

# Comparación de distintos procedimientos analíticos para la determinación de Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn en material vegetal

por E. Millán y A. Abadía

Estación Experimental de Aula Dei, ZARAGOZA

---

Recibido el 21-IX-1981

---

## ABSTRACT

MILLÁN, E. and ABADÍA, A., 1981.—Comparison of several analysis procedures in the determination of Ca, Mg, Fe, Mn, Cu and Zn in plant tissues, *An. Aula Dei*, 15 (3-4): 332-42.

Total Ca, Mg, Fe, Mn, Cu and Zn content, in ten plant species (alfalfa, oat, wheat, corn, potato, grape, cistus, olive, peach and pear trees) were measured.

The solutions for analysis were prepared by wet digestion or dry ashing plant tissues. The ashes were dissolved by two different procedures. Atomic absorption spectroscopy was used for determining Ca, Mg, Fe, Mn, Cu and Zn. In addition Ca and Mg were analysed by EDTA titration methods.

For copper, zinc and magnesium, in several species some equivalences among different methods were found.

The use of hydrochloric acid was suitable for preventing iron losses in diluted ashes. For calcium determination, the final solution should contain lanthanum, since this element overcomes anionic interferences in plant analysis.

## INTRODUCCION

El análisis de material vegetal es imprescindible cuando se desea estimar el nivel de nutrientes en planta, pudiéndose detectar mediante su uso desequilibrios nutricionales que permiten atender a las correcciones necesarias con el tratamiento adecuado.

Han sido muchos los trabajos realizados para establecer las concentraciones críticas de nutrientes en distintos cultivos vegetales (CHAPMAN, 1966; SULLIVAN, 1972; GERALDSON, KLACAN y LORENZ, 1973).

Para que el análisis de planta pueda ser utilizado como método de diagnóstico efectivo han de cumplirse una serie de condiciones que incluyen desde la estandarización del acondicionamiento y preparación de la muestra hasta la interpretación de los resultados obtenidos teniendo en cuenta unos valores de referencia que permitan el diagnóstico en una determinada muestra, pasando por la aplicación en el laboratorio de los métodos analíticos en serie.

En este propósito se aunan los esfuerzos de muchos países para intentar adoptar unos métodos de referencia en la determinación de los elementos minerales que posean validez general (C.I.I., 1968, 1972; PINTA y C.I.I., 1975; A.O.A.C., 1980).

Con tal ánimo se ha planteado el presente trabajo, donde se trata de estudiar, en distintos cultivos vegetales, las diferencias existentes en los valores de Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn, utilizando diversos procedimientos analíticos.

## M A T E R I A L Y M E T O D O S

Se han empleado muestras de diez especies vegetales abarcando una amplia gama de cultivos: alfalfa, avena, trigo, maíz, olivo, viña, patata, jara, melocotonero y peral.

Las muestras han sido tomadas de acuerdo con las normas, generalmente establecidas para el diagnóstico foliar de cada una de las especies y proceden del banco disponible en el Departamento de Fertilidad de Suelos y Nutrición Vegetal.

Todas las determinaciones de los elementos se han realizado por triplicado.

### I. Descripción de los métodos

#### *1.1. Mineralización del material vegetal*

Para ello se ha realizado calcinación en mufla y digestión (vía húmeda:  $\text{HNO}_3$ - $\text{HClO}_4$ ). A partir de la primera son dos los caminos seguidos, uno, disolución de las cenizas con  $\text{HNO}_3$  concentrado (utiliza-

do normalmente en el laboratorio) y el otro, variante del anterior, calcinación modificada (utilizado por la Universidad de Nebraska).

### *1.1.a. Disolución con HNO<sub>3</sub> concentrado*

Se pesa en crisol 1 g de material vegetal. Se coloca en la mufla durante 48 horas a  $500 \pm 5$  °C. Se deja enfriar y se añaden al crisol 1-2 ml de agua desionizada y 5 ml de HNO<sub>3</sub> concentrado (densidad 1,33 g/ml).

Una vez disuelto se filtra y afora en matraz de 25 ml.

### *1.1.b. Procedimiento de la Universidad de Nebraska (KNUDSEN, HASSAN y HUGGER, 1973).*

También se parte de 1 g de material vegetal. Una vez pesado en el crisol se introduce en la mufla durante 4 horas, incrementando la temperatura desde 105 a 550 °C. Se deja enfriar y se añaden 2 ml de HNO<sub>3</sub> 5 N, se evapora casi a sequedad y se lleva de nuevo a la mufla durante 2 horas a 500 °C. Una vez enfriado se añaden 5 ml de HNO<sub>3</sub> 1 N, dejando reposar de 30 minutos a 1 hora. Después se incorporan, con agitación, 15 ml de HCl 0,1 N; finalmente se filtra y enrasa a 25 ml con agua desionizada, en matraz aforado.

### *1.1.c. Digestión por vía húmeda*

Se ha seguido el procedimiento señalado por ALLAN (1959).

A 1 g de muestra se añaden 20 ml de una mezcla de una parte de HClO<sub>4</sub> al 60% y cinco partes de HNO<sub>3</sub>. Se calienta hasta la aparición de humos blancos. Una vez enfriado se afora con agua desionizada en matraz de 25 ml.

## *1.2. Determinación de calcio y magnesio*

Para la valoración de estos elementos se utiliza complexometría y absorción atómica. Dentro de ésta se emplea solución de lantano o de estroncio para evitar interferencias.

### *1.2.1. Por complexometría*

Se determina en primer lugar el calcio. A partir de 1 ml de alícuota del problema, diluida a 25 ml con agua desionizada, se añaden luego cianuro potásico, trietanolamina y NaOH 4 N. Se incorpora una pizca de calcón, todo ello con agitación y se valora frente a EDTA 0,02 N.

El calcio más magnesio se analiza también con EDTA 0,02 N, modificando las condiciones del medio al sustituir el hidróxido sódico por una solución buffer de acético-acetato amónico. Como indicador se utiliza una mezcla de negro de eriocromo T y rojo de metilo.

La descripción más detallada del método figura en el trabajo de ABADÍA, MILLÁN y ABADÍA (1981).

El magnesio se calcula por diferencia entre las dos valoraciones anteriores.

### *1.2.2. Por absorción atómica*

#### *1.2.2.a. Con solución de cloruro de estroncio*

Se toma una alícuota de 1 ml y se lleva a 50 ml con solución de cloruro de estroncio de manera que la concentración de estroncio, tanto en problema como en la estándar, sea de 5.000 ppm.

#### *1.2.2.b. Con solución de lantano al 0,3 %*

De acuerdo con el C.I.I. (1972): a 1 ml de alícuota se añade otro de HCl concentrado y 5 ml de solución de lantano al 3%. Se enrasa a 50 ml con agua desionizada.

La estándar se prepara del mismo modo para que todas las soluciones posean al final 3.000 ppm de lantano.

### *1.3. Determinación de Fe, Mn, Cu y Zn*

Los cuatro elementos se analizan empleando un espectrofotómetro de absorción atómica (PERKIN-ELMER 303), por lectura directa de los extractos y con las estándar adecuadas.

## **RESULTADOS Y DISCUSION**

Los valores obtenidos referidos a materia seca, media de las tres repeticiones, para cada especie, figuran en los cuadros 1 (Fe, Mn, Cu, y Zn) y 2 (Ca y Mg).

En el cuadro 1 puede señalarse que, para el hierro, los mayores niveles se obtienen o por digestión o por calcinación modificada. Los valores encontrados por empleo de esta última suponen de 1,23 a 1,78 veces los determinados siguiendo el procedimiento habitual del laboratorio.

Detallando un poco más el punto anterior vemos que tres cultivos (alfalfa, avena y trigo) proporcionan, al efectuar el ataque vía húme-

CUADRO 1.—Hierro, manganeso, cobre y cinc (ppm) en los 10 cultivos analizados, según el procedimiento de mineralización.

Planta	Elemento	Calcinación		Digestión
		Normal	Modificada	Vía húmeda
Alfalfa	Fe	105,0	187,1	210,0
	Mn	21,7	20,8	32,5
	Cu	12,9	15,4	13,8
	Zn	14,2	17,5	13,8
Avena	Fe	40,0	50,4	57,5
	Mn	30,8	29,6	35,0
	Cu	11,3	13,8	12,5
	Zn	19,2	20,0	15,0
Maiz	Fe	39,2	58,3	20,0
	Mn	23,3	19,0	20,0
	Cu	8,3	15,2	12,5
	Zn	24,2	25,4	13,8
Melocotonero	Fe	73,3	105,8	100,8
	Mn	27,1	25,0	35,0
	Cu	12,5	14,2	13,0
	Zn	18,8	17,3	12,5
Olivo	Fe	46,7	79,6	45,0
	Mn	26,3	27,5	34,2
	Cu	12,5	15,2	13,0
	Zn	16,3	15,6	12,5
Patata	Fe	130,0	177,5	159,2
	Mn	153,8	165,0	174,6
	Cu	21,3	25,7	27,5
	Zn	64,6	93,3	105,3
Peral	Fe	84,2	114,2	78,3
	Mn	13,8	10,0	19,2
	Cu	12,1	17,8	12,5
	Zn	126,3	126,8	131,9
Trigo	Fe	28,3	47,5	53,3
	Mn	21,3	10,4	29,6
	Cu	7,5	7,5	12,5
	Zn	15,0	14,5	15,4
Viña	Fe	129,2	214,2	190,8
	Mn	63,8	66,6	55,4
	Cu	42,5	43,2	47,5
	Zn	16,3	15,2	13,6
Jara	Fe	85,8	105,4	92,5
	Mn	190,0	219,9	263,8
	Cu	11,7	10,8	12,5
	Zn	40,8	56,8	49,2

CUADRO 2.—Calcio y magnesio (ppm) en los diez cultivos analizados.

Planta	Elemento	Métodos analíticos											
		Calcificación normal				Calcificación modificada				Ataque via húmeda			
		A.A.-Sr	A.A.-La	Complex.	Complex.	A.A.-Sr	A.A.-La	Complex.	Complex.	A.A.-Sr.	A.A.-La	Complex.	Complex.
Alfalfa	Ca	10.979,2	20.750,0	20.138,9	20.138,9	18.229,2	23.437,5	20.488,1	20.488,1	16.250,0	15.562,5	18.441,3	18.441,3
	Mg	1.479,2	1.587,5	926,9	926,9	1.575,0	1.604,2	714,1	714,1	1.500,0	1.437,5	1.306,8	1.306,8
Avena	Ca	2.000,0	4.155,8	5.782,5	5.782,5	3.270,8	4.125,0	4.719,1	4.719,1	2.854,2	2.845,3	4.785,6	4.785,6
	Mg	1.541,7	1.658,3	1.519,5	1.519,5	1.520,8	1.541,7	1.524,6	1.524,6	1.312,7	1.250,0	1.200,3	1.200,3
Maiz	Ca	3.416,7	6.395,8	8.906,4	8.906,4	5.625,0	7.187,5	6.779,5	6.779,5	3.750,0	3.750,0	5.184,3	5.184,3
	Mg	3.895,8	4.145,8	3.363,1	3.363,1	3.804,2	3.833,2	4.153,3	4.153,3	2.437,5	2.562,5	2.522,4	2.522,4
Melocotonero	Ca	6.000,0	12.708,3	12.827,9	12.827,9	10.395,8	12.500,0	10.734,3	10.734,3	10.458,3	10.354,2	11.930,7	11.930,7
	Mg	4.833,3	4.895,8	4.082,4	4.082,4	4.575,0	4.529,2	4.730,7	4.730,7	4.750,0	4.637,5	5.389,2	5.389,2
Olivo	Ca	5.750,0	12.604,2	13.457,0	13.457,0	10.687,5	14.062,5	12.269,9	12.269,9	10.416,7	10.041,7	12.263,0	12.263,0
	Mg	1.083,3	1.187,5	425,4	425,4	1.187,5	1.095,8	1.033,3	1.033,3	1.125,0	1.104,2	962,4	962,4
Patata	Ca	17.125,0	33.125,0	28.813,0	28.813,0	27.187,5	35.520,8	29.278,3	29.278,3	27.500,0	26.979,2	33.997,4	33.997,4
	Mg	7.854,2	8.070,8	8.063,5	8.063,5	8.050,0	7.812,5	7.475,9	7.475,9	8.200,0	8.083,3	7.597,5	7.597,5
Peral	Ca	5.166,7	13.437,5	12.559,7	12.559,7	10.395,8	13.437,5	10.900,4	10.900,4	8.729,2	8.270,8	11.664,8	11.664,8
	Mg	2.083,3	2.312,5	1.398,0	1.398,0	2.041,7	2.250,0	2.309,6	2.309,6	1.862,5	1.791,7	1.701,8	1.701,8
Trigo	Ca	1.000,0	4.895,7	3.988,0	3.988,0	2.541,7	2.291,7	3.812,5	3.812,5	2.895,8	2.500,0	4.485,3	4.485,3
	Mg	625,0	1.145,8	516,7	516,7	679,2	625,0	840,8	840,8	729,2	729,2	395,1	395,1
Viña	Ca	16.729,2	33.541,7	29.610,3	29.610,3	27.208,3	34.166,7	28.713,3	28.713,3	27.500,0	26.729,2	29.843,2	29.843,2
	Mg	2.083,3	2.083,3	2.279,3	2.279,3	2.000,0	2.020,8	1.960,2	1.960,2	2.208,3	2.125,0	2.451,5	2.451,5
Jara	Ca	5.083,3	12.416,7	12.030,4	12.030,4	6.666,7	7.500,0	7.710,0	7.710,0	9.104,2	8.812,5	10.402,0	10.402,0
	Mg	1.562,5	1.725,0	1.762,6	1.762,6	2.358,3	2.291,7	2.421,1	2.421,1	1.416,7	1.325,0	1.853,7	1.853,7

da, los valores de hierro más altos. Con respecto a éstos, los niveles de microelementos en las calcinaciones normal y modificada representan un 50% y 89%; un 70% y 88% y un 60% y 89%.

Para el resto de las especies vegetales se obtienen los mayores niveles de hierro con la calcinación modificada. La calcinación normal y la digestión suponen, respecto a aquélla, porcentajes variables según las plantas: maíz, 67% y 34%; melocotonero, 69% y 95%; olivo, 59% y 57%; patata, 73% y 90%; peral, 74% y 69%; viña, 60% y 89%; jara, 81% y 88%.

Para el manganeso, en la mayor parte de las plantas, el nivel más alto se obtiene por vía húmeda y de las calcinaciones el procedimiento normal aproxima en más casos sus niveles a los obtenidos por digestión. Este hecho se justifica teniendo en cuenta que la completa disolución de los óxidos de manganeso se efectúa mejor en caliente (ABADIA, 1981).

Sin embargo, en maíz, es la calcinación normal la técnica que proporciona el nivel más alto de este microelemento suponiendo la calcinación modificada el 82% y el ataque vía húmeda el 86% de aquél. En viña es la calcinación modificada la que da el valor más alto de manganeso; los otros dos procedimientos representan el 96% (calcinación normal) y 83% (digestión).

En las otras ocho especies vegetales los porcentajes que las calcinaciones normal y modificada representan con respecto al ataque vía húmeda son los siguientes: alfalfa, 67% y 64%; avena, 88% y 85%; melocotonero, 77% y 71%; olivo, 77% y 80%; patata, 88% y 95%; peral, 72% y 52%; trigo, 72% y 35%; jara, 72% y 83%.

En seis plantas (alfalfa, avena, maíz, melocotonero, olivo y peral) el mayor nivel en cobre surge tras la calcinación modificada. Los porcentajes de los niveles por calcinación normal y digestión con respecto a los de calcinación modificada son: alfalfa, 88% y 90%; avena, 82% y 91%; maíz, 55% y 82%; melocotonero, 88% y 92%; olivo, 82% y 86%; peral, 68% y 70%.

En las restantes muestras la digestión húmeda proporciona los mayores valores. Para estos cuatro casos los porcentajes medios de los niveles según calcinación normal y modificada, con respecto al tratamiento húmedo, son los que a continuación se señalan: patata, 83% y 93%; trigo, 60% en ambos casos; viña, 89% y 91%; jara, 94% y 86%.

Estos porcentajes, a excepción del maíz (calcinación normal) y trigo, reflejan una similitud de valores, lo que supone una cierta equivalencia entre los tres métodos analíticos empleados.

En el cinc no se puede señalar un procedimiento analítico que proporcione mayores valores que los otros dos. Si bien cabe destacar, en

gran parte de los casos, la aproximación que existe entre los niveles de cinc obtenidos con los tres tratamientos que queda reflejada en los porcentajes que a continuación se indican.

Con cuatro cultivos (alfalfa, avena, maíz y jara) la calcinación modificada da los mayores valores en cinc, representando la calcinación normal un 81 %, 96 %, 95 % y 72 % y el ataque por vía húmeda un 79 %, 75 %, 54 % y 87 %, respectivamente.

Para melocotonero, olivo y viña la calcinación normal proporciona los valores más altos, siendo muy próximos los obtenidos con calcinación modificada (92 %, 96 %, 93 %, del tratamiento habitual). Algo inferiores son los niveles encontrados en el ataque húmedo que suponen unos porcentajes del 66 %, 77 % y 83 %.

El ataque por digestión origina los resultados más elevados de cinc en patata, peral y trigo, dando las calcinaciones normal y modificada unos valores que representan el 61 %, 96 %, 97 %, 89 %, 96 % y 94 % respectivamente.

En el cuadro 2 se puede observar el bajo nivel de calcio que proporciona la determinación por absorción atómica cuando se emplea estroncio para eliminar las interferencias, especialmente si este análisis sucede a la calcinación normal. Los niveles obtenidos suponen, en todas las plantas, cantidades inferiores a la mitad del contenido máximo de calcio estimado por otros métodos, siendo de destacar el caso del trigo, cuyo nivel es casi cinco veces inferior al nivel máximo alcanzado.

Queda patente, por otro lado, la relativa constancia de niveles que aparece por complexometría, independientemente del método utilizado (calcinación o digestión), aunque los niveles son algo superiores cuando la valoración se realiza en el extracto procedente de la calcinación normal.

Es de destacar que los mayores valores surgen generalmente si la determinación analítica se realiza por absorción atómica utilizando lantano para evitar las interferencias, si bien cuando el análisis se realiza sobre el extracto procedente de la digestión los niveles de calcio disminuyen y se aproximan a los alcanzados empleando estroncio.

Se aprecia, en la mayor parte de las determinaciones por vía húmeda, un menor contenido de magnesio que en las calcinaciones.

También se observa que en la mayor parte de los cultivos los niveles de magnesio hallados por complexometría son comparativamente menores que los encontrados por absorción atómica.

Finalmente, si exceptuamos el caso del trigo, se puede asignar una relativa equivalencia entre los métodos de absorción atómica ya sea utilizando lantano o estroncio.

A las ternas de valores de los elementos, cuyas medias figuran en



los cuadros 1 y 2, se ha aplicado el análisis de varianza correspondiente (SNEDECOR y COCHRAN, 1972).

En el cuadro 3 se recoge el resultado de dicho análisis aplicando a las distintas especies vegetales estudiadas.

De los cuatro microelementos, únicamente en el caso del cobre, como ya se ha indicado al comentar los datos del cuadro 1, existe una equivalencia de métodos en la mayor parte de las especies vegetales.

El comportamiento del calcio y magnesio es muy diferente. Mientras que en el primero todas las especies dan valores significativos, en el segundo se ve reducida esta significación y si se profundiza un poco más en este análisis de varianza (columnas 2 y 3) se ve que la equivalencia de métodos incluye a mayor número de plantas. Resultado lógico si se tiene en cuenta que el magnesio, en la valoración por complexometría, no se determina directamente, con lo que los errores en la determinación aumentan de manera considerable.

El análisis de varianza no hace sino corroborar lo ya comentado anteriormente, que las diferencias entre los procedimientos pueden originar grandes discrepancias a la hora de comentar y discutir los datos obtenidos.

ISAAC y JOHSON (1975) indican que la preparación del material vegetal, por calcinación o ataque vía húmeda, da resultados similares en las muestras por ellos estudiadas. El método de calcinación utilizado

CUADRO 3.—Análisis de varianza de los distintos elementos en cada uno de los cultivos objeto de estudio.

Planta	Elemento					Mg		
	Fe	Mn	Cu	Zn	Ca	1	2	3
Alfalfa	**	**	NS	**	**	**	NS	NS
Avena	NS	*	**	*	**	**	**	NS
Maíz	**	NS	**	**	**	**	**	NS
Melocotonero	**	**	NS	**	**	NS	NS	*
Olivo	**	**	NS	**	**	**	NS	NS
Patata	**	**	*	**	**	NS	NS	NS
Peral	**	**	NS	NS	**	*	NS	NS
Trigo	**	**	**	NS	**	**	**	**
Viña	**	**	*	**	**	NS	**	*
Jara	NS	**	NS	**	**	**	**	**

\*\* Significativo al 1%

\* Significativo al 5%

NS No significativo

1 Considerando los 9 procedimientos analíticos.

2 Sin considerar la complexometría.

3 Sin considerar digestión y complexometría.

en su trabajo es muy parecido al empleado por la Universidad de Nebraska y que ha sido seguido en el presente estudio. Según estas consideraciones y dado que la calcinación ofrece ventajas frente a la vía húmeda en cuanto a manipulación y simplicidad, parece aconsejable recomendar su empleo en la mineralización de muestras de material vegetal.

De entre las dos vías de calcinación y atendiendo a los resultados, se recomienda el uso de un tratamiento que incluya ácido clorhídrico para la disolución de las cenizas. Los valores tan bajos obtenidos, al diluir sólo con nítrico concentrado, nos indicaría que gran parte de los óxidos de hierro quedan en el residuo sin ser atacados por este ácido.

Otro hecho evidente es que la disolución de estroncio no contrarresta suficientemente las interferencias en la lectura de calcio por absorción atómica. De ahí que se aconseje el uso de lantano para evitar las citadas interferencias producidas por fosfatos, silicatos y otros oxoaniones existentes en las plantas (AOAC, 1980).

De acuerdo con lo indicado por LACHICA y ROBLES (1974) queda también patente en este estudio que para la interpretación de los resultados en el análisis foliar se precisa la estandarización de la metodología analítica teniendo en cuenta la especie vegetal con la que se trabaja.

## R E S U M E N

Se han determinado, por triplicado, Ca, Mg, Fe, Mn, Cu y Zn totales en diez plantas (alfalfa, avena, trigo, maíz, patata, viña, jara, olivo, melocotonero y peral).

El material vegetal ha sido sometido bien a un ataque vía húmeda o bien a calcinación, disolviendo posteriormente las cenizas por dos procedimientos distintos. Se han leído por absorción atómica: Fe, Mn, Cu, Zn, Ca y Mg. Estos dos últimos también se han analizado por complexometría.

Se ha encontrado una equivalencia de métodos para cobre en la mayor parte de los cultivos y en determinadas plantas para cinc y magnesio.

Es conveniente el uso de clorhídrico para evitar pérdidas de hierro, así como el empleo de solución de lantano para eliminar las interferencias de aniones en la determinación de calcio en material vegetal por absorción atómica.

## R E F E R E N C I A S

- ABADIA, J.  
1981 Comunicación personal.
- ABADIA, A.; MILLAN, E. y ABADIA, J.  
1981 Determinación de Ca y Mg en extracto de saturación de suelo, *An. Aula Dei*, **15** (3/4): 273-80.
- ALLAN, J. E.  
1959 The determination of iron and manganese by atomic absorption, *Spectrochim. Acta*, **10**: 800-6.
- A.O.A.C.  
1980 Official methods of analysis of the association official analytical chemist (William Horwitz, ed.): 21, Benjamin Franklin Station, Washington, D.C. 20044.
- A.O.A.C.  
1980 Symposium on standardizing methods for soil testing and plant analysis, *J.A.O.A.C.*, **63** (4): 762-808.
- CHAPMAN, H. D.  
1966 Diagnostic criteria for plants and soils (Chapman, H. D., ed.) University of California, Division of Agricultural Sciences.
- COMITÉ INTER-INSTITUTS POUR L'ANALYSE (M. PINTA)  
1968 Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux, azote, phosphore, potassium, sodium, calcium, magnesium, II<sup>e</sup> Coll. Eur. Méd. Contrôle Alim. Plantes Cult., Seville.
- COMITÉ INTER-INSTITUTS (M. PINTA)  
1972 Méthodes de référence pour la détermination des éléments minéraux dans les végétaux. Détermination des éléments Ca, Mg, Fe, Mn, Zn et Cu par absorption atomique, III<sup>e</sup> Coll. Eur. Méd. Contrôle Alim. Plantes Cult., Budapest.
- GERALDSON, C. M., KLACAN, G. R. and LORENZ, O. A.  
1973 Plant analysis as an aid in fertilizing vegetable crops. In Soil Testing and Plant Analysis: 365-79. (Walsh, L. H. and Beaton, J. D., ed.), Soil Sci. Soc. Am. Inc. Madison, Wisconsin, USA.
- ISAAC, R. A. and JOHNSON, W. C.  
1972 Collaborative study of wet and dry ashing techniques for the elemental analysis of plant tissue by atomic absorption spectrophotometry. *J. A. O. A. C.*, **58** (3): 436-40.
- KNUDSEN, D., HASSAN, N. K. and HUGGER, R.  
1973 Plant analysis procedures. U.N.L. Agron. Soil and Plant Anal. Lab. Univers. of Nebraska, LINCOLN. Publicación restringida.
- LACHICA, M. y ROBLES, J.  
1974 Influencia del método de mineralización de la muestra en el análisis de tejidos vegetales, *An. Edaf. Agro.*, **33** (1-2): 91-9.
- PINTA, M. et C.I.I.  
1975 Etalons végétaux pour l'analyse foliaire, *Analisis*, **3** (6): 354-53.
- SNEDECOR, G. W. and COCHRAN, W. G.  
1972 Statical methods. Iowa State University Press. Ames. Iowa. U.S.A.
- SULLIVAN, L. J.  
1972 Les problemes de l'augmentation de la concentration des engrais oligoelements, *Phosphor et Agric.*, **60**: 1-15.