	2,57	0,62<tc	Acepta H1

Fuente: elaboración propia.

Figura 30. Gráfica de la Distribución “t” de Student



Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados anteriores reflejan que la técnica estudiada es útil y funcional para el propósito que fue desarrollada, ya que cumple con los requisitos de verificación de un método estandarizado.

La exactitud, evaluada a través del porcentaje de recuperación, muestra la certeza que se tiene con el método y la capacidad del mismo para alcanzar aproximaciones muy cercanas a valores reportados por materiales de referencia. La evaluación de este parámetro con el criterio del Organismo Guatemalteco de Acreditación (OGA), da por aprobado este parámetro de desempeño ya que los valores reportados están dentro de un rango de recuperación mayor al 90 por ciento y menor del 110 por ciento

La repetibilidad (precisión), se evaluó por medio de la desviación estándar de una serie de 10 ensayos aplicados al mismo material certificado utilizado para la determinación de la exactitud, se calculó la desviación estándar y luego el coeficiente de variación para las 10 muestras leídas independientes.

Se observan coeficientes de variación menores del 10 por ciento en la evaluación, lo cual es un indicador de la repetibilidad de la técnica, que es sometida a incertezas de recursos materiales y humanos al ser utilizada para el análisis del laboratorio.

Para el cálculo del LoD y LoQ, se realizaron 10 lecturas para muestras independientes de blancos (blanco reactivo), y se determinó la desviación estándar (s) para las lecturas de cada elemento, bajo la condición de que un

blanco sería una muestra tal que no tuviera nutrientes, es decir, se tendría solamente la adición de elementos proporcionados por los reactivos de la preparación de la muestra.

LoD(3s) y LoQ(10s) hacen referencia al ruido de un instrumento de medición e indican límites de concentración detectables y cuantificables para los análisis que se realizan, por lo que no se deben reportar valores por debajo de LoQ, ya que se tiene una incertidumbre alta en el resultado del análisis realizado.

Las curvas de calibración fueron preparadas a partir de soluciones patrón de referencia de concentración conocida de 1 000 miligramos por litro. Estas curvas fueron tratadas por el método de mínimos cuadrados para obtener la mejor recta que ajustó los datos con mayor correlación.

Para cada uno de los elementos analizados se observa una buena correlación lineal entre la respuesta de la señal percibida por el detector del (ICP-OES) y las concentraciones preparadas para cada estándar de calibración utilizado, ($R^2 > 0,99$ para todos los elementos). Esto indica muy buen grado de ajuste para las curvas, procedentes de 3 réplicas realizadas por el equipo (ICP) y de las cuales se ha reportado el promedio de estas réplicas debido a que las diferencias entre ellas es muy cercado a cero según se observa en la desviación estándar relativa de los datos presentada en la tabla XXIV.

También se han realizado test de linealidad para evaluar las pendientes de las curvas encontradas por mínimos cuadrados, estos *test* tienen por objetivo estimar un intervalo de confianza para los valores de las pendientes de dichas curvas.

De aquí se observa que los intervalos son bastante estrechos (menos del 10 por ciento del valor de la pendiente), lo que representa que las curvas son muy precisas y ajustan bien los datos en el rango de concentraciones que se trabajó. Además se puede continuar agregando más concentración a la curva y ver hasta donde el rango de trabajo puede ser considerado lineal.

También se observa la proporcionalidad en las líneas espectrales de cada elemento, esta es la forma gráfica en la que el equipo distingue las concentraciones a través de un detector que percibe fotones (cuentas por segundo) emitidos por los átomos de cada elemento a una determinada longitud de onda.

Finalmente se han realizado pruebas de hipótesis para verificar estadísticamente las variaciones de los resultados de exactitud con respecto a los valores de referencia del material certificado, para lo cual se ha utilizado una distribución de probabilidad t de *student*.

Para estas pruebas se han utilizado los datos presentados para el parámetro de desempeño analítico de exactitud (ver tabla IX). Los resultados indican aceptación de la hipótesis de investigación, lo que significa que no se pudo probar que existía diferencia entre los datos de referencia del material certificado y los datos determinados en NATURALAB, es decir, no se pudo probar la existencia de un error sistemático.

Para estas pruebas se tomaron en cuenta las desviaciones estándar certificadas, lo que significa que se usó la variación poblacional (σ) y no las desviaciones estándares de la muestra (s), lo cual le da mayor confiabilidad a los resultados.

Debe indicarse además que se utilizó una prueba de 2 colas debido a la naturaleza de la hipótesis nula por su negación (\neq), con un nivel de significancia del 5 por ciento (2,5 % hacia cada lado de la campana de Gauss), lo que representa el 95 por ciento de confianza de la prueba.

CONCLUSIONES

1. Se validó la técnica analítica estudiada, con la aprobación de los parámetros de desempeño analítico evaluados, cuantificando las concentraciones de calcio, magnesio, potasio, fósforo, azufre y boro, en tejido vegetal de palma africana.
2. Los porcentajes de recuperación (exactitud) obtenidos fueron menores al 110 por ciento y los coeficientes de variación (repetibilidad) de las mediciones, menores al 10 por ciento.
3. El límite de detección (LoD) y el de cuantificación LoQ determinados, son menores a las concentraciones de trabajo en NATURALAB.
4. La linealidad del intervalo de trabajo reportó valores del coeficiente de determinación (R^2) mayores a 0,99.
5. Con el 95 por ciento de confianza, se aceptó la hipótesis de investigación, que las concentraciones certificadas de P, Ca, Mg, K, S y B de la muestra de palma, IPE Sample 193, son iguales a las determinadas en NATURALAB.

RECOMENDACIONES

1. Calendarizar por lo menos una vez al año la verificación de los parámetros de desempeño y notar si hay cambios significativos en los resultados de los mismos para tomar acciones de acuerdo a lo observado.
2. Evaluar el parámetro de exactitud con diferente analista y estudiar la reproductibilidad de los resultados presentados.
3. Planificar el uso de muestras certificadas como muestra de control de calidad, con el fin de garantizar los resultados obtenidos para las muestras analizadas.
4. Evaluar los parámetros de desempeño con una muestra certificada distinta a la utilizada para este estudio, y comprobar con ello la versatilidad de la técnica validada.
5. Difundir los documentos producto de la validación al personal de NATURALB, y hacer énfasis en la importancia de trabajar con metodologías validadas para el análisis de laboratorio.
6. Probar las hipótesis estadísticas utilizando los datos de la desviación estándar de la muestra para mayor número de ensayos (preferiblemente 30 o más) y comparar los resultados obtenidos con los que se han presentado.

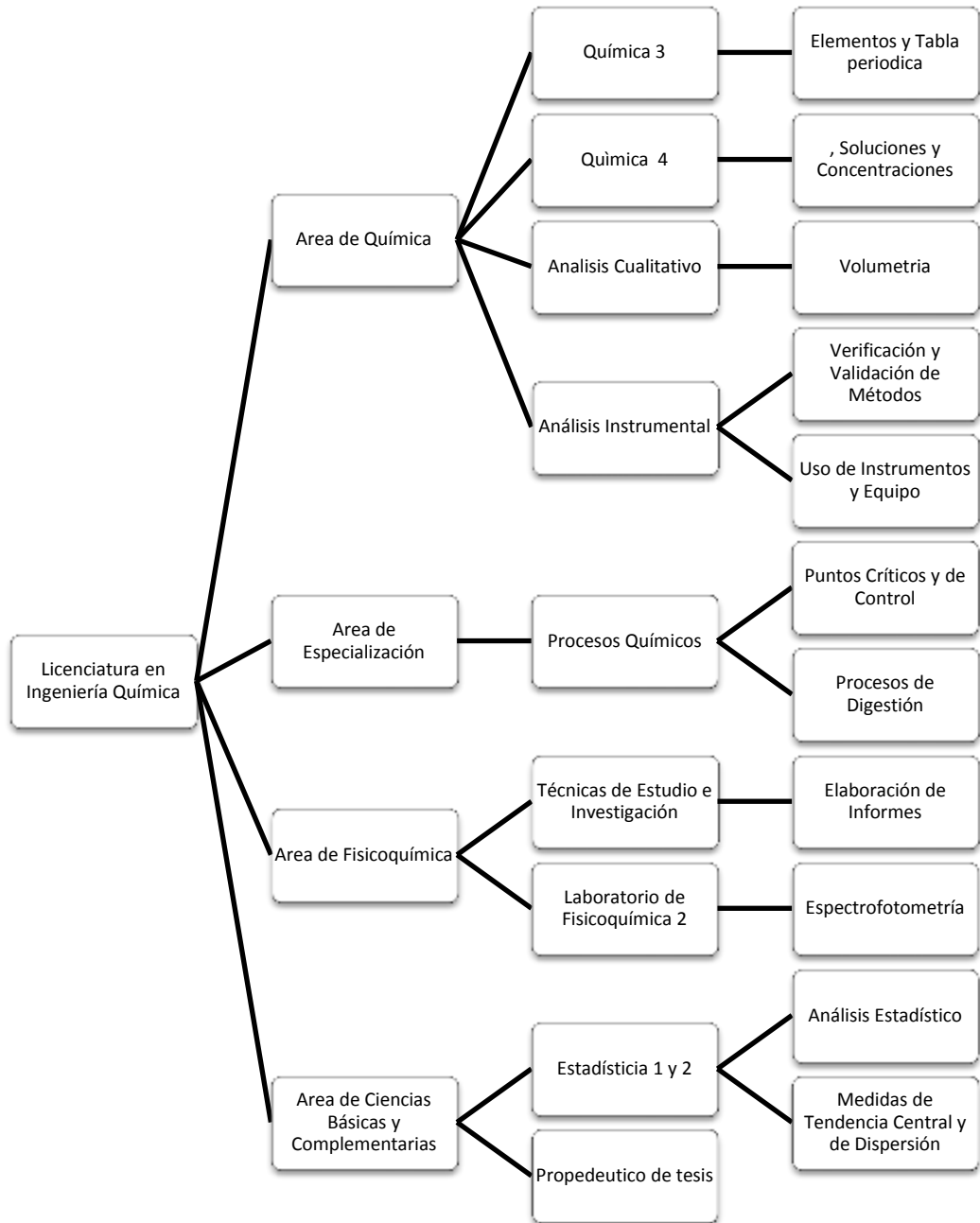
BIBLIOGRAFÍA

1. BERTSH, Floria. *Variación de los Análisis de Suelos y Foliare y Criterios para su Interpretación Agronómica*. Universidad de Costa Rica, Centro de Investigaciones Agronómicas. Costa Rica 2010. Total de páginas 18.
2. DOUGLAS A. SKOOG, F. James Holler, Stanley R. Crouch *Principios de Análisis Instrumental*, Cengage Learning, 6a ed. México 2008, total de páginas 306.
3. EURACHEM. *Métodos Analíticos Adecuados a su Propósito, Guía de Laboratorio para la Validación de Métodos y Temas Relacionados*, CENAM, 2a ed. México:2005, total de páginas 69..
4. HARRIS, Daniel C. *Análisis Químico Cuantitativo*. 3a ed.. España: Reverté 2007. Total de páginas 294.
5. LEVINE, Ira N. *Fisicoquímica Volumen 2*. 5a ed. España: Mcgraw-Hill. 2004. Total de páginas 957.
6. NORMA INTERNACIONAL, *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración (Norma ISO 17025)*, Suiza, ISO/IEC 2005, total de páginas 38.
7. OGA-GEC-016. *Política de Selección y Validación de Métodos de Ensayo*, Versión 1, Guatemala Enero 2007, total de páginas 29.

8. SCHEMID WOLFGANG A., Ruben J. Lazos. *Guía para Estimar la Incertidumbre de la Medición*. Centro Nacional de Metrología. México 2000. p. 7-16.
9. TECHNOSERVE. *Manual Técnico de Palma Africana*, San Pedro Sula Cortés, Abril de 2009, p. 4-47
10. WALPOLE, Myers & Myers. *Probabilidad y estadística para ingenieros*. 6a ed. México: Pearson Education 1999. Total de páginas 289.

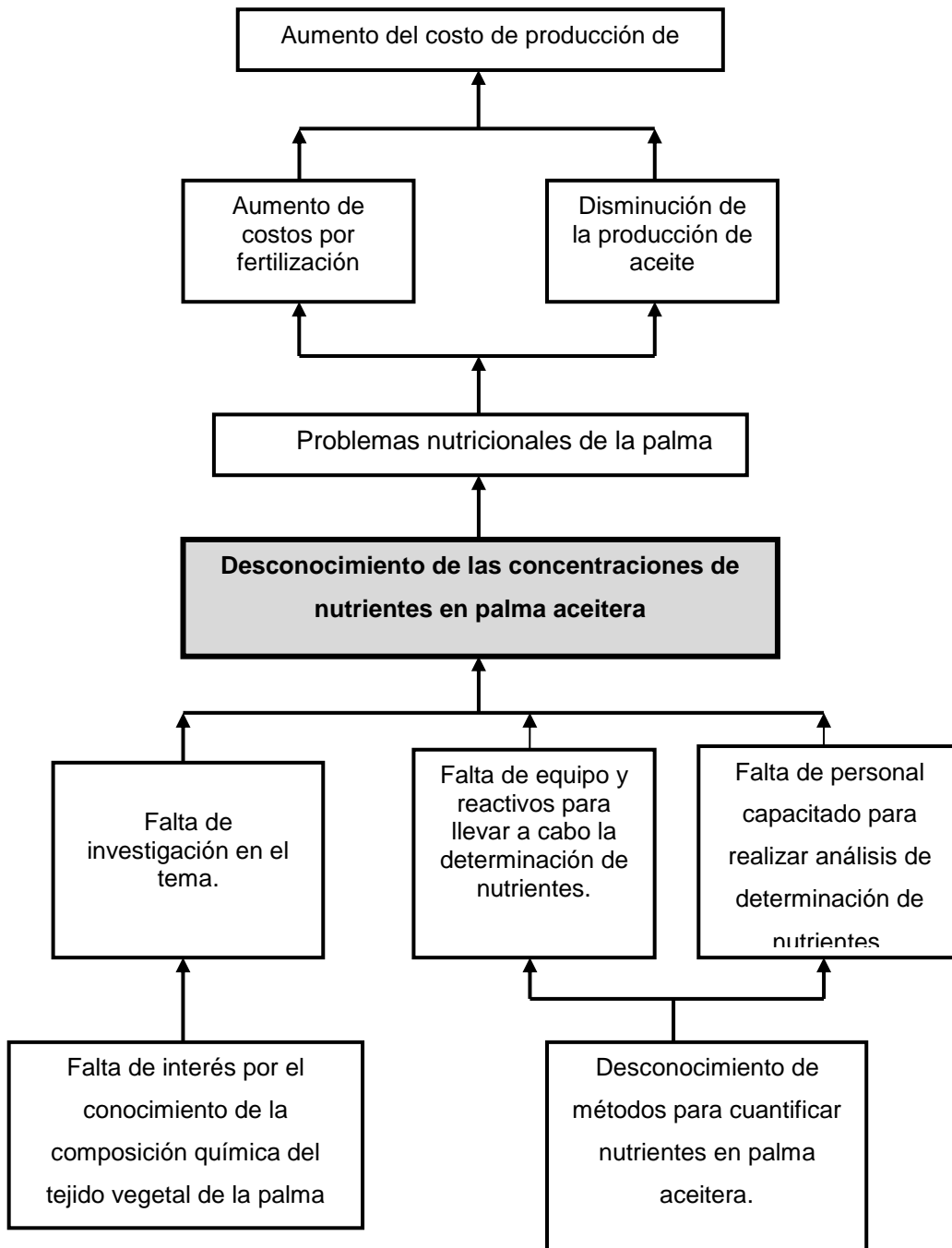
APÉNDICES

Apéndice 1. **Tabla de requisitos académicos**



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. **Diagrama del árbol del problema**



Fuente: elaboración propia.

DATOS ORIGINALES

Apéndice 3. Datos para el cálculo de la exactitud

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
IPE 193	1,80	11,40	7,20	3,20	1,90	18,44
IPE 193	1,80	11,30	7,20	3,10	1,90	18,30
IPE 193	1,70	11,40	6,90	3,20	1,80	18,83
IPE 193	1,70	11,20	7,20	3,10	1,80	18,56
IPE 193	1,70	11,10	7,00	3,10	1,80	18,78
IPE 193	1,70	11,20	7,00	3,10	1,80	18,43

Fuente: base de datos ICP NATURALAB.

Apéndice 4. Datos para el cálculo de la repetibilidad

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
IPE 193	1,73	11,54	7,18	3,05	1,94	18,44
IPE 193	1,78	11,44	7,04	3,07	2,00	18,30
IPE 193	1,86	11,76	7,45	3,18	2,07	20,12
IPE 193	1,79	11,27	6,98	3,06	1,97	18,83
IPE 193	1,74	11,64	7,04	3,07	1,93	18,56
IPE 193	1,76	11,86	7,28	3,20	2,00	18,78
IPE 193	1,76	11,84	7,17	3,09	1,98	18,43
IPE 193	1,88	11,77	7,60	3,20	2,08	19,48
IPE 193	1,84	11,78	7,23	3,09	1,98	19,51
IPE 193	1,78	11,63	7,27	3,06	2,01	19,27

Fuente: base de datos ICP NATURALAB.

Apéndice 5. **Datos para el cálculo del límite de detección y límite de cuantificación**

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
Bk 1	-0,0523	-0,2376	-0,2967	-0,1491	0,0064	-0,4000
Bk 2	-0,0446	-0,2508	-0,3187	-0,1514	0,0025	-0,7000
Bk 3	-0,0420	-0,2454	-0,2995	-0,1463	0,0055	-0,8000
Bk 4	-0,0453	-0,2505	-0,2977	-0,1501	0,0063	-0,8000
Bk 5	-0,0464	-0,2452	-0,2750	-0,1459	0,0070	-0,8000
Bk 6	-0,0459	-0,2526	-0,2849	-0,1488	0,0085	-0,7000
Bk 7	-0,0461	-0,2508	-0,3073	-0,1507	0,0066	-1,0000
Bk 8	-0,0444	-0,2605	-0,3024	-0,1498	0,0059	-0,9000
Bk 9	-0,0492	-0,2606	-0,2736	-0,1497	0,0070	-0,6000
Bk 10	-0,0445	-0,2533	-0,3050	-0,1503	0,0062	-1,0000

Fuente: base de datos ICP NATURALAB.

Apéndice 6. **Datos para elaboración de curvas de linealidad para 3 réplicas**

	Estándar	Concentración: (mg/L)	Intensidad: (cuentas/s)	Desviación Estándar Relativa de Réplicas
P	Blanco	0	0	0,00000000
	1	1	1 153,039	0,00000000
	2	3	3 453,548	0,00000000
	3	9	10 078,892	0,00000000
	4	18	19 671,813	0,00000000
	5	36	39 068,976	0,00000000
	6	40	42 785,982	0,00000000
K	Blanco	0	0	0,00000000
	1	4	56 517,531	0,00000000
	2	15	210 100,301	0,00000000
	3	45	627 328,553	0,00000000
	4	90	1 224 466,025	0,00000000
	5	180	2 381 297,207	0,00000000
	6	200	2 633 340,740	0,00000000
Ca	Blanco	0	0	0,00000000
	1	2	302 642,975	0,00000000
	2	10	1 426 509,303	0,00000000
	3	30	4 301 878,299	0,00000000
	4	60	8 203 995,183	0,00000000
	5	120	15 171 773,660	0,00000000
	6	150	19 013 811,160	0,00000000
Mg	Blanco	0	0	0,00000000
	1	1	3 335 194,146	0,00000000
	2	5	15 529 348,790	0,00000000
	3	15	47 124 471,470	0,00000000
	4	30	90 397 857,000	0,00000000
	5	60	171 478 849,700	0,00000000
	6	80	220 108 770,500	0,00000000

Continuación del apéndice 6.

	Estándar	Concentración: (mg/L)	Intensidad: (cuentas/s)	Desviación Estándar Relativa de Réplicas
S	Blanco	0	0	0,00000000
	1	1	374 263,313	0,00000000
	2	3	1 103 325,959	0,00000000
	3	9	3 359 405,042	0,00000000
	4	18	6 691 688,576	0,00000000
	5	36	13 472 981,710	0,00000000
	6	40	14 245 959,480	0,00000000
B	Blanco	0	0	0,00000000
	1	0.03	686 735,612	0,00000155
	2	0.05	1 118 104,965	0,00000132
	3	0.15	3 677 578,515	0,00000176
	4	0.3	7 034 650,158	0,00000176
	5	0.6	14 516 605,550	0,00000176
	6	0.8	19 338 911,780	0,00000132

Fuente: base de datos ICP NATURALAB.

DATOS CALCULADOS

Apéndice 7. Cálculo del porcentaje de recuperación IPE Sample 193

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
IPE 193	1,80	11,40	7,20	3,20	1,90	18,44
IPE 193	1,80	11,30	7,20	3,10	1,90	18,30
IPE 193	1,70	11,40	6,90	3,20	1,80	18,83
IPE 193	1,70	11,20	7,20	3,10	1,80	18,56
IPE 193	1,70	11,10	7,00	3,10	1,80	18,78
IPE 193	1,70	11,20	7,00	3,10	1,80	18,43
Promedio	1,73	11,27	7,08	3,13	1,83	18,56
Valor Certificado	1,66	10,70	6,72	2,96	1,79	18,00
Recuperación (%)	104,42	105,30	105,41	105,86	102,42	103,09

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 8. Cálculo del coeficiente de variación (%CV)

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
IPE 193	1,73	11,54	7,18	3,05	1,94	18,44
IPE 193	1,78	11,44	7,04	3,07	2,00	18,30
IPE 193	1,86	11,76	7,45	3,18	2,07	20,12
IPE 193	1,79	11,27	6,98	3,06	1,97	18,83
IPE 193	1,74	11,64	7,04	3,07	1,93	18,56
IPE 193	1,76	11,86	7,28	3,20	2,00	18,78
IPE 193	1,76	11,84	7,17	3,09	1,98	18,43
IPE 193	1,88	11,77	7,60	3,20	2,08	19,48
IPE 193	1,84	11,78	7,23	3,09	1,98	19,51
IPE 193	1,78	11,63	7,27	3,06	2,01	19,27
Promedio	1,79	11,65	7,22	3,11	1,99	18,97
%CV	2,86	1,63	2,65	1,97	2,44	3,15

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 9. **Cálculo del límite de detección y de cuantificación**

Muestra	g/kg					mg/kg
	P	K	Ca	Mg	S	B
Bk 1	-0,0523	-0,2376	-0,2967	-0,1491	0,0064	-0,4000
Bk 2	-0,0446	-0,2508	-0,3187	-0,1514	0,0025	-0,7000
Bk 3	-0,0420	-0,2454	-0,2995	-0,1463	0,0055	-0,8000
Bk 4	-0,0453	-0,2505	-0,2977	-0,1501	0,0063	-0,8000
Bk 5	-0,0464	-0,2452	-0,2750	-0,1459	0,0070	-0,8000
Bk 6	-0,0459	-0,2526	-0,2849	-0,1488	0,0085	-0,7000
Bk 7	-0,0461	-0,2508	-0,3073	-0,1507	0,0066	-1,0000
Bk 8	-0,0444	-0,2605	-0,3024	-0,1498	0,0059	-0,9000
Bk 9	-0,0492	-0,2606	-0,2736	-0,1497	0,0070	-0,6000
Bk 10	-0,0445	-0,2533	-0,3050	-0,1503	0,0062	-1,0000
Promedio	-0,0461	-0,2507	-0,2961	-0,1492	0,0062	-0,7700
Desviación (s)	0,0029	0,0069	0,0143	0,0018	0,0015	0,1829
LoD (3s)	0,0086	0,0208	0,0430	0,0054	0,0046	0,5486
LoQ (10s)	0,0285	0,0695	0,1432	0,0180	0,0153	1,8288

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 10. **Límite de cuantificación en unidades de calibración**

Elemento	mg/L					
	P	K	Ca	Mg	S	B
LoQ (mg/L)	0,2854	0,6948	1,4324	0,1801	0,2148	0,0183

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 11. Cálculos para las hipótesis estadística

Unid	Elemento	n	Media (X)	Media Certificado (μ)	Desviación Estándar (σ)	tc	tp	Aceptación /Rechazo H1
g/kg	P	6	1,73	1,66	0,09	2,57	1,74	Acepta H1
	K	6	11,27	10,70	0,74	2,57	1,72	Acepta H1
	Ca	6	7,08	6,72	0,38	2,57	2,10	Acepta H1
	Mg	6	3,13	2,96	0,18	2,57	2,15	Acepta H1
	S	6	1,83	1,79	0,13	2,57	0,68	Acepta H1
mg/kg	B	6	18,56	18,00	2,01	2,57	0,62	Acepta H1

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 12. Cálculos de incertidumbres

Elemento	U balanza	U balón	U estándar	U analista	U curva	U combinada	U Total
P (%)	0,001131	0,001385	0,000045	0,021303	0,0000	0,0214	0,0428
K (%)	0,001131	0,001385	0,000218	0,021303	0,0000	0,0163	0,0323
Ca (%)	0,001131	0,001385	0,000176	0,016297	0,0000	0,0266	0,0530
Mg (%)	0,001131	0,001385	0,000065	0,026500	0,0000	0,0197	0,0340
S (%)	0,001131	0,001385	0,000056	0,019668	0,0000	0,0245	0,0490
B (%)	0,001131	0,001385	0,000700	0,024452	0,0000	0,0315	0,0630

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 13. Cálculo de estimadores para la pendiente

K	x	y	n = 7	NC = 95%	
STD	Concentración K: (mg/L)	Intensidad Corregida: (cuentas/s)	x ²	y ²	x*y
Blan	0	0,0000	0	0,00	0,00
1	4	5 651,7531	16	31 942 313,64	22 607,01
2	15	21 010,0301	225	441 421 363,54	315 150,45
3	45	62 732,8553	2 025	3 935 411 132,83	2 822 978,48
4	90	122 446,6025	8 100	14 993 170 463,79	11 020 194,22
5	180	238 129,7207	32 400	56 705 763 880,66	42 863 349,72
6	200	263 334,0740	40 000	69 344 834 529,43	52 666 814,80
Σ	534	713 305,0357	82 766	145 452 543 683,91	109 711 094,70
Ca	x	y	n = 7	NC = 95%	
ST	Concentración Ca: (mg/L)	Intensidad corregida: (cuentas/s)	x ²	y ²	x*y
Blan	0	0,0000	0	0,00	0,00
1	2	302 642,9748	4	91 592 770 195,79	605 285,94
2	10	1 426 509,3030	100	2 034 928 791 545,55	14 265 093,03
3	30	4 301 878,2990	900	18 506 156 899 407,10	129 056 348,97
4	60	8 203 995,1830	3 600	67 305 536 962 687,20	492 239 710,98
5	120	15 171 773,6600	14 400	230 182 715 990 270,00	1 820 612 839,20
6	150	19 013 811,1600	22 500	361 525 014 828 141,00	2 852 071 674,00
Σ	372	48 420 610,5798	41 504	679 645 946 242 246,00	5 308 850 952,12
Mg	x	y	n = 7	NC = 95%	
ST	Concentración Mg: (mg/L)	Intensidad corregida: (cuentas/s)	x ²	y ²	x*y
Blan	0	0,0000	0	0,00	0,00
1	1	333 519,4146	1	111 235 199 915,12	333 519,41
2	5	1 552 934,8790	25	2 411 606 738 414,74	7 764 674,39
3	15	4 712 447,1470	225	22 207 158 113 268,40	70 686 707,20
4	30	9 039 785,7000	900	81 717 725 501 924,50	271 193 571,00
5	60	17 147 884,9700	3 600	294 049 958 944 352,00	1 028 873 098,20
6	80	22 010 877,0500	6 400	484 478 708 510 217,00	1 760 870 164,00
Σ	191	54 797 449,1606	11 151	884 976 393 008 091,00	3 139 721 734,21

Continuación del apéndice 13.

P	x	y	n = 7	NC = 95%	
ST	Concentración P: (mg/L)	Intensidad corregida: (cuentas/s)	x²	y²	x*y
Blan	0	0,0000	0	0,0000	0,0000
1	1	115,3039	1	13 294,9821	115,3039
2	3	345,3548	9	119 269,9641	1 036,0645
3	9	1 007,8892	81	1 015 840,6213	9 071,0027
4	18	1 967,1813	324	3 869 802,1412	35 409,2628
5	36	3 906,8976	1 296	15 263 848,5834	140 648,3123
6	40	4 278,5982	1 600	18 306 402,8138	171 143,9292
Σ	107	11 621,2250	3 311	38 588 459,1059	357 423,8755
S	x	y	n = 7	NC = 95%	
ST	Concentración S: (mg/L)	Intensidad corregida: (cuentas/s)	x²	y²	x*y
Blan	0	0,0000	0	0,0000	0,0000
1	1	374,2633	1	140 073,0275	374,2633
2	3	1 103,3260	9	1 217 328,1718	3 309,9779
3	9	3 359,4050	81	11 285 602,2362	30 234,6454
4	18	6 691,6886	324	44 778 695,9982	120 450,3944
5	36	13 472,9817	1 296	181 521 236,1580	485 027,3416
6	40	14 245,9595	1 600	202 947 361,5058	569 838,3792
Σ	107	39 247,6241	3 311	441 890 297,0974	1 209 235,0017
B	x	y	n = 7	NC = 95%	
ST	Concentración B: (mg/L)	Intensidad corregida: (cuentas/s)	x²	y²	x*y
Blan	0,000	0,0000	0	0,0000	0,0000
1	0,030	686,7356	0,0009	471 605,8009	20,6021
2	0,050	1 118,1050	0,0025	1 250 158,7128	55,9052
3	0,150	3 677,5785	0,0225	13 524 583,7340	551,6368
4	0,300	7 034,6502	0,09	49 486 302,8454	2 110,3950
5	0,600	14 516,6056	0,36	210 731 836,6943	8 709,9633
6	0,800	19 338,9118	0,64	373 993 508,8346	15 471,1294
Σ	1,930	46 372,5866	1,1159	649 457 996,6220	26 919,6319

Fuente: elaboración propia.

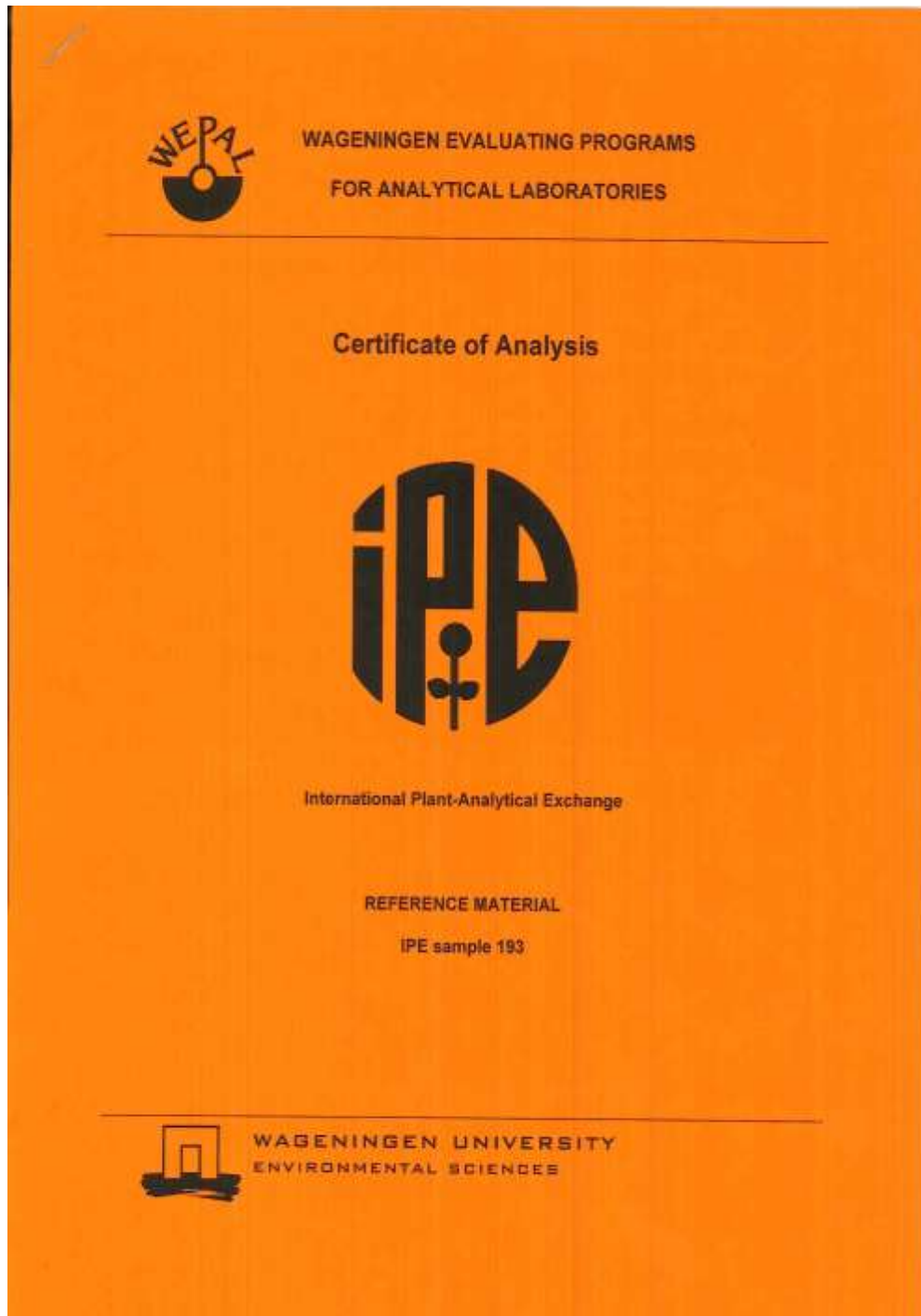
ANEXOS

Determinación de Ca, Mg, K, P, S, y B en tejido vegetal

- Procedimiento para la digestión de muestras
 - Elegir las muestras a preparar (previamente molidas y secadas) y anotar los números de identificación de las muestras, en una hoja de control de pesos para muestras. .
 - Tarar un tubo donde se pesará la muestra colocándolo en un beacker.
 - Pesar 0,5 gramos de muestra agregándola con la ayuda de una micro-espátula.
 - Colocar los tubos con muestra dentro de la campana extractora de gases una vez pesadas todas las muestras.
 - Agregar 9 mililitros de ácido nítrico (HNO_3) al 65 por ciento en cada tubo. Colocar los tubos en envases cerámicos ordenándolos dentro del rotor del microondas Multiwave 3 000.
 - Enroscar las caperuzas en cada envase cerámico.
 - Colocar el rotor dentro del microondas.
 - Programar el perfil del microondas dependiendo el número de muestras a preparar, y echar a andar el equipo.
 - Una vez terminado el tiempo de la digestión, retirar el rotor del microondas, sacar los envases y desenroscar las caperuzas para liberar la presión.
 - Pasar las muestras a balones volumétricos aforados, limpiando tubos y caperuzas con agua desmineralizada para que no quede muestra en estos.
 - Aforar las muestras con agua desmineralizada en balones volumétricos de 50 mililitros.

- Procedimiento para la determinación de elementos en foliar y raquis por espectrofotómetro ICP-OES
 - Encender el ICP, el auto-muestreador y la computadora.
 - Arrancar el software del auto-muestreador (ESI) e inicializar el auto-muestreador. Arrancar el software Winlab 32.
 - Cargar metodología establecida para el análisis de tejido vegetal, estableciendo tiempos, longitudes de onda, elementos y condiciones de calibraciones.
 - Definir las muestras que serán analizadas en el archivo de información de muestras (sample info file), colocando el peso, el volumen de preparación y diluciones si fueran necesarias.
 - Colocar las muestras líquidas de tejido vegetal en los racks del ICP y llevarlos auto muestreador.
 - Iniciar el análisis automático y reportar los resultados.

- Certificado de Análisis IPE Sample 193





General information

In this report an overview is given of analytical data for this sample collected in our proficiency testing program. The consensus values are calculated using a robust statistical model. With this NDA model mean and standard deviation are calculated using all reported data when at least 8 results are left after removal of reported 'lower than' (<) and 0 (= zero) values. No outliers are removed.

This report is divided into three sections: Consensus Values, Indicative Values and Values for Information. The division is made on the reliability of the data. Consensus Values are based on at least 16 results while the coefficient of variation is smaller than 25 %. Indicative Values are based on at least 8 and less than 16 results or a coefficient of variation between 25 % and 50 %. Other values, based on less than 8 results or a coefficient of variation higher than 50 %, are given for information only.

In the section with Consensus Values the following parameters are given: mean, standard deviation, coefficient of variation, number of results, median and MAD (Median of Absolute Deviation). The confidence limits (at 95 % probability) are calculated for these determinands.

In the section with Indicative Values the following parameters are given: mean, standard deviation, coefficient of variation, number of results, median and MAD.

In the section with Information Values the following parameters are given: median, MAD and number of results. For determinands which have at least 5 results reported as smaller than (<) the median of these 'smaller than results' is calculated. In some cases this median of '<' values is much smaller than median and mean of the indicative values. This may be caused by a too optimistic (too low) value for the detection limit reported by a (small) majority of participating laboratories who report '<' values.

All values, expressed on a weight basis (kg or %), are reported in oven-dry (105 °C) material. Moisture is reported in the material as received.

Sample information

WEPAL reference materials are from natural sources only. There is no spiking, mixing or other alterations of the samples. For sample preparation the IPE samples are dried at 70 °C and milled to pass a 0.5 mm sieve.

This IPE sample 193 of Oil palm leaves / *Elaeis guineensis* from Colombia is prepared for the WEPAL proficiency programs. The sample is used in 2 periods (or rounds). The results on which the values in this report are based were taken from the periods given in the following table.

Year	Period	Number
2009	3	1
2013	3	4



Consensus Values IPE 193

Method: Inorganic Chemical Composition		Mean	Std.Dev.	CV %	N	Median	MAD	95 % confidence limits
Element	Unit							
B	mg/kg	18.0	2.01	11.2	159	18.0	1.36	17.68 - 18.31
Ba	mg/kg	2.91	0.192	6.6	25	2.91	0.140	2.83 - 2.99
Ca	g/kg	6.72	0.384	5.7	227	6.70	0.260	6.67 - 6.77
Cd	µg/kg	52.6	7.44	14.2	53	52.9	5.17	50.5 - 54.6
Cl (as Cl)	g/kg	6.48	0.415	6.4	43	6.54	0.290	6.35 - 6.61
Cu	mg/kg	6.57	1.383	21.1	208	6.67	0.929	6.38 - 6.75
Fe	mg/kg	81.7	8.65	10.6	209	82.3	5.90	80.5 - 82.9
Hg	µg/kg	27.4	3.54	12.9	33	27.4	2.40	26.2 - 28.7
K	g/kg	10.7	0.74	6.9	226	10.7	0.50	10.56 - 10.76
Mg	g/kg	2.96	0.177	6.0	228	2.96	0.120	2.932 - 2.979
Mn	mg/kg	411	33.4	8.1	217	409	22.6	406 - 415
Mo	µg/kg	141	32.3	23.0	42	140	23.0	131 - 151
N - Kjeldahl (as N)	g/kg	25.3	1.33	5.3	153	25.3	0.90	25.07 - 25.49
Ni	µg/kg	1070	171	16.0	51	1050	113	1020 - 1110
P (as P)	g/kg	1.66	0.090	5.4	226	1.66	0.060	1.648 - 1.671
Pb	µg/kg	259	50.5	19.5	50	260	34.0	245 - 274
S (as S)	g/kg	1.79	0.132	7.4	125	1.78	0.090	1.766 - 1.812
Se	µg/kg	529	73.8	14.0	26	524	50.7	499 - 558
Sr	mg/kg	16.5	1.13	6.9	25	16.6	0.76	16.0 - 17.0
Zn	mg/kg	16.2	1.74	10.7	210	16.1	1.18	15.97 - 16.44
Method: Real totals								
Element	Unit	Mean	Std.Dev.	CV %	N	Median	MAD	95 % confidence limits
C - elementary	g/kg	477	11.1	2.3	58	475	7.4	473.6 - 479.4
N - elementary	g/kg	26.6	0.87	3.3	90	26.7	0.60	26.40 - 26.77
Method: Acid extractable (So-called totals)								
Element	Unit	Mean	Std.Dev.	CV %	N	Median	MAD	95 % confidence limits
Al	mg/kg	50.5	10.76	21.3	41	51.0	7.00	47.1 - 53.9
Method: Nutritional values								
Element	Unit	Mean	Std.Dev.	CV %	N	Median	MAD	95 % confidence limits
Total ash	g/kg	81.7	2.55	3.1	24	81.9	1.80	80.7 - 82.8



Indicative Values IPE 193

Method: Inorganic Chemical Composition		Indicative Values				Results smaller than (<)	
Element	Unit	Mean	Std.Dev.	CV %	N	Median	MAD
Be	µg/kg	18.1	1.26	6.9	8	18.1	0.85
Co	µg/kg	30.5	10.73	35.2	25	32.1	7.90
Cr	µg/kg	261	81.2	31.2	41	265	54.0
Na	mg/kg	63.5	17.81	28.0	112	62.3	12.22
V	µg/kg	126	28.6	22.7	13	131	20.6
Method: Real totals							
Element	Unit	Mean	Std.Dev.	CV %	N	Median	MAD
Al	mg/kg	62.2	16.22	26.1	23	68.0	10.70
Method: Nutritional values							
Element	Unit	Mean	Std.Dev.	CV %	N	Median	MAD
Crude fibre	g/kg	212	17.4	8.2	13	212	12.0



Method: Inorganic Chemical Composition		Informative Values		IPE 193		Results smaller than (<) Median of < N	
Element	Unit	Median	MAD	N	Median of <	N	
Ag	µg/kg	34.2	14.40	4			
As	µg/kg	30.0	12.91	24	100.0	25	
Bi	µg/kg	3.39	1.380	2			
Br	mg/kg	13.2	-	1			
Cs	µg/kg	97.0	9.60	4			
F	mg/kg	5.90	0.500	2			
Ga	µg/kg	93.4	43.65	2			
I	µg/kg	220	24.8	6			
Li	µg/kg	53.1	7.10	6			
N - NH4 (as N)	mg/kg	162	46.9	6			
N - NO3 (as N)	mg/kg	29.5	23.10	13	48.1	7	
Rb	µg/kg	11800	610	5			
Sb	µg/kg	5.09	1.750	6			
Sn	µg/kg	41.7	14.80	9			
SO4 (as SO4)	g/kg	0.156	0.1059	7			
Tl	mg/kg	2.57	0.860	7			
Method: Real totals							
Element	Unit	Median	MAD	N			
Si	mg/kg	19500	90	3			
Method: Acid extractable (So-called totals)							
Element	Unit	Median	MAD	N			
Si	mg/kg	2510	1645	4			
Method: Other determinations							
Element	Unit	Median	MAD	N			
delta 13C	‰ V-PDB	-29.6	0.16	6			
delta 15N	‰ Air	3.29	0.220	6			
Method: Nutritional values							
Element	Unit	Median	MAD	N			
ADF-ash-free	g/kg	315	33.7	7			
NDF-ash-containing	g/kg	502	-	1			
NDF-ash-free	g/kg	505	28.1	7			
Polysaccharides (starch)	g/kg	479	-	1			
Total fat	g/kg	22.4	7.35	6			

- **METHOD 3052**

Se presenta la descripción exacta del método de referencia.

**“MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF SILICEOUS
AND ORGANICALLY BASED MATRICES**

1.0 SCOPE AND APPLICATION

1.1 *This method is applicable to the microwave assisted acid digestion of siliceous matrices, and organic matrices and other complex matrices. If a total decomposition analysis (relative to the target analyte list) is required, the following matrices can be digested: ashes, biological tissues, oils, oil contaminated soils, sediments, sludges, and soils. This method is applicable for the following elements:*

Aluminum	Cadmium	Iron	Molybdenum	Sodium
Antimony	Calcium	Lead	Nickel	Strontium
Arsenic	Chromium	Magnesium	Potassium	Thallium
Boron	Cobalt	Manganese	Selenium	Vanadium
Barium Beryllium	Copper	Mercury	Silver	Zinc

Other elements and matrices may be analyzed by this method if performance is demonstrated for the analyte of interest, in the matrices of interest, at the concentration levels of interest (see Sec. 8.0).

Note: *This technique is not appropriate for regulatory applications that require the use of leachate preparations (i.e., Method 3050, Method 3051, Method 1311, Method 1312, Method 1310, Method 1320, Method 1330, Method 3031, Method 3040). This method is appropriate for those applications requiring a total decomposition for research purposes (i.e., geological studies, mass balances, analysis of Standard Reference Materials) or in response to a regulation that requires total sample decomposition.*

1.2 This method is provided as a rapid multi-element, microwave assisted acid digestion prior to analysis protocol so that decisions can be made about the site or material.

Digests and alternative procedures produced by the method are suitable for analysis by flame atomic absorption spectrometry (FLAA), cold vapor atomic absorption spectrometry (CVAA), graphite furnace atomic absorption spectrometry (GFAA), inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICPAES), inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) and other analytical elemental analysis techniques where applicable. Due to the rapid advances in microwave technology, consult your manufacturer's recommended instructions for guidance on their microwave digestion system and refer to this manual's "Disclaimer" when conducting analyses using Method 3052.

1.3 The goal of this method is total sample decomposition and with judicious choice of acid combinations this is achievable for most matrices (see Sec. 3.2). Selection of reagents which give the highest recoveries for the target analytes is considered the optimum method condition.

1.0 SUMMARY OF METHOD

2.1 A representative sample of up to 0.5 g is digested in 9 mL of concentrated nitric acid and usually 3 mL hydrofluoric acid for 15 minutes using microwave heating with a suitable laboratory microwave system. The method has several additional alternative acid and reagent combinations including hydrochloric acid and hydrogen peroxide. The method has provisions for scaling up the sample size to a maximum of 1.0 g. The sample and acid are placed in suitably inert polymeric microwave vessels. The vessel is sealed and heated in the microwave system. The temperature profile is specified to permit specific reactions and incorporates reaching 180 ± 5 °C in approximately less than 5.5 minutes and remaining at 180 ± 5 °C for 9.5 minutes for the completion of specific reactions (Ref. 1, 2, 3, 4). After cooling, the vessel contents may be filtered, centrifuged, or allowed to settle and then decanted, diluted to volume, and analyzed by the appropriate SW-846 method.

3.0 INTERFERENCES

3.1 Gaseous digestion reaction products, very reactive, or volatile materials that may create high pressures when heated and may cause venting of the vessels with potential loss of sample and analytes.

The complete decomposition of either carbonates, or carbon based samples, may cause enough pressure to vent the vessel if the sample size is greater than 0.25 g. Variations of the method due to very reactive materials are specifically addressed in sections 7.3.4 and 7.3.6.1.

3.2 Most samples will be totally dissolved by this method with judicious choice of the acid combinations.

A few refractory sample matrix compounds, such as TiO₂, alumina, and other oxides may not be totally dissolved and in some cases may sequester target analyte elements.

3.3 The use of several digestion reagents that are necessary to either completely decompose the matrix or to stabilize specific elements may limit the use of specific analytical instrumentation methods. Hydrochloric acid is known to interfere with some instrumental analysis methods such as flame atomic absorption (FLAA) and inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). The presence of hydrochloric acid may be problematic for graphite furnace atomic absorption (GFAA) and inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS). Hydrofluoric acid, which is capable of dissolving silicates, may require the removal of excess hydrofluoric acid or the use of specialized non-glass components during instrumental analysis. Method 3052 enables the analyst to select other decomposition reagents that may also cause problems with instrumental analyses necessitating matrix matching of standards to account for viscosity and chemical differences.

4.0 APPARATUS AND MATERIALS

4.1 Microwave apparatus requirements.

4.1.1 *The temperature performance requirements necessitate the microwave decomposition system sense the temperature to within $\pm 2.5\text{EC}$ and automatically adjust the microwave field output power within 2 seconds of sensing. Temperature sensors should be accurate to $\pm 2\text{EC}$ (including the final reaction temperature of 180EC). Temperature feedback control provides the primary control performance mechanism for the method. Due to the flexibility in the reagents used to achieve total analysis, temperature feedback control is necessary for reproducible microwave heating.*

Alternatively, for a specific set of reagent(s) combination(s), quantity, and specific vessel type, a calibration control mechanism can be developed similar to previous microwave methods (see Method 3051). Through calibration of the microwave power, vessel load and heat loss, the reaction temperature profile described in Section 7.3.6 can be reproduced. The calibration settings are specific for the number and type of vessel used and for the microwave system in addition to the variation in reagent combinations. Therefore no specific calibration settings are provided in this method. These settings may be developed by using temperature monitoring equipment for each specific set of equipment and reagent combination. They may only be used if not altered as previously described in other methods such as 3051 and 3015. In this circumstance, the microwave system provides programmable power which can be programmed to within $\pm 12\text{ W}$ of the required power. Typical systems provide a nominal 600 W to 1200 W of power (Ref. 1, 2, 5). Calibration control provides backward compatibility with older laboratory microwave systems without temperature monitoring or feedback control and with lower cost microwave systems for some repetitive analyses. Older lower pressure vessels may not be compatible.

4.1.2 *The temperature measurement system should be periodically calibrated at an elevated temperature. Pour silicon oil (a high temperature oil into a beaker and adequately stirred to ensure a homogeneous temperature.*

Place the microwave temperature sensor and a calibrated external temperature measurement sensor into the beaker. Heat the beaker to a constant temperature of $180 \pm 5^{\circ}\text{C}$. Measure the temperature with both sensors. If the measured temperatures vary by more than $1 - 2^{\circ}\text{C}$, the microwave temperature measurement system needs to be calibrated. Consult the microwave manufacturer's instructions about the specific temperature sensor calibration procedure.

CAUTION: The use of microwave equipment with temperature feedback control is required to control the unfamiliar reactions of unique or untested reagent combinations of unknown samples. These tests may require additional vessel requirements such as increased pressure capabilities.

4.1.3 The microwave unit cavity is corrosion resistant and well ventilated. All electronics are protected against corrosion for safe operation.

CAUTION: There are many safety and operational recommendations specific to the model and manufacturer of the microwave equipment used in individual laboratories.

A listing of these specific suggestions is beyond the scope of this method and require the analyst to consult the specific equipment manual, manufacturer, and literature for proper and safe operation of the microwave equipment and vessels.

4.1.4 The method requires essentially microwave transparent and reagent resistant suitably inert polymeric materials (examples are PFA or TFM suitably inert polymeric polymers) to contain acids and samples. For higher pressure capabilities the vessel may be contained within layers of different microwave transparent materials for strength, durability, and safety. The vessels internal volume should be at least 45 mL, capable of withstanding pressures of at least 30 atm (30 bar or 435 psi), and capable of controlled pressure relief. These specifications are to provide an appropriate, safe, and durable reaction vessel of which there are many adequate designs by many suppliers.

CAUTION: *The outer layers of vessels are frequently not as acid or reagent resistant as the liner material and must not be chemically degraded or physically damaged to retain the performance and safety required. Routine examination of the vessel materials may be required to ensure their safe use.*

CAUTION: *The second safety concern relates to the use of sealed containers without pressure relief devices. Temperature is the important variable controlling the reaction. Pressure is needed to attain elevated temperatures, but must be safely contained. However, many digestion vessels constructed from certain suitably inert polymeric materials may crack, burst, or explode in the unit under certain pressures. Only suitably inert polymeric (such as PFA or TFM and others) containers with pressure relief mechanisms or containers with suitably inert polymeric liners and pressure relief mechanisms are considered acceptable.*

Users are therefore advised not to use domestic (kitchen) type microwave ovens or to use inappropriate sealed containers without pressure relief for microwave acid digestions by this method. Use of laboratory-grade microwave equipment is required to prevent safety hazards. For further details, consult Reference 3 and 6.

4.1.5 A rotating turntable is employed to insure homogeneous distribution of microwave radiation within most systems (Ref. 1). The speed of the turntable should be a minimum of 3 rpm.

CAUTION: *Laboratories should not use domestic (kitchen) type microwave ovens for this method. There are several significant safety issues. First, when an acid such as nitric is used to effect sample digestion in microwave units in open vessel(s), or sealed vessels equipment, there is the potential for the acid gas vapor released to corrode the safety devices that prevent the microwave magnetron from shutting off when the door is opened. This can result in operator exposure to microwave energy. Use of a system with isolated and corrosion resistant safety devices prevents this from occurring.*

- 4.2 Volumetric ware, volumetric flasks, and graduated cylinders, 50 and 100 mL capacity or equivalent.
- 4.3 Filter paper, qualitative or equivalent.
- 4.4 Filter funnel, polypropylene, polyethylene or equivalent.

4.5 Analytical balance, of appropriate capacity, with a ± 0.0001 g or appropriate precision for the weighing of the sample. Optionally, the vessel with sample and reagents may be weighed, with an appropriate precision balance, before and after microwave processing to evaluate the seal integrity in some vessel types.

5.0 REAGENTS

5.1 All reagents should be of appropriate purity or high purity (acids for example, should be sub-boiling distilled where possible) to minimize the blank levels due to elemental contamination. All references to water in the method refer to reagent water (Ref. 7). Other reagent grades may be used, provided it is first ascertained that the reagent is of sufficient purity to permit its use without lessening the accuracy of the determination. If the purity of a reagent is questionable, analyze the reagent to determine the level of impurities. The reagent blank must be less than the MDL in order to be used.

6.0 SAMPLE COLLECTION, PRESERVATION, AND HANDLING

6.1 All samples must have been collected using a sampling plan that addresses the considerations discussed in Chapter Nine of this manual.

6.2 All sample containers must be prewashed with detergents, acids, and water. Plastic and glass containers are both suitable. See Chapter Three, Sec. 3.1.3 of this manual, for further information.

6.3 Refer to Chapter Three for the appropriate holding times and storage conditions.

7.0 PROCEDURE

6.1 *Temperature control of closed vessel microwave instruments provides the main feedback control performance mechanism for the method. Control requires a temperature sensor in one or more vessels during the entire decomposition. The microwave decomposition system should sense the temperature to within ± 2.5 °C and permit adjustment of the microwave output power within 2 seconds.*

7.2 *All digestion vessels and volumetric ware must be carefully acid washed and rinsed with reagent water. When switching between high concentration samples and low concentration samples, all digestion vessels (fluoropolymer liners only) should be cleaned by leaching with hot (1:1) hydrochloric acid (greater than 80°C, but less than boiling) for a minimum of two hours followed with hot (1:1) nitric acid (greater than 80°C, but less than boiling) for a minimum of two hours and rinsed with reagent water and dried in a clean environment. This cleaning procedure should also be used whenever the prior use of the digestion vessels is unknown or cross contamination from vessels is suspected. Polymeric or glass volumetric ware (not used with HF) and storage containers should be cleaned by leaching with more dilute acids (approximately 10% V/V) appropriate for the specific plastics used and then rinsed with reagent water and dried in a clean environment. To avoid precipitation of silver, ensure that all HCl has been rinsed from the vessels.*

6.2 Sample Digestion

7.3.1 *Weigh a well-mixed sample to the nearest 0.001 g into an appropriate vessel equipped with a pressure relief mechanism.*

For soils, ash, sediments, sludges, and siliceous wastes, initially use no more than 0.5 g. For oil or oil contaminated soils, initially use no more than 0.25 g.

7.3.2 Add 9 ± 0.1 mL concentrated nitric acid and 3 ± 0.1 mL concentrated hydrofluoric acid to the vessel in a fume hood. If the approximate silicon dioxide content of the sample is known, the quantity of hydrofluoric acid may be varied from 0 to 5 mL for stoichiometric reasons. Samples with higher concentrations of silicon dioxide (> 70%) may require higher concentrations of hydrofluoric acid (>3 mL HF). Alternatively samples with lower concentrations of silicon dioxide (< 10% to 0%) may require much less hydrofluoric acid (0.5 mL to 0 mL). Examples are presented in Table 1, 2, 3, and 6. Acid digestion reagent combinations used in the analysis of several matrices, listed in Table 7, provide guidance for the development of new matrix decomposition procedures.

7.3.3 The addition of other reagents with the original acids prior to digestion may permit more complete oxidation of organic sample constituents, address specific decomposition chemistry requirements, or address specific elemental stability and solubility problems.

The addition of 2 ± 2 mL concentrated hydrochloric acid to the nitric and hydrofluoric acids is appropriate for the stabilization of Ag, Ba, and Sb and high concentrations of Fe and Al in solution. The amount of HCl needed will vary depending on the matrix and the concentration of the analytes. The addition of hydrochloric acid may; however, limit the techniques or increase the difficulties of analysis. Examples are presented in Table 4.

The addition of hydrogen peroxide (30%) in small or catalytic quantities (such as 0.1 to 2 mL) may aid in the complete oxidation of organic matter.

The addition of water (double deionized) may (0 to 5 mL) improve the solubility of minerals and prevent temperature spikes due to exothermic reactions.

NOTE: Supporting documentation for the chemistry of this method has been prepared in chapters 2 and 3 of reference 3. It provides additional guidance and documentation of appropriate reagent, matrix and analyte combinations that can be employed in this method.

CAUTION: Only one acid mixture or quantity may be used in a single batch in the microwave to insure consistent reaction conditions between all vessels and monitored conditions.

This limitation is due to the current practice of monitoring a representative vessel and applying a uniform microwave field to reproduce these reaction conditions within a group of vessels being simultaneously heated.

CAUTION: Toxic nitrogen oxide(s), hydrogen fluoride, and toxic chlorine (from the addition of hydrochloric acid) fumes are usually produced during digestion. Therefore, all steps involving open or the opening of microwave vessels must be performed in a properly operating fume ventilation system.

CAUTION: The analyst should wear protective gloves and face protection and must not at any time permit a solution containing hydrofluoric acid to come in contact with skin or lungs.

CAUTION: The addition of hydrochloric acid must be from concentrated hydrochloric acid and not from a premixed combination of acids as a buildup of toxic chlorine and possibly other gases will result from a premixed acid solution. This will over pressurize the vessel due to the release of these gases from solution upon heating. The gas effect is greatly lessened by following this suggestion.

CAUTION: When digesting samples containing volatile or easily oxidized organic compounds, initially weigh no more than 0.10 g and observe the reaction before capping the vessel. If a vigorous reaction occurs, allow the reaction to cease before capping the vessel. If no appreciable reaction occurs, a sample weight up to 0.25 g can be used.

CAUTION: *The addition of hydrogen peroxide should only be done when the reactive components of the sample are known. Hydrogen peroxide may react rapidly and violently on easily oxidizable materials and should not be added if the sample may contain large quantities of easily oxidizable organic constituents.*

7.3.4 The analyst should be aware of the potential for a vigorous reaction. If a vigorous reaction occurs upon the initial addition of reagent or the sample is suspected of containing easily oxidizable materials, allow the sample to predigest in the uncapped digestion vessel. Heat may be added in this step for safety considerations (for example the rapid release of carbon dioxide from carbonates, easily oxidized organic matter, etc.). Once the initial reaction has ceased, the sample may continue through the digestion procedure.

7.3.5 Seal the vessel according to the manufacturer's directions. Properly place the vessel in the microwave system according to the manufacturer's recommended specifications and connect appropriate temperature and pressure sensors to vessels according to manufacturer's specifications.

7.3.6 This method is a performance based method, designed to achieve or approach total decomposition of the sample through achieving specific reaction conditions.

The temperature of each sample should rise to 180 ± 5 °C in approximately 5.5 minutes and remain at 180 ± 5 °C for 9.5 minutes. The temperature-time and pressure-time profile are given for a standard soil sample in Figure 1. The number of samples simultaneously digested is dependent on the analyst. The number may range from 1 to the maximum number of vessels that the microwave units magnetron can heat according to the manufacturer's or literature specifications (the number will depend on the power of the unit, the quantity and combination of reagents, and the heat loss from the vessels).

The pressure should peak between 5 and 15 minutes for most samples (Ref. 2, 3, 5). If the pressure exceeds the pressure limits of the vessel, the pressure will be reduced by the relief mechanism of the vessel.

The total decomposition of some components of a matrix may require or the reaction kinetics are dramatically improved with higher reaction temperatures. If microwave digestion systems and/or vessels are capable of achieving higher temperatures and pressures, the minimum digestion time of 9.5 minutes at a temperature of at least $180 \pm 5^\circ\text{C}$ is an appropriate alternative. This change will permit the use of pressure systems if the analysis verifies that 180°C is the minimum temperature maintained by these control systems.

7.3.6.1 For reactive substances, the heating profile may be altered for safety purposes. The decomposition is primarily controlled by maintaining the reagents at $180 \pm 5^\circ\text{C}$ for 9.5 minutes, therefore the time it takes to heat the samples to $180 \pm 5^\circ\text{C}$ is not critical. The samples may be heated at a slower rate to prevent potential uncontrollable exothermic reactions. The time to reach $180 \pm 5^\circ\text{C}$ may be increased to 10 minutes provided that $180 \pm 5^\circ\text{C}$ is subsequently maintained for 9.5 minutes. Decomposition profiles are presented in Figures 1 and 2. The extreme difference in pressure is due to the gaseous digestion products.

7.3.6.2 Calibration control is applicable in reproducing this method provided the power in watts versus time parameters are determined to reproduce the specifications listed in 7.3.6. The calibration settings will be specific to the quantity and combination of reagents, quantity of vessels, and heat loss characteristics of the vessels (Ref 1).

If calibration control is being used, any vessels containing acids for analytical blank purposes are counted as sample vessels and when fewer than the recommended number of samples are to be digested, the remaining vessels should be filled with the same acid mixture to achieve the full complement of vessels. This provides an energy balance, since the microwave power absorbed is proportional to the total absorbed mass in the cavity (Ref. 1).

Irradiate each group of vessels using the predetermined calibration settings. (Different vessel types should not be mixed).

7.3.6.3 Pressure control for a specific matrix is applicable if instrument conditions are established using temperature control. Because each matrix will have a different reaction profile, performance using temperature control must be developed for every specific matrix type prior to use of the pressure control system.

7.3.7 At the end of the microwave program, allow the vessels to cool for a minimum of 5 minutes before removing them from the microwave system. When the vessels have cooled to near room temperature, determine if the microwave vessels have maintained a seal throughout the digestion. Due to the wide variability of vessel designs, a single procedure is not appropriate. For vessels that are sealed as discrete separate entities, the vessel weight may be taken before and after digestion to evaluate seal integrity. If the weight loss of sample exceeds 1% of the weight of the sample and reagents, then the sample is considered compromised.

For vessels with burst disks, a careful visual inspection of the disk may identify compromised vessels. For vessels with resealing pressure relief mechanisms, an auditory or sometimes a physical sign indicates a vessel has vented.

7.3.8 Complete the preparation of the sample by carefully uncapping and venting each vessel in a fume hood. Vent the vessels using the procedure recommended by the vessel manufacturer. Transfer the sample to an acid-cleaned bottle. If the digested sample contains particulates which may clog nebulizers or interfere with injection of the sample into the instrument, the sample may be centrifuged, allowed to settle, or filtered.

7.3.8.1 Centrifugation: Centrifugation at 2,000 - 3,000 rpm for 10 minutes is usually sufficient to clear the supernatant.

7.3.8.2 Settling: If undissolved material remains such as TiO₂, or other refractory oxides, allow the sample to stand until the supernatant is clear. Allowing a sample to stand overnight will usually accomplish this. If it does not, centrifuge or filter the sample.

7.3.8.3 *Filtering: If necessary, the filtering apparatus must be thoroughly cleaned and prerinsed with dilute (approximately 10% V/V) nitric acid. Filter the sample through qualitative filter paper into a second acid-cleaned container.*

7.3.9 *If the hydrofluoric acid concentration is a consideration in the analysis technique such as with ICP methods, boric acid may be added to permit the complexation of fluoride to protect the quartz plasma torch. The amount of acid added may be varied, depending on the equipment and the analysis procedure. If this option is used, alterations in the measurement procedure to adjust for the boric acid and any bias it may cause are necessary. This addition will prevent the measurement of boron as one of the elemental constituents in the sample. Alternatively, a hydrofluoric acid resistant ICP torch may be used and the addition of boric acid would be unnecessary for this analytical configuration. All major manufacturers have hydrofluoric resistant components available for the analysis of solutions containing hydrofluoric acid.*

CAUTION: *The traditional use of concentrated solutions of boric acid can cause problems by turning the digestion solution cloudy or result in a high salt content solution interfering with some analysis techniques. Dilute solutions of boric acid or other methods of neutralization or reagent elimination are appropriate to avoid problems with HF and the glass sample introduction devices of analytical instrumentation. Gentle heating often serves to clear cloudy solutions. Matrix matching of samples and standards will eliminate viscosity differences.*

7.3.10 *the removal or reduction of the quantity of the hydrochloric and hydrofluoric acids prior to analysis may be desirable. The chemistry and volatility of the analytes of interest should be considered and evaluated when using this alternative. Evaporation to near dryness in a controlled environment with controlled pure gas and neutralizing and collection of exhaust interactions is an alternative where appropriate. This manipulation may be performed in the microwave system, if the system is capable of this function, or external to the microwave system in more common apparatus(s).*

This option must be tested and validated to determine analyte retention and loss and should be accompanied by equipment validation possibly using the standard addition method and standard reference materials. This alternative may be used to alter either the acid concentration and/or acid composition. Note: The final solution typically requires nitric acid to maintain appropriate sample solution acidity and stability of the elements. Commonly, a 2% (v/v) nitric acid concentration is desirable. Examples of analysis performed with and without removal of the hydrofluoric acid are presented in Table 5. Waste minimization techniques should be used to capture reagent fumes. This procedure should be tested and validated in the apparatus and on standards before using on unknown samples.

7.3.11 Transfer or decant the sample into volumetric ware and dilute the digest to a known volume. The digest is now ready for analysis for elements of interest using appropriate elemental analysis techniques and/or SW-846 methods.

7.3.12 Sample size may be scaled-up from 0.1, 0.25, or 0.5 g to 1.0 g through a series of 0.2g sample size increments. Scale-up can produce different reaction conditions and/or produce increasing gaseous reaction products. Increases in sample size may not require alteration of the acid quantity or combination, but other reagents may be added to permit a more complete decomposition and oxidation of organic and other sample constituents where necessary (such as increasing the HF for the complete destruction of silicates). Each step of the scale-up must demonstrate safe operation before continuing.

7.4 Calculations: *The concentrations determined are to be reported on the basis of the actual weight of the original sample.*

7.5 Calibration of Microwave Equipment

NOTE: *If the microwave unit uses temperature feedback control to follow performance specifications of the method, then the calibration procedure will not be necessary.*

7.5.1 Calibration is the normalization and reproduction of a microwave field strength to permit reagent and energy coupling in a predictable and reproducible manner. It balances reagent heating and heat loss from the vessels and is equipment dependent due to the heat retention and loss characteristics of the specific vessel. Available power is evaluated to permit the microwave field output in watts to be transferred from one microwave system to another.

Use of calibration to control this reaction requires balancing output power, coupled energy, and heat loss to reproduce the temperature heating profile in section 7.3.6. The conditions for each acid mixture and each batch containing the same specified number of vessels must be determined individually. Only identical acid mixtures and vessel models and specified numbers of vessels may be used in a given batch.

7.5.2 For cavity type microwave equipment, this is accomplished by measuring the temperature rise in 1 kg of water exposed to microwave radiation for a fixed period of time. The analyst can relate power in watts to the partial power setting of the system. The calibration format required for laboratory microwave systems depends on the type of electronic system used by the manufacturer to provide partial microwave power. Few systems have an accurate and precise linear relationship between percent power settings and absorbed power.

Where linear circuits have been utilized, the calibration curve can be determined by a three-point calibration method (7.5.4), otherwise, the analyst must use the multiple point calibration method (7.5.3).

7.5.3 The multiple point calibration involves the measurement of absorbed power over a large range of power settings. Typically, for a 600 W unit, the following power settings are measured; 100, 99, 98, 97, 95, 90, 80, 70, 60, 50, and 40% using the procedure described in section 7.5.5. This data is clustered about the customary working power ranges. Nonlinearity has been encountered at the upper end of the calibration. If the system's electronics are known to have nonlinear deviations in any region of proportional power control, it will be necessary to make a set of measurements that bracket the power to be used.

The final calibration point should be at the partial power setting that will be used in the test. This setting should be checked periodically to evaluate the integrity of the calibration. If a significant change is detected (± 10 W), then the entire calibration should be reevaluated.

7.5.4 The three-point calibration involves the measurement of absorbed power at three different power settings. Measure the power at 100% and 50% using the procedure described in section 7.5.5. From the 2-point line calculate the power setting corresponding to the required power in watts specified in the procedure. Measure the absorbed power at that partial power setting. If the measured absorbed power does not correspond to the specified power within ± 10 W, use the multiple point calibration in 7.5.3. This point should also be used to periodically verify the integrity of the calibration.

7.5.5 Equilibrate a large volume of water to room temperature (23 ± 2 °C). One kg of reagent water is weighed ($1,000.0$ g \pm 0.1 g) into a suitably inert polymeric beaker or a beaker made of some other material that does not significantly absorb microwave energy (glass absorbs microwave energy and is not recommended). The initial temperature of the water should be 23 ± 2 °C measured to ± 0.05 °C. The covered beaker is circulated continuously (in the normal sample path) through the microwave field for 2 minutes at the desired partial power setting with the system's exhaust fan on maximum (as it will be during normal operation). The beaker is removed and the water vigorously stirred. Use a magnetic stirring bar inserted immediately after microwave irradiation and record the maximum temperature within the first 30 seconds to ± 0.05 °C. Use a new sample for each additional measurement. If the water is reused, both the water and the beaker must have returned to 23 ± 2 °C. Three measurements at each power setting should be made.

The absorbed power is determined by the following relationship:

Equation 1

$$P = \frac{KC_{pm} \Delta T}{t}$$

Where:

P	=	<i>the apparent power absorbed by the sample in watts (W, $W = \text{joule sec}^{-1}$)</i>
K	=	<i>the conversion factor for thermochemical calories_{sec}⁻¹ to watts (which equals 4.184)</i>
C_p	=	<i>the heat capacity, thermal capacity, or specific heat ($\text{cal g}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$) of water</i>
m	=	<i>the mass of the water sample in grams (g)</i>
ΔT	=	<i>the final temperature minus the initial temperature ($^\circ\text{C}$)</i>
t	=	<i>the time in seconds (s)</i>

Using the experimental conditions of 2 minutes and 1 kg of distilled water (heat capacity at 25 $^\circ\text{C}$ is $0.9997 \text{ cal g}^{-1} \text{ } ^\circ\text{C}^{-1}$) the calibration equation simplifies to:

$$P = 34.86)T$$

NOTE: Stable line voltage is necessary for accurate and reproducible calibration and operation. The line voltage should be within manufacturer's specification, and during measurement and operation should not vary by more than $\pm 5 \text{ V}$. Electronic components in most microwave units are matched to the system's function and output. When any part of the high voltage circuit, power source, or control components in the system have been serviced or replaced, it will be necessary to recheck the system's calibration. If the power output has changed significantly ($\pm 10 \text{ W}$), then the entire calibration should be reevaluated.

8.0 QUALITY CONTROL

8.1 All quality control data must be maintained and available for reference or inspection for a period determined by all involved parties based on program or project requirements.

This method is restricted to use by, or under supervision of, experienced analysts. Refer to the appropriate section of Chapter One for additional quality control guidance.

8.2 Duplicate samples should be processed on a routine basis. A duplicate sample is a sample brought through the whole sample preparation and analytical process.

A duplicate sample should be processed with each analytical batch or every 20 samples, whichever is the greater number. A duplicate sample should be prepared for each matrix type (i.e., soil, sludge, etc.).

8.3 Spiked samples and/or standard reference materials should be included with each group of samples processed or every 20 samples, whichever is the greater number. A spiked sample should also be included whenever a new sample matrix is being analyzed.

8.4 Blank samples should be prepared using the same reagents and quantities used in sample preparation, placed in vessels of the same type, and processed with the samples.

9.0 METHOD PERFORMANCE

9.1 Precision: Precision data for Method 3052 are presented in the tables of this method. Tables 1 through 6 provide a summary of total elemental analysis.

9.2 The performance criteria are provided as an example in Figure 1. The temperature profile will be within ± 5 °C of the mean of the temperature profile, but the pressure curve will vary depending on the acid mixture and gaseous digestion products and the thermal insulating properties of the vessel. Figure 2 provides criteria for the digestion of an oil sample.

10.0 REFERENCES

1. Introduction to Microwave Sample Preparation: Theory and Practice, Kingston, H. M. and Jassie, L. B., Eds.; ACS Professional Reference Book Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1988.
2. Kingston, H. M., Walter, P. J., Comparison of Microwave Versus Conventional Dissolution for Environmental Applications, *Spectroscopy*, Vol. 7 No. 9, 20-27, 1992.
3. Kingston, H. M., Haswell, S., Microwave Enhanced Chemistry, ACS Professional Reference Book Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1997.
4. Kingston, H. M.; Walter, P. J.; Lorentzen, E. M. L.; Lusnak, G. P. Report to NIST Office of Standard Reference Materials, The Performance of Leaching Studies on Soil SRMs 2710 and 2711, Duquesne University, Pittsburgh, PA, 1994.
5. Kingston, H. M. EPA IAG #DWI-393254-01-0 January 1-March 31, 1988, quarterly Report.
6. Kingston, H. M. and Jassie, L. B., "Safety Guidelines for Microwave Systems in the Analytical Laboratory". In Introduction to Microwave Acid Decomposition: Theory and Practice; Kingston, H. M. and Jassie, L. B., eds.; ACS Professional Reference Book Series; American Chemical Society: Washington, DC, 1988.
7. 1985 Annual Book of ASTM Standards, Vol. 11.01; "Standard Specification for Reagent Water"; ASTM, Philadelphia, PA, 1985, D1193-77.
8. Kingston, H. M.; Walter, P. J.; Link, D. D. Validation Study and Unpublished Data, Duquesne University, Pittsburgh, PA, 1995.

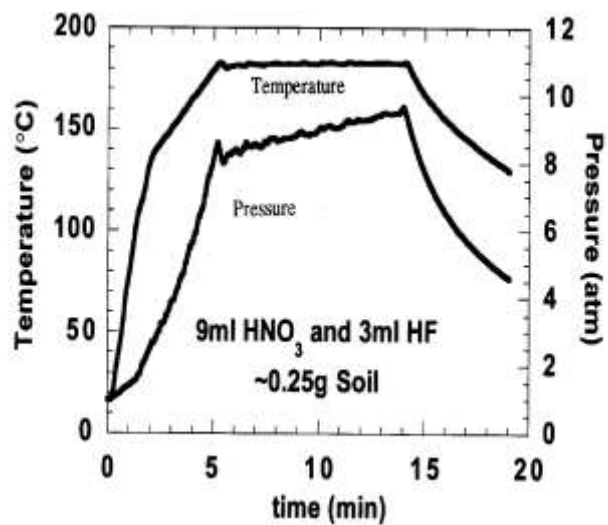


FIGURE 1. TYPICAL REACTION PROFILE FOR THE DIGESTION OF A SOIL (REF. 4 AND 8)

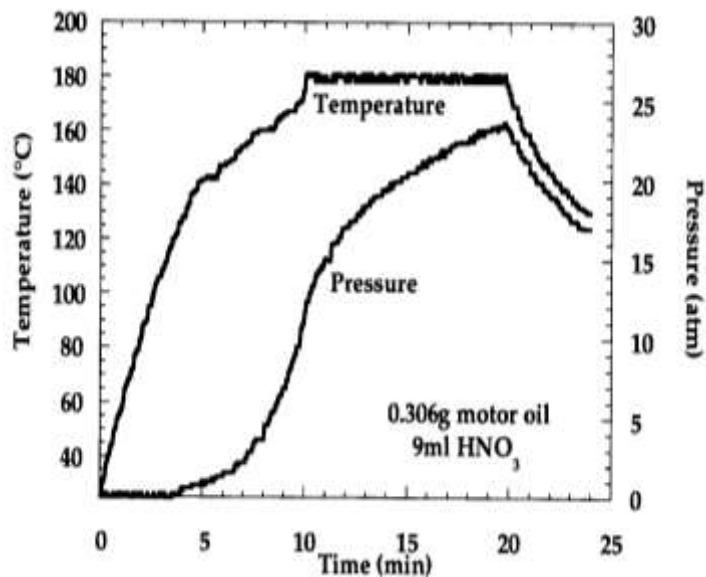


FIGURE 2. TYPICAL REACTION PROFILE FOR THE DIGESTION OF AN OIL (REF. 8)

TABLE 1
ANALYSIS OF NIST SRM 2704 (COMPILATION OF REFS. 2 AND 3)^a
BUFFALO RIVER SEDIMENT

<i>Element</i>	<i>Analyzed ($\mu\text{g/g}$)</i>	<i>Certified ($\mu\text{g/g}$)</i>
<i>Copper (n=6)</i>	<i>98.0 \pm 4.2</i>	<i>98.6 \pm 5.0</i>
<i>Lead (n=6)</i>	<i>155 \pm 9.2</i>	<i>161 \pm 17</i>
<i>Mercury (n=4)</i>	<i>1.49 \pm 0.14</i>	<i>1.44 \pm 0.07</i>
<i>Nickel (n=6)</i>	<i>43.6 \pm 3.9</i>	<i>44.1 \pm 3.0</i>
<i>Phosphorus (n=4)</i>	<i>1.016 \pm 0.016 mg/g</i>	<i>0.998 \pm 0.028 mg/g</i>
<i>Selenium (n=4)</i>	<i>1.13 \pm 0.9</i>	<i>(1.1)</i>
<i>Sulfur (n=4)</i>	<i>3.56 \pm 0.16</i>	<i>-----</i>
<i>Thallium (n=4)</i>	<i>1.15 \pm 0.22</i>	<i>1.2 \pm 0.2</i>
<i>Uranium (n=4)</i>	<i>2.97 \pm 0.04</i>	<i>3.13 \pm 0.13</i>
<i>Zinc (n=6)</i>	<i>441.9 \pm 0.8</i>	<i>438 \pm 12</i>

^a Digestion with 9 mL HNO₃ and 4 mL HF. Temperature and pressure conditions are as described in Section 7.3.6 of this method and similar to Figure 1. Data reported with 95% confidence intervals.

TABLE 2
ANALYSIS OF NIST SRM 2710 (REFS. 4 AND 3)^a
MONTANA SOIL: HIGHLY ELEVATED TRACE ELEMENT CONCENTRATIONS
(n=6)

Element	Analyzed (µg/g)	Certified (µg/g)
Antimony	^b 39.3 ± 0.9	38.4 ± 3.0
Cadmium	^a 21.9 ± 0.7	21.8 ± 0.2
Chromium	^b 34.0 ± 3.2	(39)
Copper	^a 2902 ± 83	2950 ± 130
Lead	^a 5425 ± 251	5532 ± 80
Nickel	^a 13.5 ± 1.0	14.3 ± 1.0
Silver	^b 36.6 ± 0.5	35.3 ± 1.5
Zinc	^a 7007 ± 111	6952 ± 91

^a Digestion with either a. 9 mL HNO₃ and 4 mL HF or b. 9 mL HNO₃, 3 mL HF, & 2 mL HCl. Temperature and pressure conditions are as described in Sec. 7.3.6 of this method and similar to Figure 1. Data reported with 95% confidence intervals.

TABLE 3
NIST SRM 2711 (REFS. 4 AND 3)
MONTANA SOIL: MODERATELY ELEVATED TRACE ELEMENT
CONCENTRATIONS (n=6)

Element	Analyzed (µg/g)	Certified (µg/g)
Cadmium	40.5 ± 1.0	41.70 ± 0.25
Chromium	45.5 ± 1.0	(47)
Copper	106.8 ± 3.4	114 ± 2
Lead	1161 ± 49	1162 ± 31
Nickel	19.6 ± 0.9	20.6 ± 1.1
Silver	4.3 ± 1.0	4.63 ± 0.39
Zinc	342 ± 9.4	350.4 ± 4.8

^a Digestion with 9 mL HNO₃ and 4 mL HF. Temperature and pressure conditions are as described in Sec. 7.3.6 of this method and similar to Figure 1. Data reported with 95% confidence intervals.

TABLE 4
 STABILIZATION AND RECOVERY OF ELEMENTS WITH HCl (REF. 3)^a NIST SRM
 2710 MONTANA SOIL: HIGHLY ELEVATED TRACE ELEMENT
 CONCENTRATIONS (n=6)

Element	HNO ₃ & HF (µg/g)	HNO ₃ , HF & HCl (µg/g)	Certified (µg/g)
Antimony	33.1 ± 2.1	39.3 ± 0.9	38.4 ± 3.0
Silver	10.6 ± 4.5	36.6 ± 0.5	35.3 ± 1.5

^a HNO₃ and HF - Digestion used 9 mL and 3 mL, respectively.

HNO₃, HF, and HCl - Digestion used 9 mL, 3 mL, and 2 mL respectively.

Temperature and pressure conditions are as described in Sec. 7.3.6 of this method and similar to Figure 1. Data reported with 95% confidence intervals.

TABLE 5
 FUMING OFF HYDROFLUORIC ACID WITH MICROWAVE EVAPORATION SYSTEM
 (REF 3)^a MONTANA SOIL: HIGHLY ELEVATED TRACE ELEMENT CONCENTRATIONS
 (n=4)

Element	Direct (µg/g)	Fumed (µg/g)	Certified (µg/g)
Antimony	39.3 ± 0.9	39.4 ± 0.9	38.4 ± 3.0
Cadmium	21.9 ± 0.7	23.3 ± 1.6	21.8 ± 0.2
Chromium	34.0 ± 3.2	32.4 ± 0.4	(39)
Copper	2902 ± 83	2870 ± 150	2950 ± 130
Lead	5425 ± 251	5502 ± 106	5532 ± 80
Nickel	13.5 ± 1.0	13.5 ± 0.8	14.3 ± 1.0
Silver	36.6 ± 0.5	38.9 ± 1.1	35.3 ± 1.5
Zinc	7007 ± 111	3992 ± 132	6952 ± 91

^a Direct - Digestion used 9 mL HNO₃ and 3 mL HCl or 9 mL HNO₃, 3 mL HF, and 2 mL HCl Fumed - Digestion used 9 mL HNO₃ and 3 mL HCl followed by the removal of the HF.

Temperature and pressure conditions are as described in 7.3.6 of the method and similar to Figure 1. The digest solution was fumed in a microwave system under vacuum to ~1 mL and 3 mL HCl added. The digest solution was fumed to ~1 mL and 3 mL HNO₃ was added. The solution was fumed for a final step to ~1 mL and quantitatively transferred and diluted to final volume. Data reported with 95% confidence intervals.

TABLE 6
ANALYSIS OF NIST SRM 1084A (REF. 8)^a WEAR METALS IN OIL (100 ppm) (n=4)

<i>Element</i>	<i>Analyzed (µg/g)</i>	<i>Certified (µg/g)</i>
<i>Chromium</i>	98.1 ± 1.1	98.3 ± 0.8
<i>Copper</i>	$1.2.4 \pm 2.4$	100.0 ± 1.9
<i>Lead</i>	99.2 ± 2.3	101.1 ± 1.3
<i>Nickel</i>	99.2 ± 2.4	99.7 ± 1.6
<i>Silver</i>	102.7 ± 2.2	101.4 ± 1.5

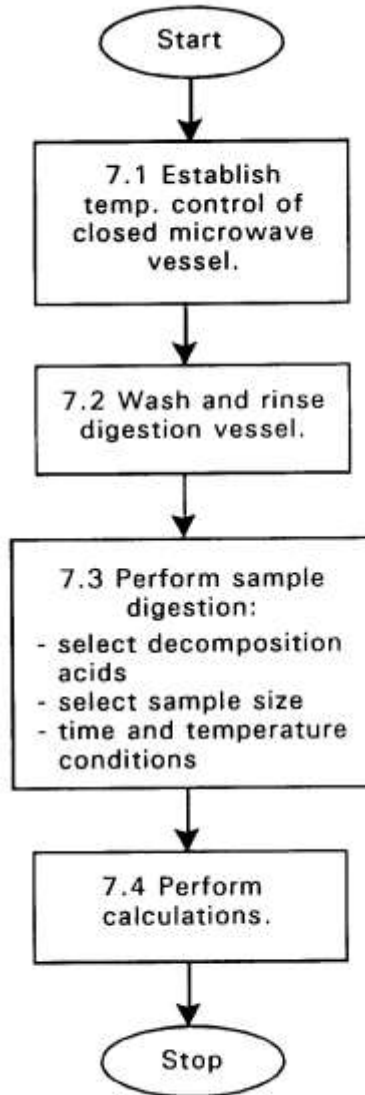
^a Digestion with 9 mL HNO₃ and 0.5 mL HF. Temperature and pressure conditions are as described in Sec. 7.3.6 of this method and similar to Figure 2. Data reported with 95% confidence intervals.

TABLE 7
DIGESTION PARAMETERS USED IN THE ANALYSIS OF SEVERAL MATRICES
BY METHOD 3052

Matrix	HNO ₃	HF	HCl
Soil			
NIST SRM 2710 Highly Contaminated Montana Soil	9 mL	3 mL	0-2*mL
NIST SRM 2711 Moderately Contaminated Montana Soil	9	3	0-2*
Sediment			
NIST SRM 2704 Buffalo River Sediment	9	3	0-2*
Biological			
NIST SRM 1566a Oyster Tissue	9	0	0
NIST SRM 1577a Bovine Liver	9	0	0
Botanical			
NIST SRM 1515 Apple Leaves	9	0	0
NIST SRM 1547 Peach Leaves	9	0	0
NIST SRM 1572 Citrus Leaves	9	0.5	0
Waste Oil			
NIST SRM 1084a Wear-Metals in Lubricating Oil	9	0.5	0-2*

*HCl is added to stabilize elements such as Ag and Sb when they are analyzed.

METHOD 3052
MICROWAVE ASSISTED ACID DIGESTION OF SILICEOUS AND
ORGANICALLY BASED MATRICES



”