



Instituto Tecnológico De Tuxtla Gutiérrez

Reporte de residencia.

Título:

Medidor de clorofila por método no destructivo

Presentado por el alumno:

José Julian Moreno Hernández

Asesorado por:

Dr. Jorge Luis Camas Anzueto

Tuxtla Gutiérrez, Chiapas A 5 de diciembre de 2013

Contenido

1. Introducción.....	3
2. Planteamiento del problema.....	3
3. Marco teórico.....	3
3.1 Longitud de onda.....	3
3.2 Fotodiodo PIN.....	4
3.3 Fotodiodo vbpw24r.....	4
3.4 Arduino uno.....	4
3.5 Fluorescencia.....	5
3.6 Ley de Lambert-Beer.....	5
3.7 Fotosíntesis.....	7
3.8 Cloroplastos.....	7
3.9 Clorofila.....	7
3.10 Luz Azul.....	8
3.11 Interacción de la planta con la luz.....	8
3.12 Fotosíntesis y la medición de clorofila.....	8
3.13 Espectro de acción.....	9
3.14 Mediciones de nitrógeno.....	9
3.15 Antecedentes.....	10
4. Objetivo general.....	11
5. Objetivos específicos.....	11
6. Hipótesis.....	11
7. Justificación.....	11
8. Conocimientos previos.....	12
8.1 Tratamientos de estrés por oscuridad y luz.....	13
8.2 Mediciones de clorofila y análisis de datos.....	16
9. Desarrollo del proyecto.....	17
9.1 Programa.....	21
10. Calibración.....	23
10.1 Cuadro comparativo de resultados.....	34
Conclusión.....	44
Anexo A. DATOS TECNICOS DEL MEDIDOR.....	46
Anexo B.MANUAL DE OPERACIÓN.....	50
Anexo C. PROGRAMA DEL MEDIDOR.....	54

1. Introducción.

En el cuidado y estudio de las plantas, surge la necesidad de entender el origen de los principales males que enferman o degeneran a los productos de origen vegetal, por esto, se propone el uso de los parámetros naturales de las plantas, para poder encontrar el origen del daño, y crear una herramienta útil en los laboratorios y cultivos.

2. Planteamiento del problema.

En el invernadero de ingeniería bioquímica del instituto tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, surge la necesidad de conocer la nutrición de las plantas que se cultivan debido a los diferentes tipos de estrés ambiental, tales como la temperatura, nivel de humedad, alta intensidad luminosa, salinidad y diversos contaminantes del agua de riego como metales pesados, herbicidas, detergentes¹, así como de una variedad de compuestos contaminantes del aire, que pueden afectar el desarrollo de la planta.

Los efectos de estos tipos de estrés afectan en la cantidad de clorofila de las plantas, el aumento o disminución de la temperatura se refleja en la pérdida de clorofila, así también el nivel de humedad, o la alta intensidad luminosa que daña el proceso de la fotosíntesis, la salinidad crea un cambio con el medio ambiente de las plantas, siendo su ambiente natural desfavorable, y de los contaminantes que debilitan el crecimiento, y las defensas, todo esto se puede ver en el color de la planta, y en la cantidad de clorofila.

Por lo tanto requiere la traducción de datos obtenidos por medios optoelectrónicos a sistemas cuantitativos, midiendo los niveles de clorofila usando luz azul, las cuales interactúan directamente con la fluorescencia de la clorofila.

Además se necesita tal dispositivo para la medición de clorofila de futuras investigaciones de ingeniería bioquímica, tal como la investigación sobre enfermedades del chile habanero.

3. Marco teórico.

3.1 Longitud de onda

Es la distancia entre la cresta de una onda y la siguiente representada por el símbolo λ , en el caso de esta propuesta, las longitudes de onda que se mencionaran están dentro del espectro visible, se mide normalmente en nm.

3.2 Fotodiodo PIN

El fotodiodo se parece mucho a un diodosemiconductor común, pero tiene una característica que lo hace muy especial: es un dispositivo que conduce una cantidad de corriente eléctrica proporcional a la cantidad de luz que lo incide (lo ilumina).

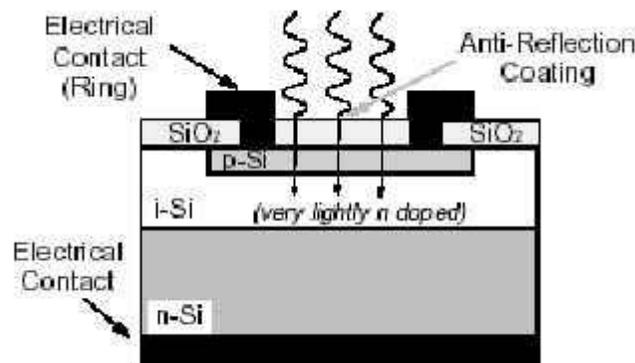


Figura 1. Fotodiodo PIN

El fotodiodo pin (Figura 1.) en especial tiene un material intrínseco (silicio no dopado o ligeramente dopado), entre la material N y P, lo que aumenta su resolución en cuanto a cantidad de fotones que puede aceptar, beneficiando la cantidad datos y el rango que podemos usar².

3.3 Fotodiodo vbpw24r

BPW24R es un fotodiodo de silicio de alta sensible en una caja de metal estándar A-18 herméticamente cerrado, con un lente de cristal.

Una alineación precisa del chip da una buena coincidencia de ejes mecánicos y ópticos. El dispositivo cuenta con una baja capacidad y alta velocidad, incluso a bajos voltajes de suministro.

3.4 Arduino uno

Es un microcontrolador basado en el ATmega328. Cuenta con 14 pines digitales de entrada / salida (de los cuales 6 se pueden utilizar como salidas PWM), 6 entradas analógicas, un resonador cerámico 16 MHz, una conexión USB, un conector de

alimentación, un header ICSP, y un botón de reinicio. Contiene todo lo necesario para apoyar el microcontrolador; simplemente conectarlo a un ordenador con un cable USB o el poder con un adaptador de CA o la batería a CC para empezar.

3.5 Fluorescencia

La fluorescencia es el fenómeno donde la absorción de luz de una longitud de onda dada por una molécula es seguida por la emisión a longitudes de onda más largas (visible)³.

Fluorescencia es un fenómeno luminiscente in la cual un átomo de-excitado ocurre casi espontáneamente ($<10^{-7}$ s) y en la que cada emisión para cuando la fuente de excitación es removida. En materiales fluorescentes, la transiciones radioactivas son procesos de un-paso que toma lugar entré estados de energía con el mismo efecto⁴.

Fluorescencia de la clorofila es responsable de la disipación de sólo el 3 y un 6% de la energía absorbida por las plantas, Sin embargo, la clorofila en disolución que no puede absorber fotosintéticamente de esta energía, presenta una intensa fluorescencia roja⁵.

Diversas clorofilas absorben energía luminosa de todo el espectro visible, solo emiten fotones con energía baja en el extremo rojo del espectro visible o más allá.

3.6 Ley de Lambert-Beer

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

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:

$$\frac{I_1}{I_0} = 10^{-\alpha l} = 10^{-\epsilon lc} = 10^{-A} \quad \text{Ecuación 1.}$$

Para gases:

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

Donde:

I_1, I_0 son las intensidades saliente y entrante respectivamente.

$A = \alpha lc$, es la absorbancia, que puede calcularse también como: $A = -\log_{10} \frac{I_1}{I_0}$

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,

$\alpha' = \frac{4\pi k_\lambda}{\lambda}$, 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 (Figura 1, 2), así como también entre la transmisión y la longitud del cuerpo que la luz atraviesa. Si conocemos 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 absorbancia molar normalmente dada en mol cm^{-2} .

El valor del coeficiente de absorción α varía según los materiales absorbentes y con la longitud de onda para cada material en particular. Se suele determinar experimentalmente. La ley tiende a no ser válida para concentraciones muy elevadas, especialmente si el material dispersa mucho la luz. La relación de la ley entre concentración y absorción de luz está basada en el uso de espectroscopia para identificar sustancias.⁶

3.7 Fotosíntesis

La característica esencial de la fotosíntesis es la absorción de energía luminosa mediante moléculas de pigmento especializadas, esta tiene lugar en unos orgánulos llamados Cloroplastos⁷.

3.8 Cloroplastos

Orgánulo que contiene la clorofila, delimitado por una doble membrana, en la que se produce la fotosíntesis; se encuentra en las plantas. También la ubicación de la síntesis de aminoácidos, ácidos grasos, purinas y pirimidinas.

Estos se parecen a las mitocondrias en varios aspectos. En primer lugar ambos tienen una membrana externa y una interna con características diferentes de permeabilidad, en segundo lugar ambas encierran en su membrana interior un espacio llamado estroma que se parece a la matriz mitocondrial. El estroma contiene varios enzimas, por ejemplo las que catalizan las reacciones independientes de la luz y la síntesis de almidón.

3.9 Clorofila

Pigmento que se encuentra presente en los cloroplastos que captura la energía luminosa durante la fotosíntesis, absorbe luz violeta, azul y roja y refleja luz verde⁸.

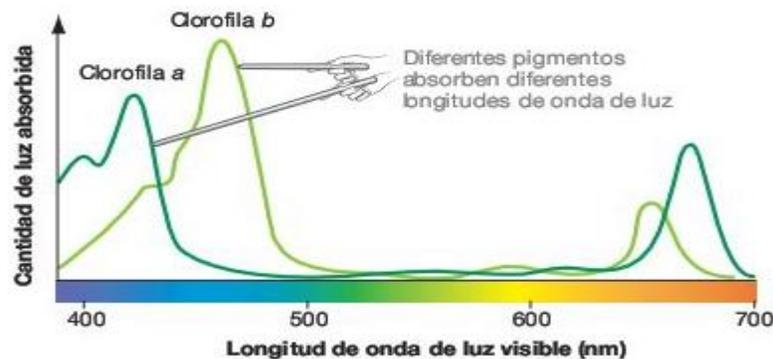


Figura 2. Relación entre la longitud de onda y la luz absorbida.

Además la clorofila a y b absorben mucho más en las partes azules y rojas del espectro visible (Figura 2.), se dice que la clorofila son los pigmentos fotosintéticos más importantes de las plantas terrestres.

La clorofila a desempeña un papel principal en la fotosíntesis de las eucariotas, debido a que la absorción de energía luminosa impulsa directamente los acontecimientos fotoquímicos.

La clorofila b actúa como un pigmento recolector de luz absorbiendo energía luminosa y pasándola a la clorofila a.

3.10 Luz Azul

En un experimento se colocaron brotes jóvenes cerca de una fuente de luz, los brotes se doblaron hacia ella a esto llamaron fototropismo, sin embargo si a estos se exponían a la luz filtrada, la cual impedía el paso de la luz azul, estas no se doblaban, por lo tanto solo se doblan hacia la luz que contenga longitudes de onda azules⁹.

3.11 Interacción de la planta con la luz

Se han realizado métodos no destructivos donde se propuso un acercamiento al monitoreo de la salud vegetal desde la óptica química-física. Con el principal objetivo de interpretar la interacción de la luz con el material vegetal en forma rigurosa desde el punto de vista físico y matemático para desarrollar procedimientos de diagnóstico.

Se exploraron en profundidad los métodos ópticos basados en determinar absorbancia y en la espectroscopía de fluorescencia. Se encontraron correlaciones entre el espectro de absorbancia con el contenido de pigmentos presentes en las hojas y con el contenido de agua de las mismas¹⁰.

3.12 Fotosíntesis y la medición de clorofila

Las enfermedades o los parásitos tienen efectos indirectos sobre el crecimiento y el rendimiento de las plantas que las hospedan a través de la supresión de la fotosíntesis. Esto causa la reducción incierta en la fotosíntesis, que probablemente depende del grado de infestación. Curvas de luz proveen información detallada sobre las características de saturación de transporte de electrones, así como el rendimiento general fotosintético de una planta¹¹.

3.13 Espectro de acción

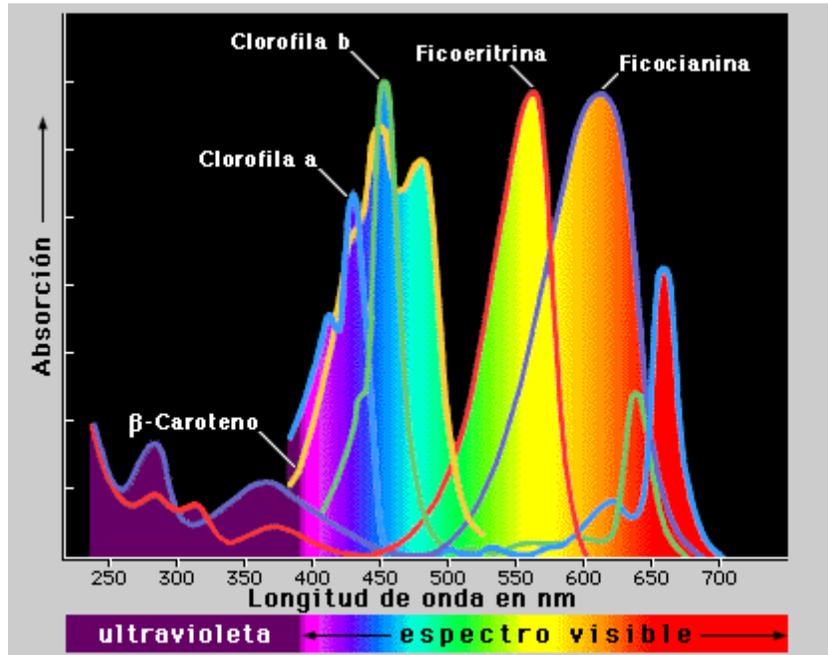


Figura 3. Relación entre la absorción de luz y la longitud de la misma en los diferentes pigmentos

Cuando se mide el efecto de la longitud de onda sobre la tasa de fotosíntesis se genera un espectro de acción.

Espectro de acción de una hoja típica, sugiere que la fotosíntesis utiliza la luz absorbida por las clorofilas a y b (Figura 3.). Robert Emerson estudiando el número de moléculas de oxígeno que se producía por cuanto de luz absorbida en el espectro visible. Observó que la luz con las longitudes de onda mayores a 690 nm eran ineficaces para la fotosíntesis. Sin embargo, si utilizaba luz azul, la tasa de formación de oxígeno aumentaba significativamente.

3.14 Mediciones de nitrógeno

El nitrógeno es el elemento esencial que las plantas requieren en mayor cantidad para su nutrición, por tanto, una baja disponibilidad en los suelos limita la productividad de los cultivos. Se ha comprobado que la cuantificación de clorofila tiene relación directa con el contenido de nitrógeno de la planta, por este hecho un medidor de clorofila permite estimar de manera indirecta, instantánea y sin destrucción de tejidos, el contenido de clorofila y nitrógeno en hojas de diferentes plantas¹².

Debido a que el nitrógeno es el principal elemento en la producción de maíz, y a la magnitud que demanda y a la baja disponibilidad en los suelos hace que se deba recurrir al uso de fertilizantes para optimizar el crecimiento del cultivo. Para esto se monitorea la concentración del nutriente en un órgano vegetal, se mide la intensidad del verde que se modifica ante cambios de concentración de Nitrógeno en la planta, con lo que se hace posible establecer dosis variables de N cuando el índice verde indique diferencias que lo justifiquen¹³. Con esto se puede demostrar que la división de abonado de recomendación de fertilizantes nitrogenados y la evaluación indirecta de nitrógeno puede mejorar la eficiencia de N en cuanto a niveles de rendimiento¹⁴.

3.15 Antecedentes

Para demostrar que este proyecto es factible, se hace mención sobre lo que ya se conoce acerca de mediciones de clorofila. En diferentes proyectos de investigación se usó el SPAD medidor de clorofila, el cual tiene varios modelos, en el caso particular de una medición de reverdecimiento de una planta en particular llamada cuna de moisés, se usó el SPAD-meter 50, con el cual vieron los efectos del crecimiento en el reverdecimiento¹⁵.

También para estimar el nitrógeno foliar en el maíz y los pastos, se hizo la medición del índice de verdor con el clorofilometro Minolta® sPAD 502, se consiguió la relación entre el número de foliar y el verdor medido¹⁶.

La fertilidad de la planta está ligada con la cantidad de clorofila, así como la necesidad de crear estrategias de fertilización a base de nitrógeno en casos particulares¹⁷. Este medidor se ha usado para evaluar la relación entre el índice de suficiencia de nitrógeno (ISN) y el rendimiento del maíz forrajero, y así generar ecuaciones de regresión preliminares para estimar requerimientos de nitrógeno (N), solo por citar algo específico en lo que se aplica¹⁸.

Otros medidores de clorofila son el N-tester, el cual funciona por absorción de luz, y otros modelos Minolta®, también un modelo de medidor desarrollado por la nasa, CM-1000 scoutfield® basado en reflexión de luz, también existe el Opti Sciences CCM200, entre otros.

La validación de un método no destructivo ofrece múltiples beneficios tales como la reducción de tiempo y costos, así como evitar el uso de sustancias tóxicas y por ende de residuos peligrosos para el hombre y para el ambiente¹⁹.

Entre estos cabe destacar que el SPAD 502 es el medidor de clorofila más común entre las investigaciones, el cual también funciona por absorción de luz, pero debido al diseño no puede ser usado para medir clorofila de hojas gruesas.

Validando la factibilidad de un medidor de clorofila.

4. Objetivo general

Implementar un medidor de clorofila diseñado para obtener diferentes datos cuantitativos de clorofila, relacionados con las plantas del invernadero de ingeniería electrónica en el instituto tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, basado en absorbancia de la luz, con ciertas longitudes de onda.

5. Objetivos específicos

1. Diseñar la etapa de potencia.
2. Diseñar un prototipo medidor de clorofila optoelectrónico.
3. Construir el prototipo medidor de clorofila optoelectrónico.
4. Construir la etapa de potencia.

6. Hipótesis.

Se propone un medidor de clorofila portátil, que tenga enlace a computadora, para ayudar a la investigación, en el instituto tecnológico de Tuxtla Gutiérrez, con la finalidad de proveer un dispositivo útil para el invernadero de ingeniería bioquímica, esto con el fin de asegurar el desarrollo de técnicas para el cuidado de las plantas.

7. Justificación.

Este proyecto ayudará a la investigación en el invernadero de bioquímica, para la investigación de enfermedades y su prevención en plantas tales como el chile habanero y el jalapeño, también medir niveles de contaminación en el aire y en el agua, todo con mediciones de clorofila.

Ayudará a conocer factores que afectan a plantaciones, apoyara a la mejora de cultivos, en cuanto a calidad y cantidad, debido a la detección y prevención de enfermedades contaminantes y otros cambios en el ambiente.

Específicamente aportar a la investigación sobre el chile habanero en la que trabajarán en un futuro próximo, y así con los nuevos cultivos en los que se interesen los investigadores bioquímicos del instituto, así como dar la posibilidad a los que estudian e investigan en el ya mencionado invernadero, de obtener datos viables y con un índice de error tan pequeño como sea posible, facilitando el análisis por computadora de los efectos de la clorofila en los diferentes tipos de estrés ambiental, a los cuales se someten las plantas.

Este proyecto mejorará el costo del producto, además de ser tecnología mexicana para mexicanos, implementar técnicas optoelectrónicas no destructivas como desarrollo de un nuevo método tecnológico de medición de clorofila, además de ser un proyecto que impacta ambientalmente, principalmente por ser una herramienta para el cuidado y prevención de enfermedades y plagas de las plantas en cultivos e invernaderos, para el campo o la investigación.

8. Conocimientos previos

La concentración de clorofila de la hoja es un parámetro importante que se mide a menudo como un indicador del desarrollo del cloroplasto, capacidad fotosintética, contenido de nitrógeno foliar, o la salud general de la planta. En el laboratorio, se determina comúnmente fotométricamente después de la extracción de los pigmentos utilizando un disolvente orgánico, tal como acetona o dimetil formamida (Arnón 1949; Porra et al., 1989). Aunque está bien establecido este método y es exacto, consume tiempo, es destructiva (el material de la hoja debe ser extirpado de la planta, y se pierde), y requiere el uso de productos químicos tóxicos o inflamables. El medidor SPAD-502 (Konica-Minolta, Japón) proporciona un método alternativo para la medición de los niveles relativos de clorofila de la hoja que supere estas desventajas. Se trata de un dispositivo de bajo costo, de mano basado en dos diodos emisores de luz y un receptor de fotodiodo de silicio, que mide la hoja de transmitancia en el rojo (650 nm; la longitud de onda de medición) e infrarrojo (940 nm; una longitud de onda de referencia utilizado para ajustar diferencias no específicas entre muestras) regiones del espectro electromagnético. Estos valores de transmitancia son utilizados por el dispositivo para derivar un valor relativo SPAD metros (típicamente entre 0,0 y 50,0) que es proporcional a la cantidad de clorofila en la muestra (Uddling et al. 2007). El metro se ha utilizado ampliamente en la investigación y entornos agrícolas, y hay muchas publicaciones en la literatura científica que describen su uso.

Con el fin de convertir los valores SPAD metros relativos en unidades de concentración de clorofila absoluto, es necesario emplear una curva de calibración (Markwell et al. 1995). La relación entre los valores SPAD y la concentración de clorofila se ha investigado en una variedad de diferentes especies, y se ha encontrado para mostrar considerable variación interespecífica (Castelli et al 1996. Uddling et al., 2007). Esta variabilidad se presume que es debido a las diferencias estructurales entre las hojas de diferentes especies, causando diferentes reflexiones de la luz o de los efectos de dispersión. Por lo tanto, para que el SPAD-502 que se utilizará para registrar los valores de la concentración de clorofila real con una exactitud razonable, una ecuación de calibración debe ser derivada específicamente

para la especie particular de interés (Richardson et al. 2002). *Arabidopsis thaliana* ha sido ampliamente adoptado en todo el mundo como un organismo modelo para estudios de desarrollo de las plantas, la biología celular y molecular y bioquímica. Las ventajas particulares de esta especie están bien documentados, e incluyen su genoma secuenciado completamente, diminuta estatura, y el tiempo rápido de generación, así como la disponibilidad de extensas colecciones de mutantes de inserción de tal manera que es posible identificar rápidamente un golpe de gracia para casi cualquier gen de interés. Como resultado, una proporción considerable de la investigación de cloroplasto y plástidos que se llevó a cabo hoy en día se lleva a cabo mediante el sistema de modelo *Arabidopsis* (Leister 2003; López-Juez 2007; Sakamoto et al., 2008). Sin embargo, solamente un número muy pequeño de los estudios de *Arabidopsis* han empleado el SPAD-502, y éstos han presentado ya sea los datos en unidades arbitrarias no convertidos (Stettler et al. 2009) o utilizado un factor de escala crudo para estimar el contenido real de la clorofila (Takami et al., 2010). Para habilitar las ventajas de la SPAD para ser explotado más plenamente en el campo de la investigación *Arabidopsis*, hemos derivado relaciones de calibración específicos que se pueden utilizar para convertir los valores SPAD precisión en valores de concentración de clorofila absolutos, ya sea en un hoja por área o una base pesonatural.

8.1 Tratamientos de estrés por oscuridad y luz

Tratamientos en oscuridad para la inducción de la senescencia se realizaron utilizando dos métodos diferentes, como se ha descrito previamente (Pruzinska et al 2005. Schelbert et al 2009.). En el primer método (Fig. 5), hojas de desarrollo-equivalentes se separaron de una planta y se coloca sobre papel de filtro húmedo en placas de Petri selladas. Los platos se colocaron entonces en un recipiente oscuro dentro de un armario de crecimiento durante seis días. En el segundo método (Fig. 6), las hojas se envolvió cuidadosamente en papel de aluminio mientras todavía unido a la planta, y luego a la izquierda bajo crecimiento en condiciones estándar de 4-6 días.

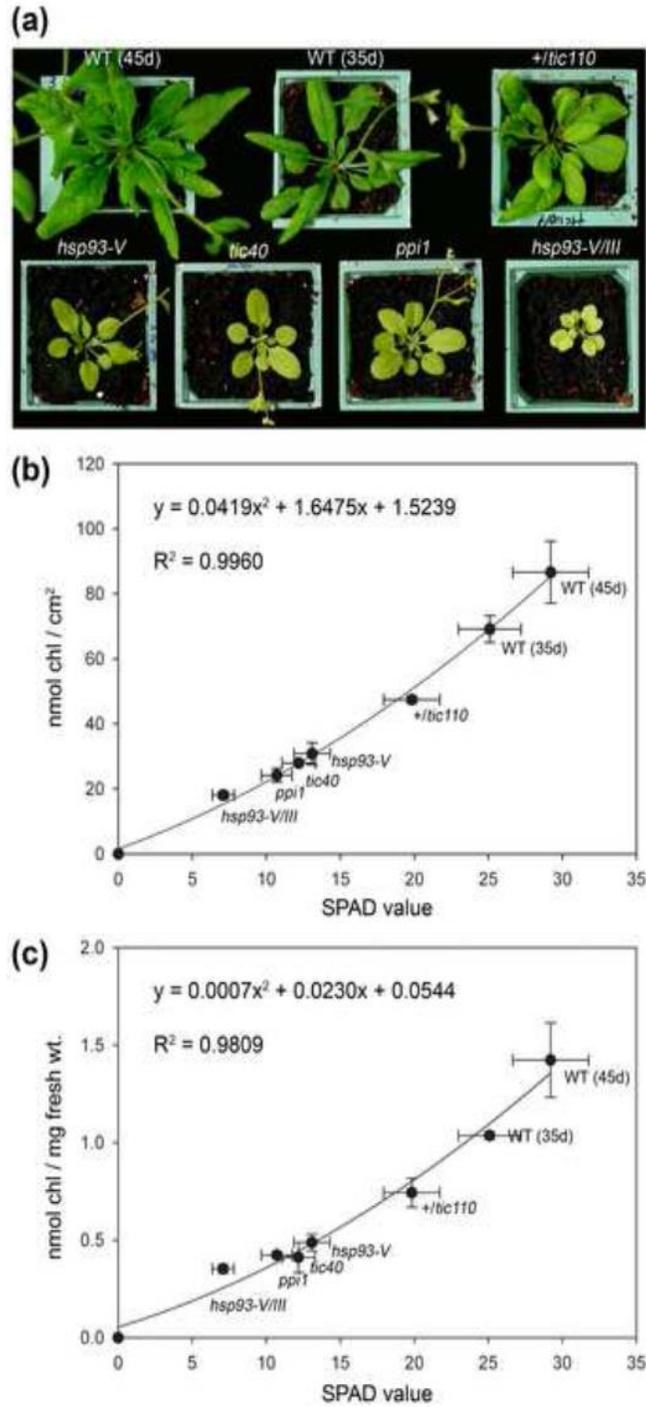


Figura 4. Caso de prueba en (a) se muestran las plantas que se medirán, (b) mediciones de cantidad de clorofila (nmol chl) y el área de medición (cm²), (c) mediciones de cantidad de clorofila (nmol chl) y mg de hoja.

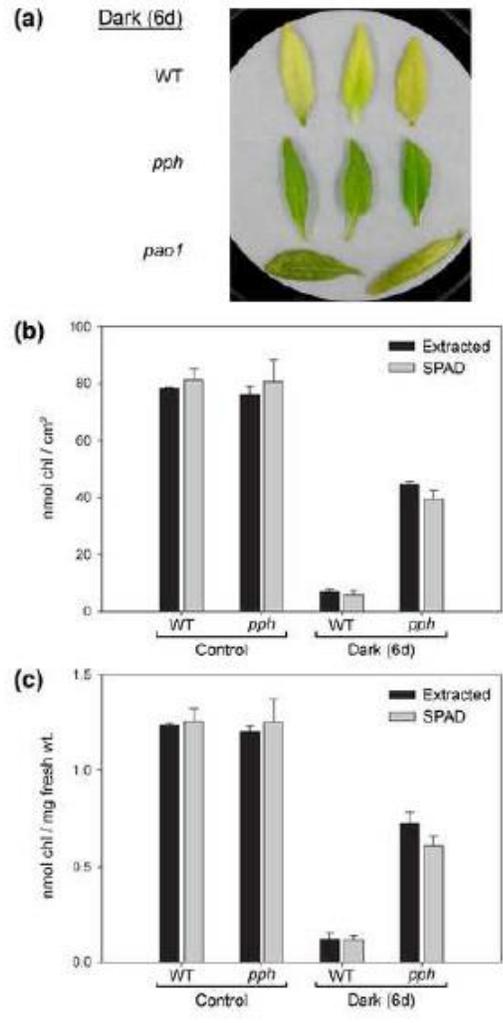


Figura 5. Tratamiento de estrés por oscuridad método 1, (a) muestra las hojas tratadas en la oscuridad, (b) compara los niveles de clorofila (nmol chl) por área tratados con métodos de oscuridad, (c) compara los niveles de clorofila (nmol chl) por mg tratados con métodos de oscuridad.

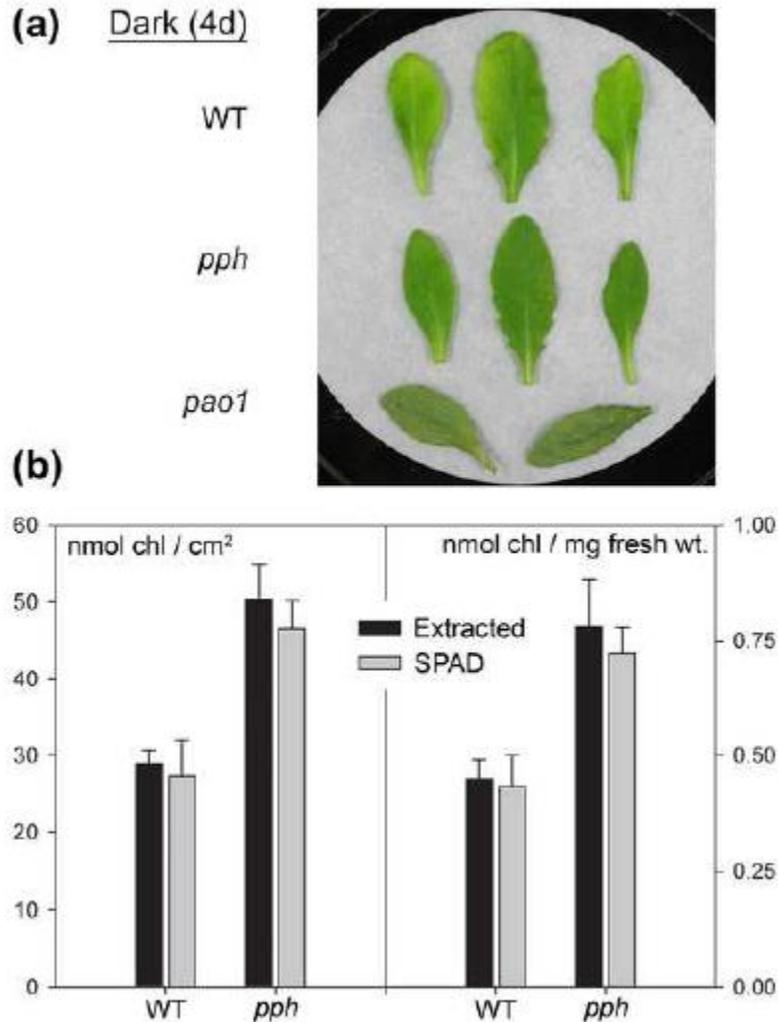


Figura 6. Tratamiento de estrés por oscuridad método 2, (a) hojas a medir bajo estrés por oscuridad, (b) comparación entre medición de clorofila por cm² y clorofila por mg.

Tratamientos de estrés Luz involucrados exposición de plantas de 21 días de edad, cultivadas bajo condiciones estándar a la luz blanca de alta intensidad (~ 2,000 mmol / m² / s), entregado a través de un disipador de calor de agua enfriada, durante tres horas al día durante siete días. Después del último período de tratamiento de alta la luz, las plantas fueron devueltas a las condiciones de crecimiento normales durante 24 horas antes de la realización de las mediciones.

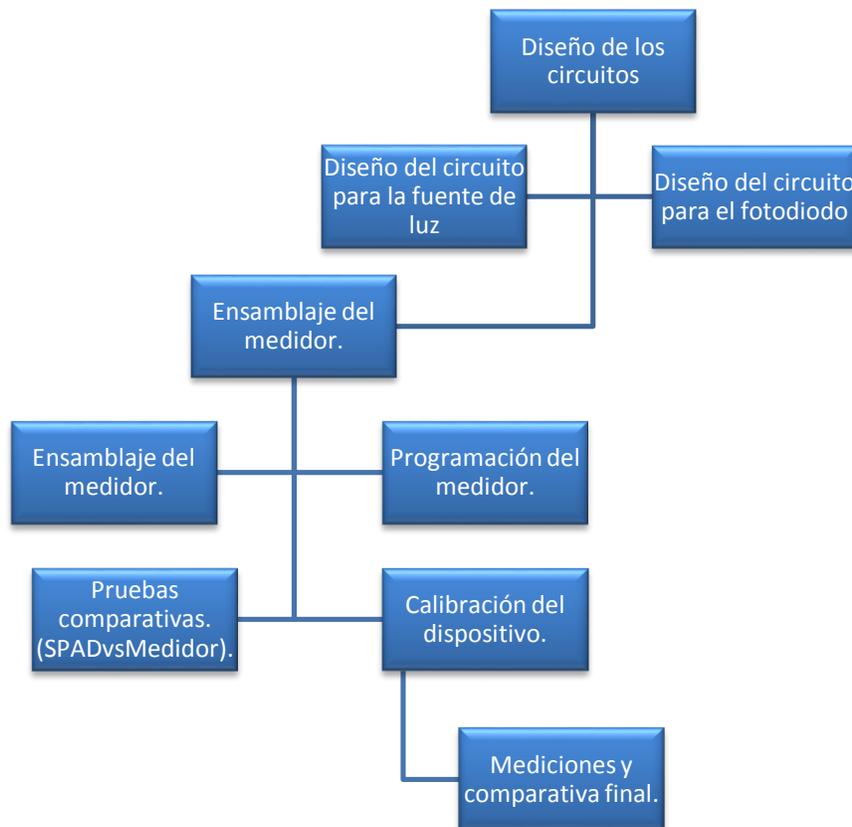
8.2 Mediciones de clorofila y análisis de datos.

Mediciones de la concentración de clorofila absolutos se llevaron a cabo usando un espectrofotómetro y formamida de dimetilo extractos de tejido de la hoja, como se ha descrito previamente (Constan et al 2004; Porra et al., 1989). El tejido de la hoja por estas mediciones se cosechó con un punzón circular (sacabocados) que produce 0,5 cm de diámetro discos de hojas que son 0,19635 cm² de superficie; discos

extirpados también se pesaron, permitiendo que los datos de clorofila que se expresan en relación con el peso fresco, así como área de la hoja. Cada extracto de disolvente contiene varios discos de hojas de varias plantas diferentes por genotipo o tratamiento. Valores SPAD se registraron usando exactamente las mismas hojas de las mismas plantas, antes del muestreo, utilizando un SPAD-502 (Konica-Minolta, Japón). Doce mediciones SPAD independientes fueron hechas por genotipo o el tratamiento, el uso de varias plantas diferentes.

Las relaciones entre los dos conjuntos de datos se analizaron utilizando tanto SigmaPlot (SPSS Science Inc.) y Excel software (Microsoft). Varios modelos fueron probados y los dos paquetes dieron resultados idénticos, lo que indica que las funciones polinómicas de segundo orden proporcionan el mejor ajuste²⁰.

9. Desarrollo del proyecto



Para la alimentación de arduino, se utilizó una fuente de poder atx, con la cual nos presenta buena fidelidad en cuanto al nivel de voltaje y corriente, con lo cual evitamos al máximo errores por corriente en las lecturas del fotodiodo.

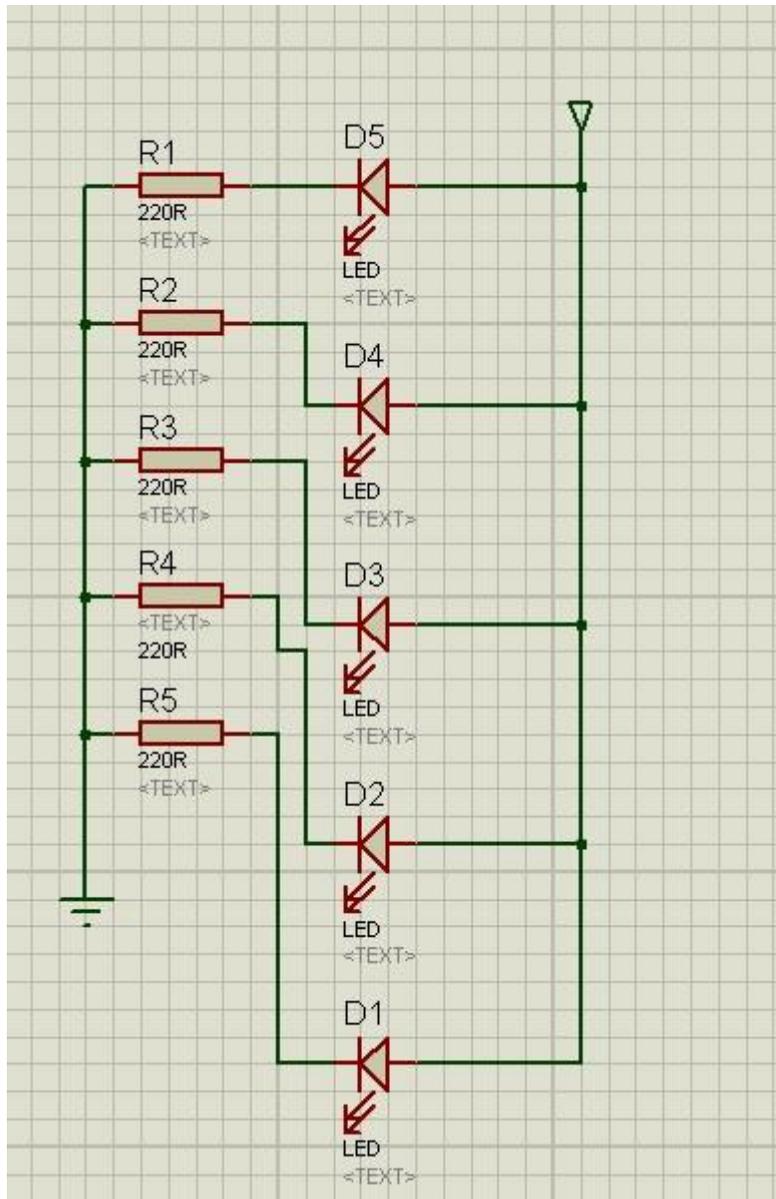


Figura 7. Diagrama de la fuente de luz.

Se fabricó la fuente de luz, compuesta por 5 led's azules con sus respectivas longitudes de onda centrales en 465, 466, 470, 475, 480nm, se probó su eficacia individualmente, sin embargo, en conjunto la intensidad y la absorción fue mejor y más cercana a la medición real, se alimentó con 5 volts, provenientes de la salida de arduino, como se muestra en el diagrama (Figura 8).

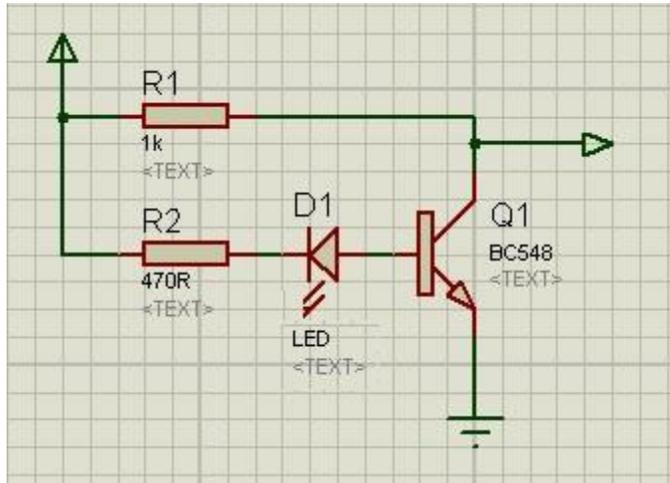


Figura 8. Diagrama del fotodiodo.

A continuación se diseñó la etapa del sensado usando fotodiodo bpw24ramplificado con un bc548, alimentado con 5 volts, conectado a la entrada A5 de los pines analógicos (Figura 9).

A continuación se muestra el resultado,



Figura 9. Circuito (parte de abajo).

La placa fue diseñada y soldada a mano, como se puede apreciar (Figura 10).

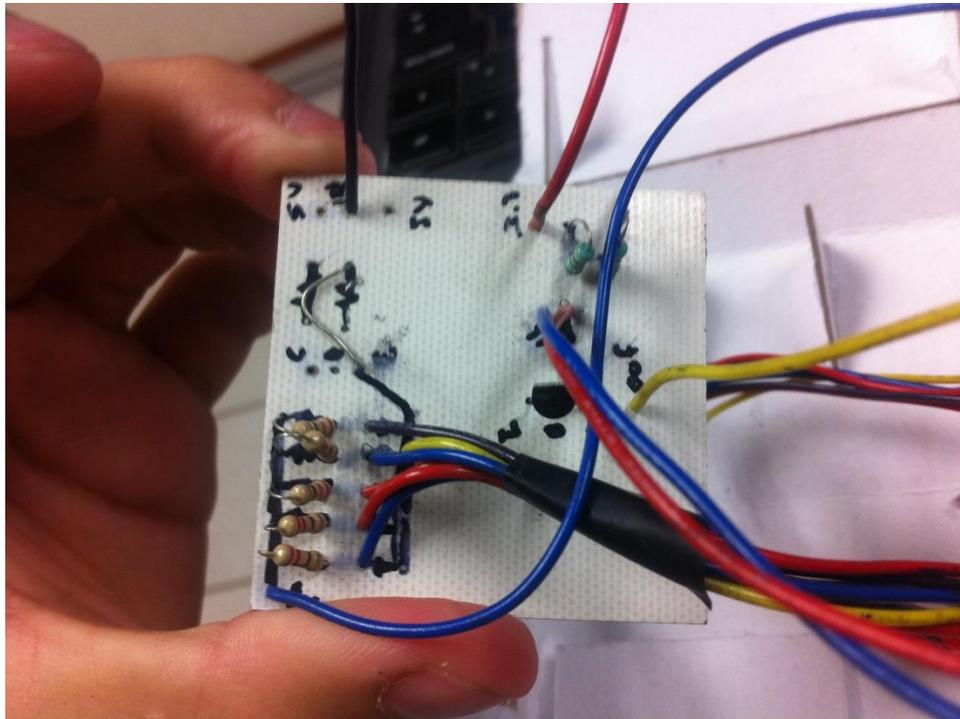


Figura 10. Circuito (parte superior).

En la fotografía (Figura 11) se aprecia, el puentado de los led's y el fotodiodo.

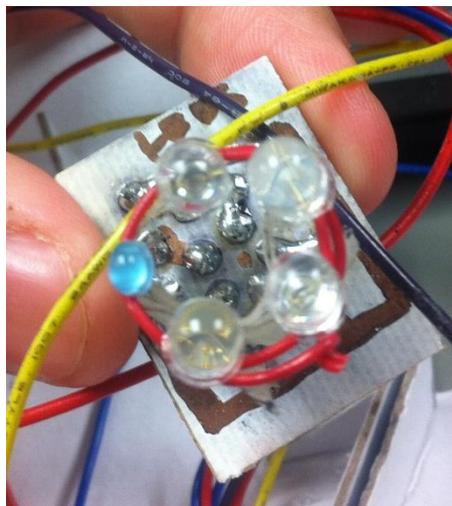


Figura 11. Fuente de luz.

La fuente de luz, fue presionada hacia el centro para enfocar las 5 luces (Figura 12).

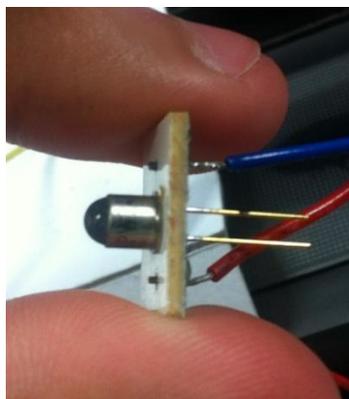


Figura 12. Fotodiodo bpw24r.

El fotodiodo (Figura 13) fue soldado a una pequeña placa para evitar cualquier imprevisto, y tener la capacidad de moverse de posición según se requiera.



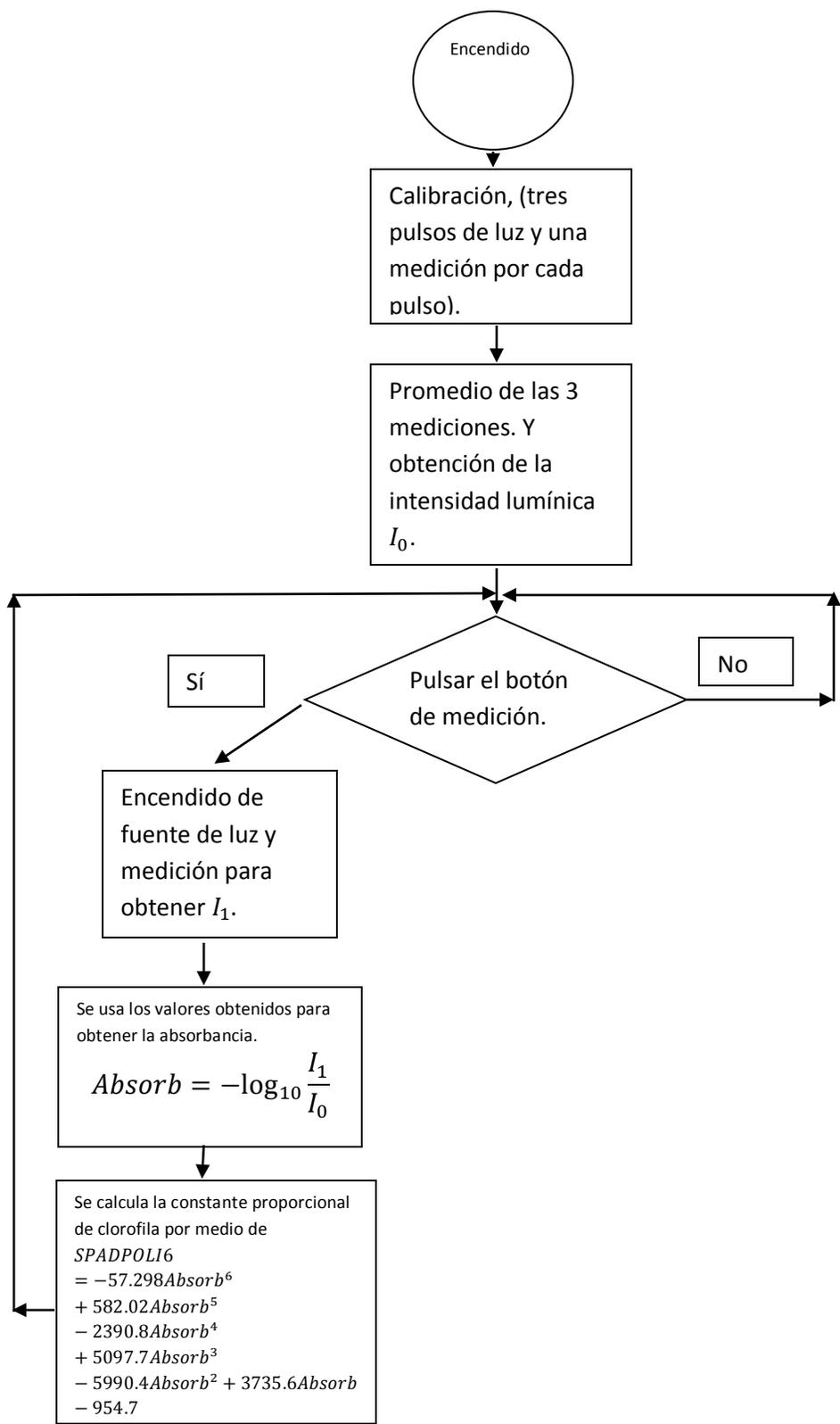
Figura 13. Posición de la fuente de luz y el fotodiodo.

El Fotodiodo y la fuente de luz (figura 14), se colocaron a 2 cm de distancia como se muestra en la figura.

9.1 Programa.

A continuación se programó en arduino el encendido, lectura, y las fórmulas de absorbancia y la constante SPAD siendo esta variable adimensional y proporcional a la cantidad de clorofila.

El programa de arduino actuara de la siguiente manera.



El programa inicia con una secuencia de medición y un promedio de 3 mediciones, (teniendo en cuenta que no hay nada entre la fuente de luz y el fotodiodo). Luego espera la orden del usuario, cuando este presiona el botón de medir, se tomara el nivel de luz detectado, se calculara la absorbancia junto a la constante proporcional de clorofila la cual conseguimos calcular en base a otro medidor de clorofila.

10. Calibración

A continuación se usara un medidor SPAD, el cual nos arrojará una constante proporcional a la cantidad de clorofila, tal constante nos servirá para manipular nuestra medición y tener una medición certera, el dato del SPAD será graficado contra nuestro dato, y la variable independiente será la absorbancia tomada de nuestro medidor, esto nos dará una variación bastante grande debido a una serie de errores tales como la luz ambiente la cual a pesar de estar siendo controlada, tiene protagonismo en las mediciones al aire libre, lo cual la hace una variable de importancia, también el hecho de no saber con exactitud si estamos midiendo la misma área de la hoja, por lo cual desecharemos una cantidad grande de datos, intentando dejar una curva de medición la cual interpolaremos para obtener un dato similar o igual al del SPAD siempre dependiendo de nuestra lectura de absorbancia.

A continuación, hacemos una serie de mediciones en distintas hojas tratando siempre de medir en la misma área con ambos medidores.

Caso 1.



Figura 14. Hoja de prueba.

Tabla 1. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Absorbancia	Mediciones de SPAD
1.23	23.8
1.28	20.7
1.26	23.6
1.28	21.1
1.28	25.2

Se tomaron cinco muestras, tanto en nuestro medidor como en el SPAD y se compararon, para luego calibrar nuestra medición.

Caso 2.

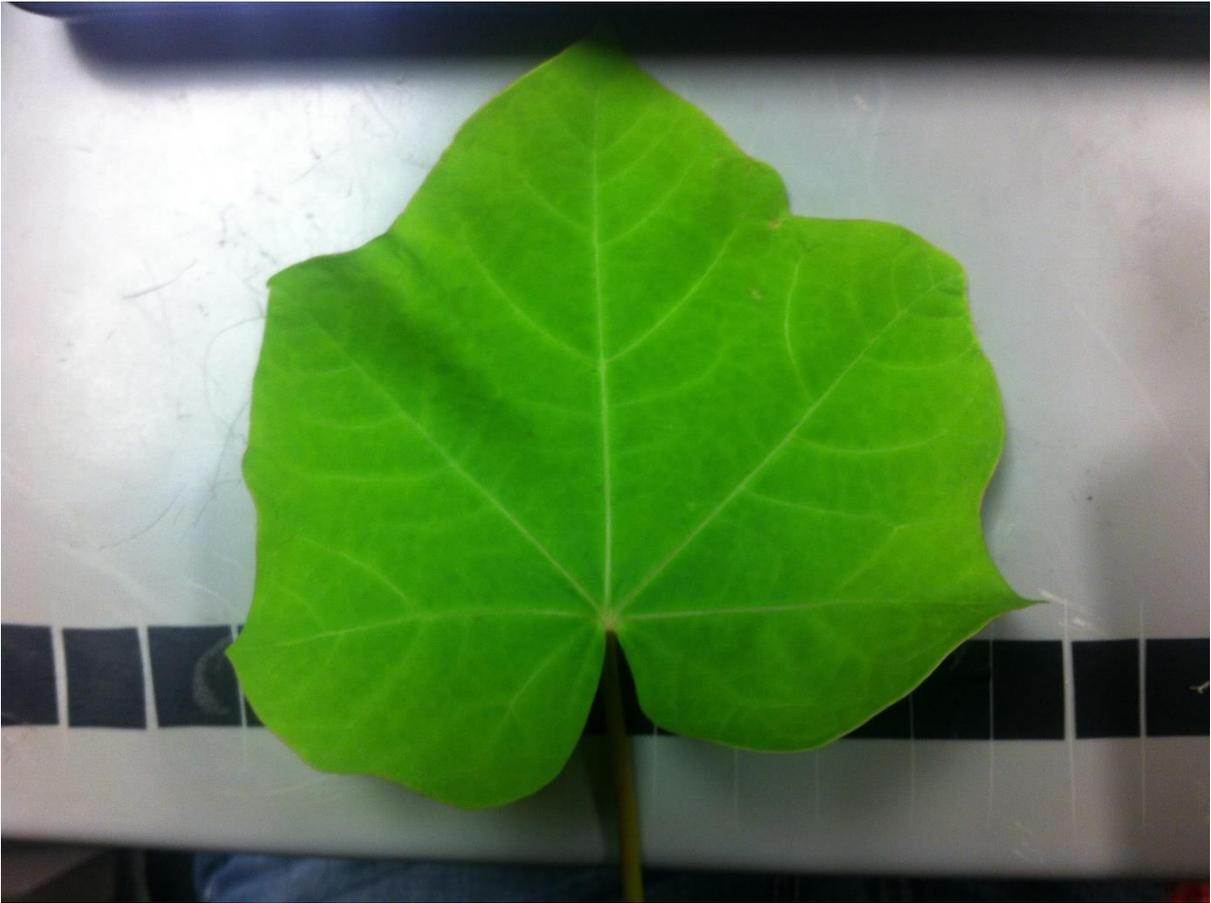


Figura 15. Hoja de prueba.

Tabla 2. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones con nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
1.52	24.6
1.34	25.0
1.46	22.0
1.38	25.9
1.53	23.9

Caso 3.

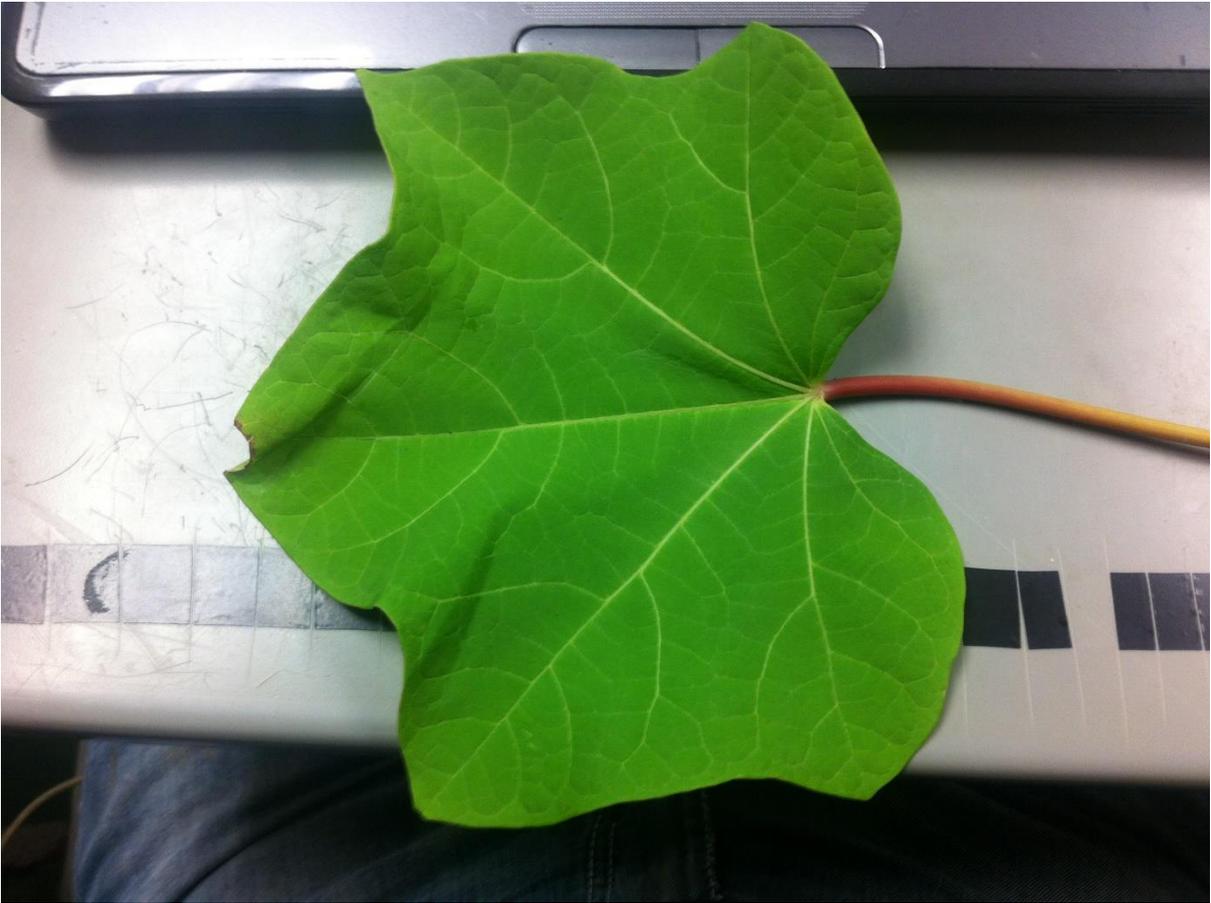


Figura 16. Hoja de prueba.

Tabla 3. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones con nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
1.58	29.3
1.79	29.4
1.79	29.0
2.10	28.9
1.89	30.0

Caso 4.

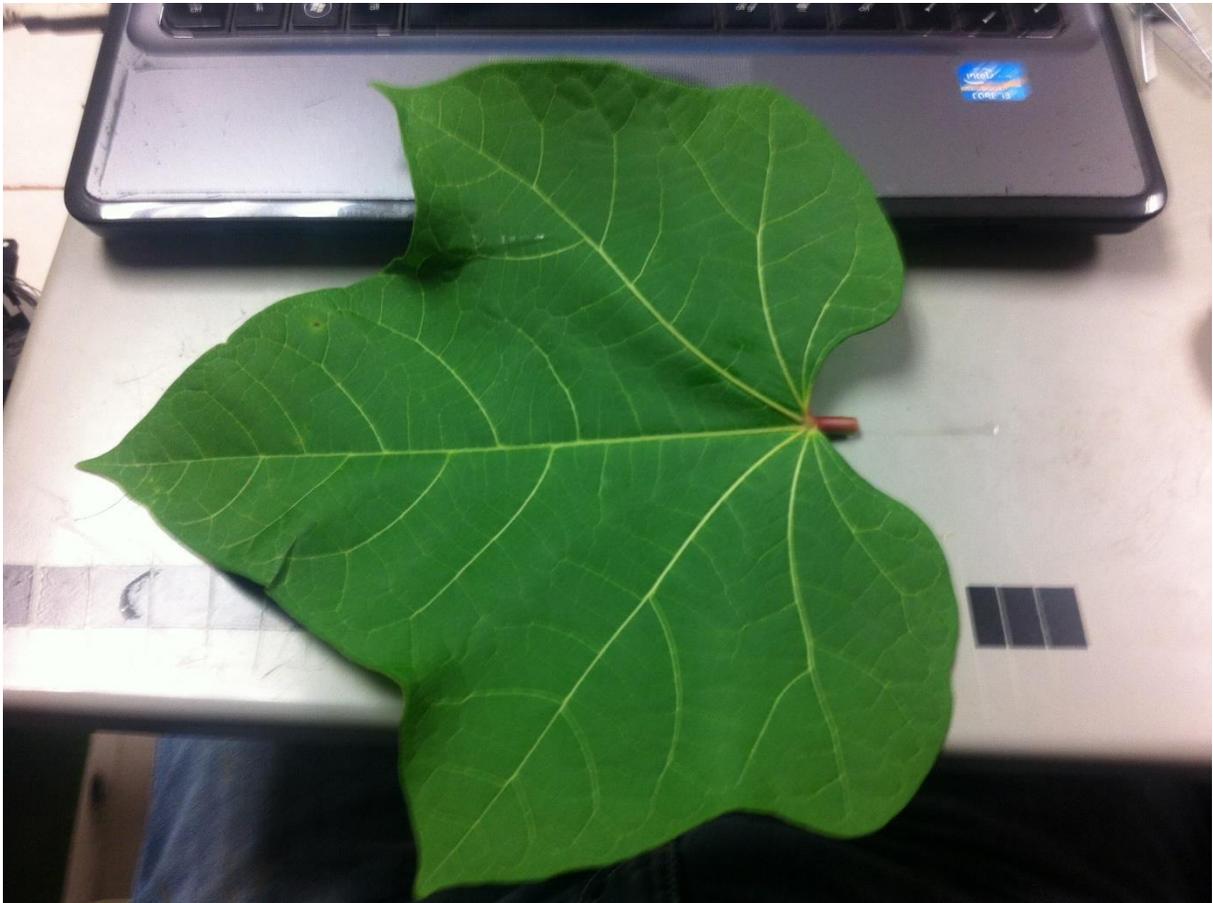


Figura 17. Hoja de prueba.

Tabla 4. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones con nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
1.89	40.4
1.79	39.7
1.89	39.4
2.05	42.7
1.70	37.6
1.79	38.3
1.86	39.2
2.00	40.2
1.83	42.1

Caso 5.



Figura 18. Hoja de prueba.

Tabla 5. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones con nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
1.36	15.8
1.74	35.7
1.59	10.5

Caso 6.



Figura 19. Hoja de prueba.

Tabla 6. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones con nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
1.86	38.8
1.45	30.2
1.92	33.6

Caso 7.



Figura 20. Hoja de prueba.

Tabla 7. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones con nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
1.86	40.4
2.16	46.6
1.92	41.3

Caso 8.



Figura 21. Hoja de prueba.

Tabla 8. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones con nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
2.40	44.0
2.10	37.8
2.23	43.2

Caso 9.



Figura 22. Hoja de prueba.

Tabla 9. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones de nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
2.05	35.5
2.10	44.2
2.00	47.5
2.05	45.2
2.16	35.2
1.92	50.6
2.31	45.7
1.61	47.2
0.30	39.4
2.05	42.9
2.00	35.1
1.96	48.1
1.48	33.7
2.10	35.1
1.23	34.7
1.96	42.7

Caso 10.



Figura 23. Hoja de prueba.

Tabla 10. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones de nuestro medidor	Mediciones con el SPAD
2.53	62.4
2.71	60.5
2.71	58.8
2.71	62.5
2.71	57.9
2.53	58.2
2.53	55.3
2.71	56.4
2.53	55.6
2.53	60.2
2.71	53.3
2.53	56.6
2.53	54.1
2.71	56.0

10.1 Cuadro comparativo de resultados.

Se comparan todas las mediciones mostradas y algunas más, para calcular la constante proporcional de clorofila en base a la absorbancia medida.

Tabla 11. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Conjunto	N	Absorbancia	SPAD
Hoja 1	1	1.23	23.8
	2	1.28	20.7
	3	1.26	23.6
	4	1.28	21.1
	5	1.28	25.2
Hoja 2	1	1.42	24.6
	2	1.34	25
	3	1.46	22
	4	1.38	25.9
	5	1.53	23.9
Hoja3	1	1.58	29.3
	2	1.79	29.4
	3	1.79	29
	4	2.1	28.9
	5	1.89	30
Hoja 4	1	1.89	40.4
	2	1.79	39.7
	3	1.89	39.4
	4	2.05	42.7
	5	1.7	37.6
	6	1.79	38.3
	7	1.86	39.2
	8	2	40.2
	9	1.83	42.1
Hoja 5	1	1.36	15.8
	2	1.74	35.7
	3	1.59	10.5

Hoja 6	1	1.86	38.8
	2	1.45	30.2
	3	1.92	33.6
Hoja 7	1	1.86	40.4
	2	2.16	46.6
	3	1.92	41.3
Hoja 8	1	2.4	44
	2	2.1	37.8
	3	2.23	43.2
Rama 1	1	2.05	35.5
	2	2.1	44.2
	3	2	47.5
	4	2.05	45.2
	5	2.16	35.2
	6	1.92	50.6
	7	2.31	45.7
	8	...	47.2
	9	1.61	39.4
	10	0.3	42.9
	11	2.05	35.1
	12	2	48.1
	13	1.96	33.7
	14	0.48	35.1
	15	2.1	34.7
	16	1.23	42.7
	17	1.96	35
Rama 2	1	2.53	62.4
	2	2.71	60.5
	3	2.71	58.8
	4	2.71	62.5
	5	2.71	57.9
	6	2.53	58.2
	7	2.53	55.3
	8	2.71	56.4

	9	2.53	55.6
	10	2.53	60.2
	11	2.71	53.3
	12	2.4	56.6
	13	2.53	54.1
	14	2.53	56

Caso hoja de prueba.

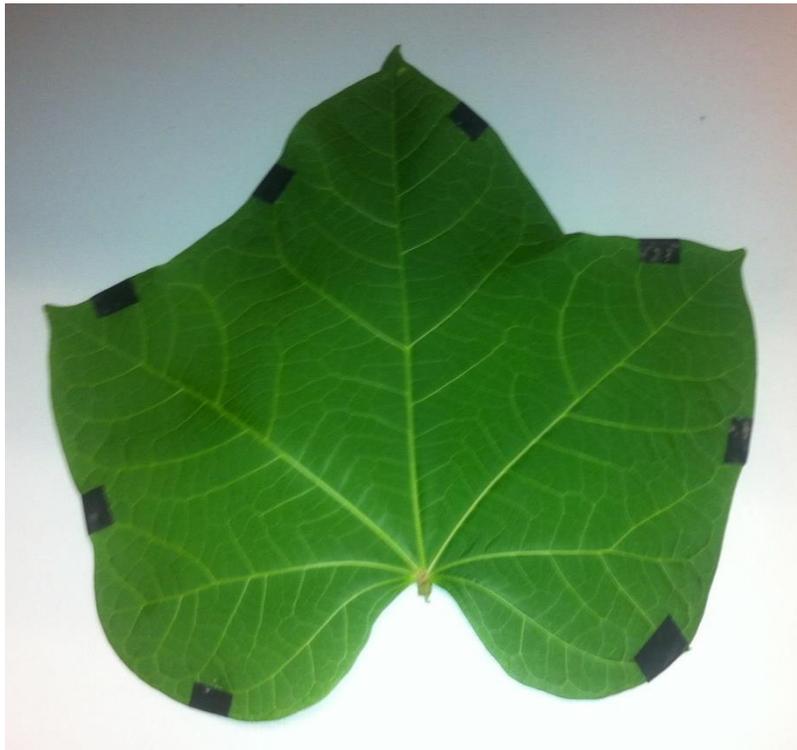


Figura 24. Hoja de prueba.

Tabla 12. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

Mediciones propias	Mediciones con SPAD
1.61	31.6
1.67	32.3
1.74	31.7
1.61	32.8
1.86	30.0
1.70	31.9
1.74	33.5
1.70	30.4

Caso de rama de prueba.

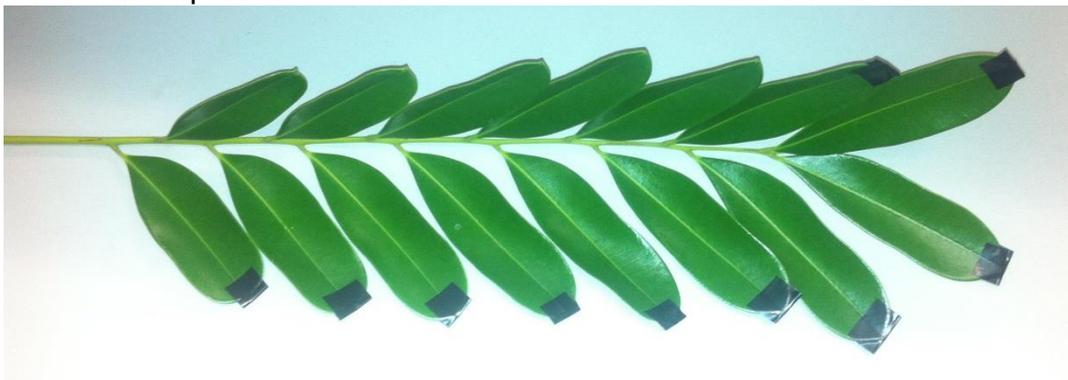


Figura 25. Hoja de prueba.

Tabla 13. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

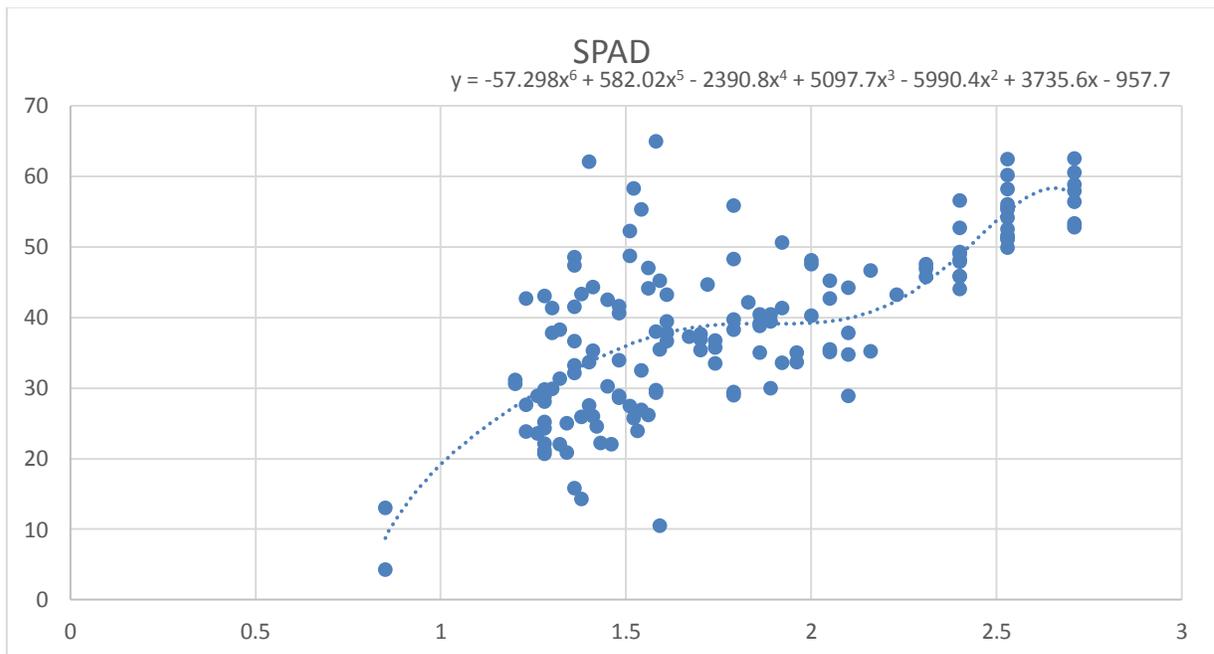
Mediciones Propias	Mediciones con el SPAD
2.53	49.9
2.40	47.9
2.53	51.1
2.40	48.2
2.40	52.7
2.53	52.5
2.53	51.6
2.31	46.9
2.40	49.0
2.40	45.8
2.71	52.8
2.40	45.8
2.31	47.5
2.53	51.2
2.40	49.3

Tabla 14. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

	N	Absorbancia	SPAD
Hoja de prueba final	1	1.61	36.6
	2	1.67	37.3
	3	1.74	36.7
	4	1.61	37.8
	5	1.86	35
	6	1.7	36.9

	7	1.74	33.5
	8	1.7	35.4
Rama de prueba final	1	2.53	49.9
	2	2.4	47.9
	3	2.53	51.1
	4	2.4	48.2
	5	2.4	52.7
	6	2.53	52.5
	7	2.53	51.6
	8	2.31	46.9
	9	2.4	49
	10	2.4	45.8
	11	2.71	52.8
	12	2.4	45.8
	13	2.31	47.5
	14	2.53	51.2
	15	2.4	49.3

Grafica 1. Resultado de las mediciones.



Utilizando una herramienta virtual (Excel, Microsoft), obtenemos la siguiente formula

$$SPADPOLI6 = -57.298Absorb^6 + 582.02Absorb^5 - 2390.8Absorb^4 + 5097.7Absorb^3 - 5990.4Absorb^2 + 3735.6Absorb - 954.7$$

Donde

SPADPOLI6 Es la constante proporcional de clorofila.

Absorb Es la absorbancia medida con el medidor construido.

En el programa se muestra de la siguiente forma.

$$SPADPOLI6 = -57.298 * (\text{pow}(Absorb, 6)) + 582.02 * (\text{pow}(Absorb, 5)) - 2390.8 * (\text{pow}(Absorb, 4)) + 5097.7 * (\text{pow}(Absorb, 3)) - 5990.4 * (\text{pow}(Absorb, 2)) + 3735.6 * Absorb - 954.7$$

Como base final se usarán y se compararán ambos medidores.

Caso hoja prueba final 1.



Figura 26. Hoja de prueba.

Tabla 15. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

SPAD	Medidor
32.0	33.55

31.9	32.86
32.3	32.11
32.0	31.30
32.3	32.11

Caso hoja de prueba final 2.



Figura 27. Hoja de prueba.

Tabla 16. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

SPAD	Medidor
34.0	34.78
35.4	35.4
31.4	30.41
34.0	34.78
33.9	33.55

Caso hoja de prueba final 3.

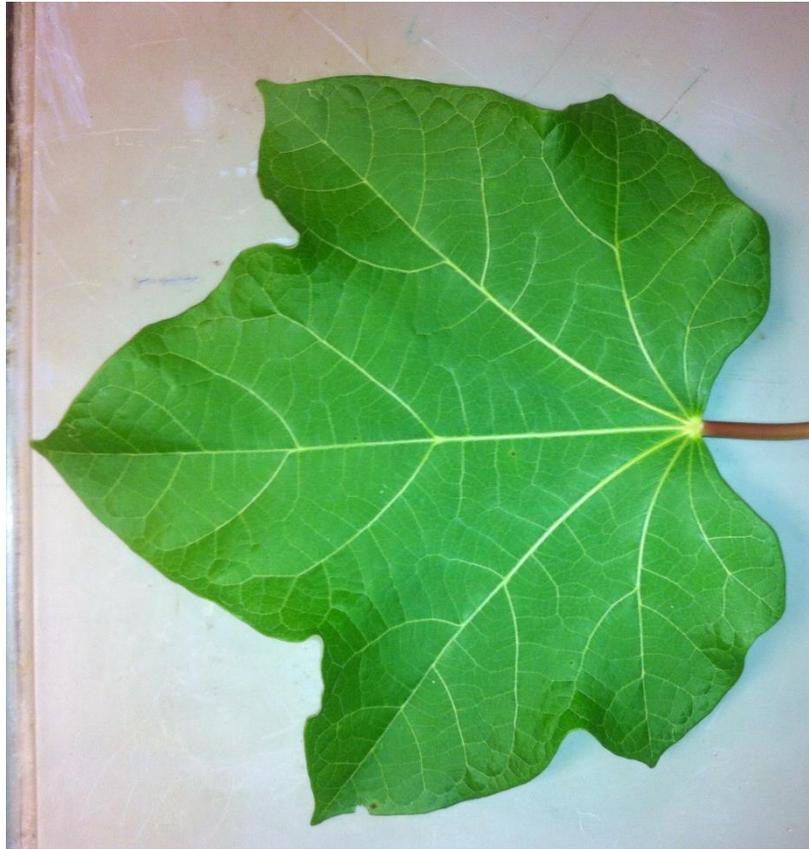


Figura 28. Hoja de prueba.

Tabla 17. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

SPAD	Medidor
37.7	36.75
36.3	36.31
37.7	36.75
40.2	40.17
39.1	39.47

Caso hoja de prueba final 4.

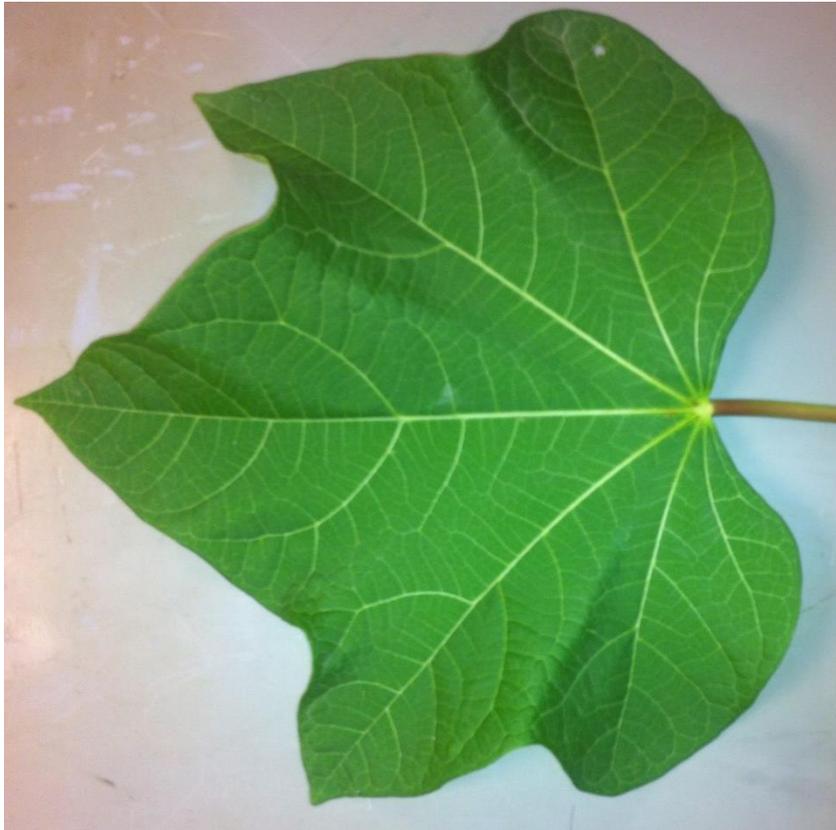


Figura 29. Hoja de prueba.

Tabla 18. Tabla comparativa entre absorbancia medida y la constante proporcional de clorofila medida.

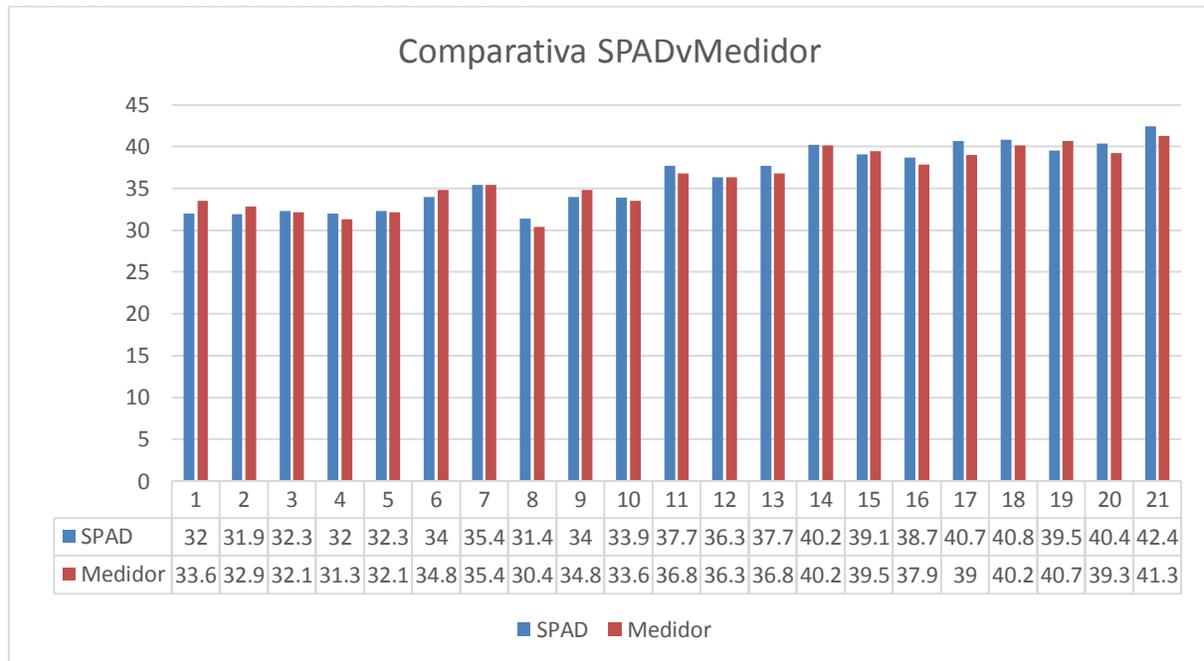
SPAD	Medidor
38.7	37.87
40.7	39.02
40.8	40.17
39.5	40.67
40.4	39.25
42.4	41.26

Tabla 19. Tabla comparativa entre las dos constantes proporcionales de clorofila medidas.

SPAD	Medidor
32	33.55
31.9	32.86
32.3	32.11
32	31.3
32.3	32.11

34	34.78
35.4	35.4
31.4	30.41
34	34.78
33.9	33.55
37.7	36.75
36.3	36.31
37.7	36.75
40.2	40.17
39.1	39.47
38.7	37.87
40.7	39.02
40.8	40.17
39.5	40.67
40.4	39.25
42.4	41.26

Grafica 2. Resultados de la calibración.



En la gráfica 2 se muestra los niveles de clorofila medido por el SPAD y el medidor construido, la variación entre uno es casi mínima tal y como se deseaba, esta variación es aceptable debido a que nosotros no conocemos el algoritmo de SPAD por lo tanto es difícil tener una medición igual.

Conclusión.

En conclusión la medición de clorofila con nuestro dispositivo realiza su función y logra nuestras expectativas, se puede mejorar aún más, incluso se puede usar como base para investigación, así como para realizar dispositivos más avanzados y útiles, cimentando bases que no se encontraban al alcance del conocimiento académico de electrónica, tales como el concepto de absorbancia lumínica, la absorción de la luz por parte de la clorofila, incluso su interacción con los diferentes tipos de clorofila.

El medidor de clorofila fabricado ahora nos permite estimar clorofila en cualquier tipo de hoja de un grosor aceptable no excediendo los 2 mm, lo cual permite la transmitancia de la luz, y por lo tanto el medidor podrá estimar al absorbancia de la hoja, aunque para tener una estimación con precisión se dejan las siguientes recomendaciones.

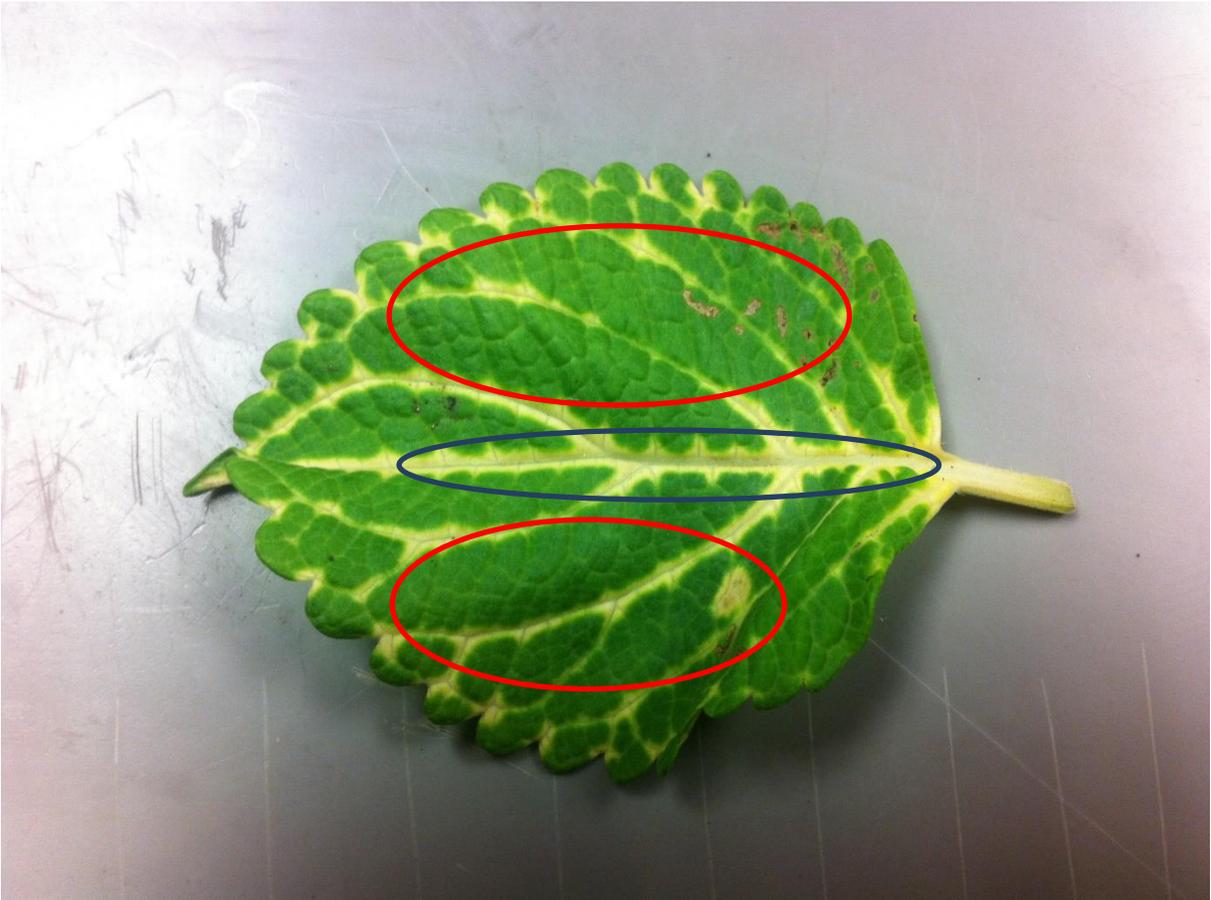


Figura 30. Puntos de error(azul), puntos ideales para la medición (rojo).

Uno de los errores más frecuentes al momento de medir tanto con el medidor construido como con el SPAD, es medir sobre el tallo de la hoja señalado con un

ovalo azul (Figura 31), al observar comportamiento errático, llegamos a la conclusión del por qué el error, pues esto se debe a que esa parte tiene un tallo grueso, siendo obstrucción de la luz, generando un resultado que variaba con cada medición y para nada se aproximaba entre sí ni a las otras mediciones en la misma hoja, lo correcto es siempre medir la hoja en los lados y no en el centro, los óvalos rojos muestran el lugar correcto.

Otra observación es el hecho de que la misma fórmula de la absorbancia permite al dispositivo saber si se ha colocado una hoja o un objeto extraño, siendo así que obstruir con una placa que no permita el paso de la fuente de luz, da un error matemático, y lo contrario medir sin nada eleva a infinito.

Anexo A. DATOS TECNICOS DEL MEDIDOR

Arduino one



Microcontroller	ATmega328
Operating Voltage	5V
Input Voltage (recommended)	7-12V
Input Voltage (limits)	6-20V
Digital I/O Pins	14 (of which 6 provide PWM output)
Analog Input Pins	6
DC Current per I/O Pin	40 mA
DC Current for 3.3V Pin	50 mA
Flash Memory	32 KB (ATmega328) of which 0.5 KB used by bootloader
SRAM	2 KB (ATmega328)
EEPROM	1 KB (ATmega328)
Clock Speed	16 MHz
Length	68.6 mm
Width	53.4 mm
Weight	25 g

BPW24R Fotodiodo PIN

RESUMEN DEL PRODUCTO			
COMPONENTE	Ira (A)	ϕ (deg)	$\lambda 0.1$ (nm)
BPW24R	60	± 12	400 to 1100

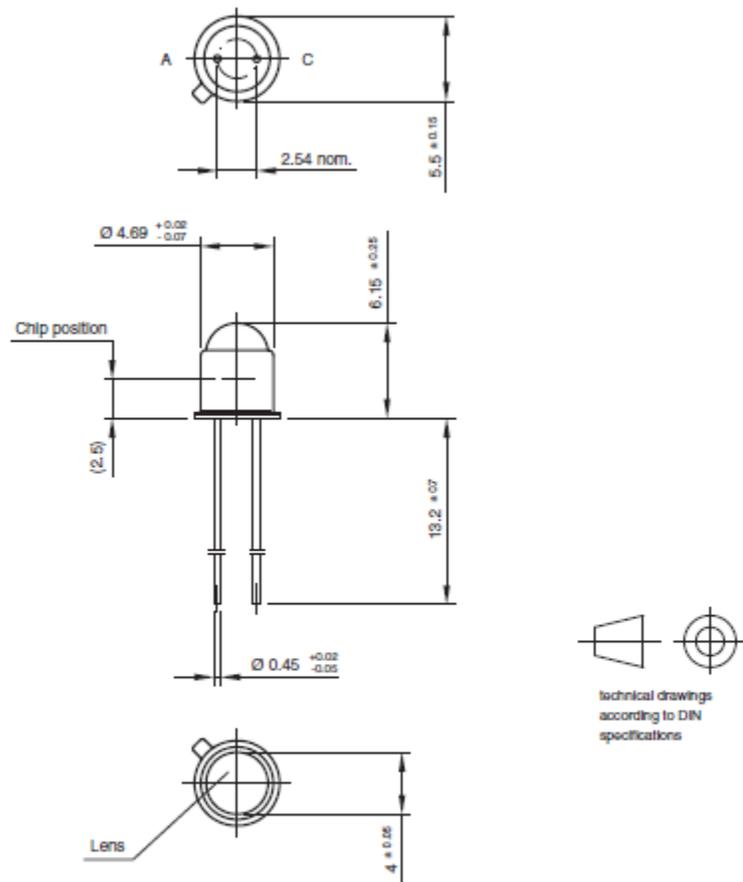
RADIOS MAXIMOS ABSOLUTOS (Tamb = 25 °C, a menos que se especifique lo contrario)				
PARAMETROS	CONDICIONES DE PRUEBA	SIMBOLO	VALOR	UNIDAD
VOLTAJE INVERSO		VR	60	V
DISIPACION DE	Tamb \leq 25°C	PV	210	mW

PODER				
TEMPERATURA DE UNION		Tj	125	°C
RANGO DE TEMPERATURA DE OPERACION		Tamb	-40 A + 125	°C
RANGO DE TEMPERATURA DE ALMACENADO		Tstg	-40 A + 125	°C
TEMPERATURA DE SOLDADO	t _s ≤ 5 s	Tsd	260	°C
RESISTENCIA TERMICA UNION/AMBIENTE	CONECTADO CON CABLE DE COBRE, 0.14 mm ²	RthJA	350	K/W

CARACTERISTICAS BASICAS						
PARAMETROS	CONDICIONES DE PRUEBA	SIMBOLO	MINIMO	TIPICO	MAXIMO	UNIDAD
VOLTAJE DE RUPTURA	IR = 100 μA, E = 0	V(BR)	60	200		V
CORRIENTE DE OSCURIDAD INVERSA	VR = 50 V, E = 0	Iro		2	10	nA
CAPACITANCIA DEL DIODO	VR = 0 V, f = 1 MHz, E = 0	CD		11		pF
	VR = 5 V, f = 1 MHz, E = 0	CD		3.8		pF
	VR = 20 V, f = 1 MHz, E = 0	CD		2.5		pF
VOLTAJE DEL CIRCUITO ABIERTO	Ee = 1 mW/cm ² , λ = 950 nm	Vo		450		mV
COEFICIENTE DE TEMPERATURA DE V0	Ee = 1 mW/cm ² , λ = 950 nm	TKVo		-2		mV/K
CORRIENTE DE CORTO CIRCUITO	Ee = 1 mW/cm ² , λ = 950 nm	Ik		55		μA
COEFICIENTE DE	EA = 1 klx	TKIk		0.1		%/K

TEMPERATURA DE I _k						
CORRIENTE DE LUZ INVERSA	E _e = 1 mW/cm ² , λ = 950 nm, V _R = 20 V	I _{ra}	45	60		μA
SENSIBILIDAD ESPECTRAL ABSOLUTA	V _R = 5 V, λ = 870 nm	s(λ)		0.60		A/W
	V _R = 5 V, λ = 900 nm	s(λ)		0.55		A/W
ANGULO MEDIO DE SENSIBILIDAD		φ		±12		deg
LONGITUD DE ONDA PICO SENSITIVA		λ _P		900		Nm
RANGO ESPECTRAL DE ANCHO DE BANDA		λ _{0.1}	400		1100	nm
TIEMPO DE SUBIDA	V _R = 20 V, R _L = 50 Ω, λ = 820 nm	t _r		7		Ns
TIEMPO DE BAJADA	V _R = 20 V, R _L = 50 Ω, λ = 820 nm	t _f		7		Ns

Dimensiones en milímetros



Drawing-No.: 6.503-5022.02-4

Issue: 1; 24.08.98

14487

FUENTE DE LUZ

5 DIODOS LED'S EN PARALELO CON A 5 VOLTS.

LONGITUD DE ONDA DE CADA LED

465, 466, 470, 475, 480nm

Anexo B.MANUAL DE OPERACIÓN

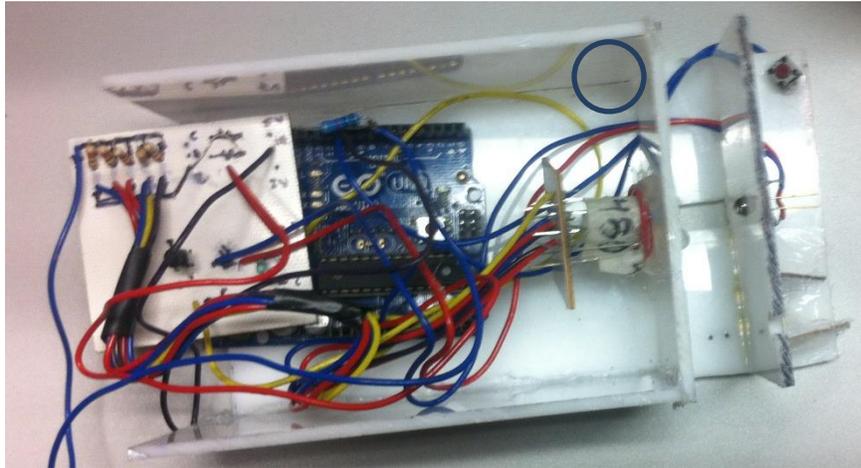


Figura 31. Posicion del botón para la medición.

El botón (circulo azul), da inicio a la medición, se dará cuenta de que esta abra iniciado, cuando la fuente de luz se encienda y permanezca encendida por 1 segundo. De preferencia coloque la hoja pegada al fotodiodo, y procure no medir sobre el centro de la hoja, puesto que en esta zona están la estructura de la misma, la cual obstruye la luz dando un dato falso (Figura 32).

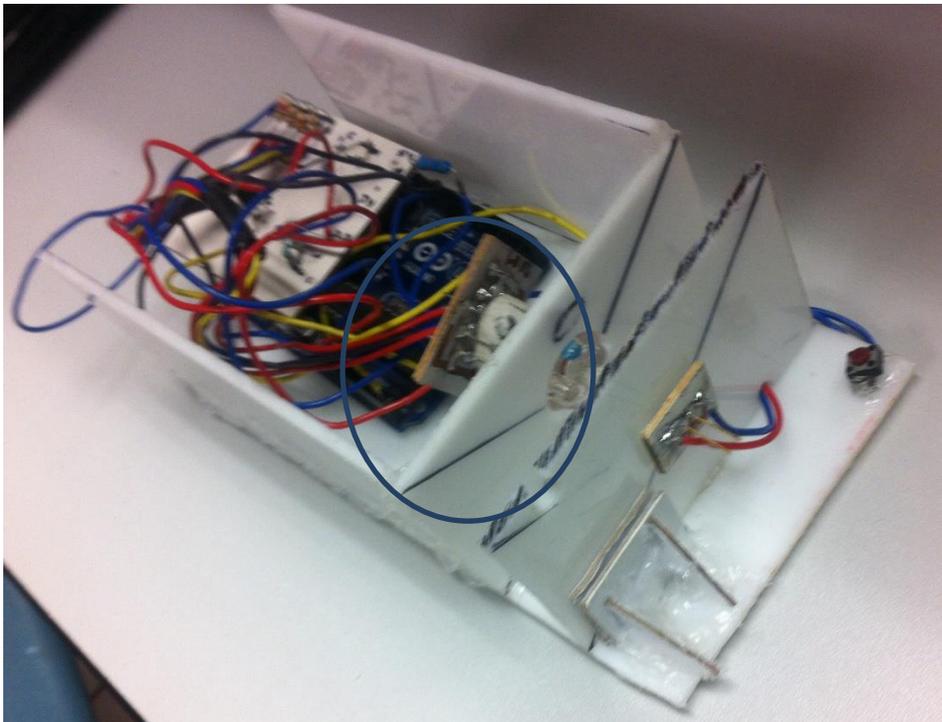


Figura 32. dispositivo medidor de clorofila.

Al conectar a una fuente de voltaje el medidor este iniciara automáticamente el calibrado del dispositivo (Figura 33). Mientras esto sucede no introduzca ningún objeto entre el fotodiodo y la fuente de luz (circulo azul).

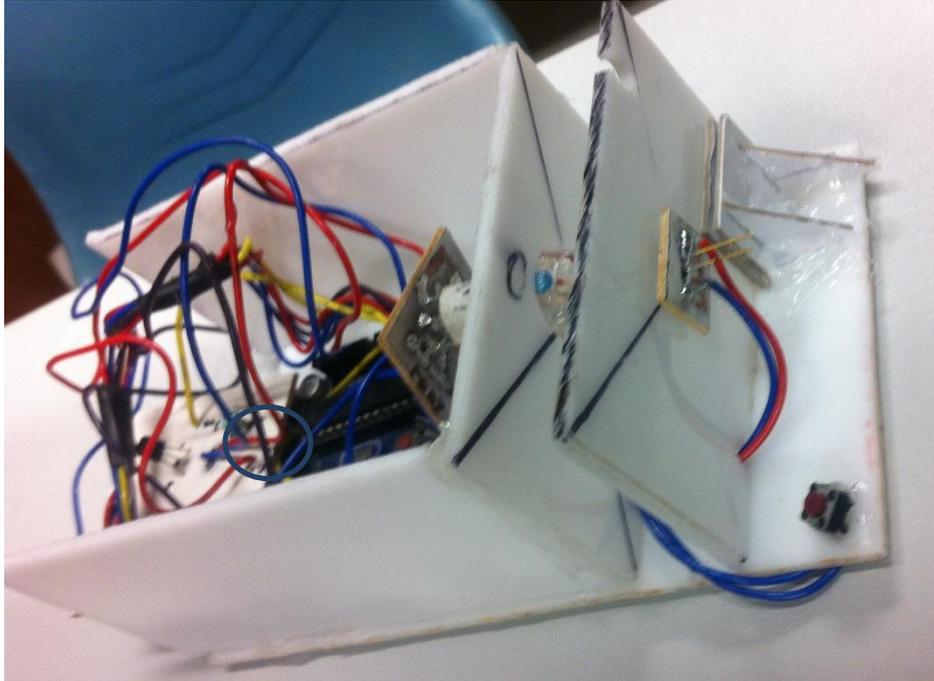


Figura 33. Botón de reinicio en el arduino.

Si nota un cambio en la luz ambiente recalibre reiniciando el dispositivo. Con el botón de reinicio del arduino (circulo azul), esto se hace para evitar un error en el censado el cual se presenta como una elevación o una disminución del valor real.

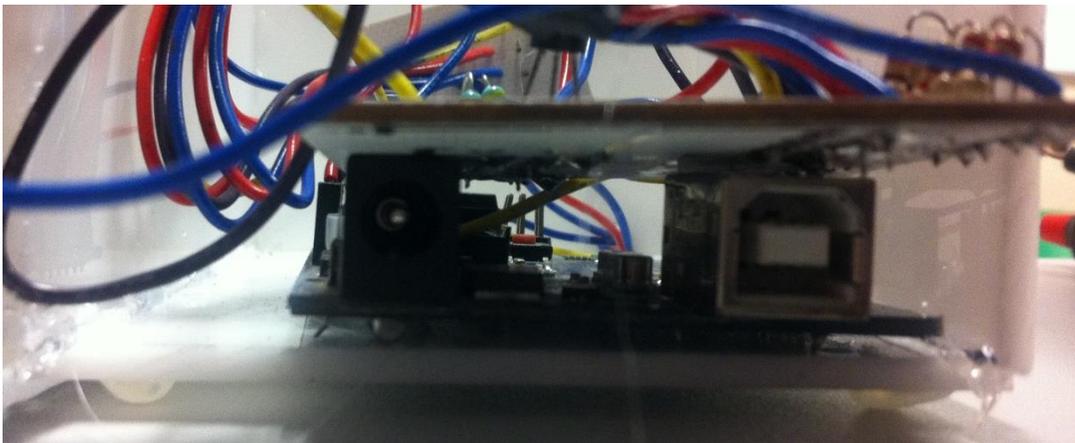


Figura 34. Vista trasera.

El plug para la fuente (izquierda) trabaja en un rango entre 5-12 volts, utilice una fuente mayor a 5v para evitar falta de corriente en la fuente de luz. La conexión para

datos de arduino (derecha) se utiliza un cable USB tipo A para la computadora en un extremo y uno tipo B para el otro (Figura 35).



Figura 35. Fotodiodo.

El fotodiodo trabaja a 5 volts, conectado inversamente (Figura 36).

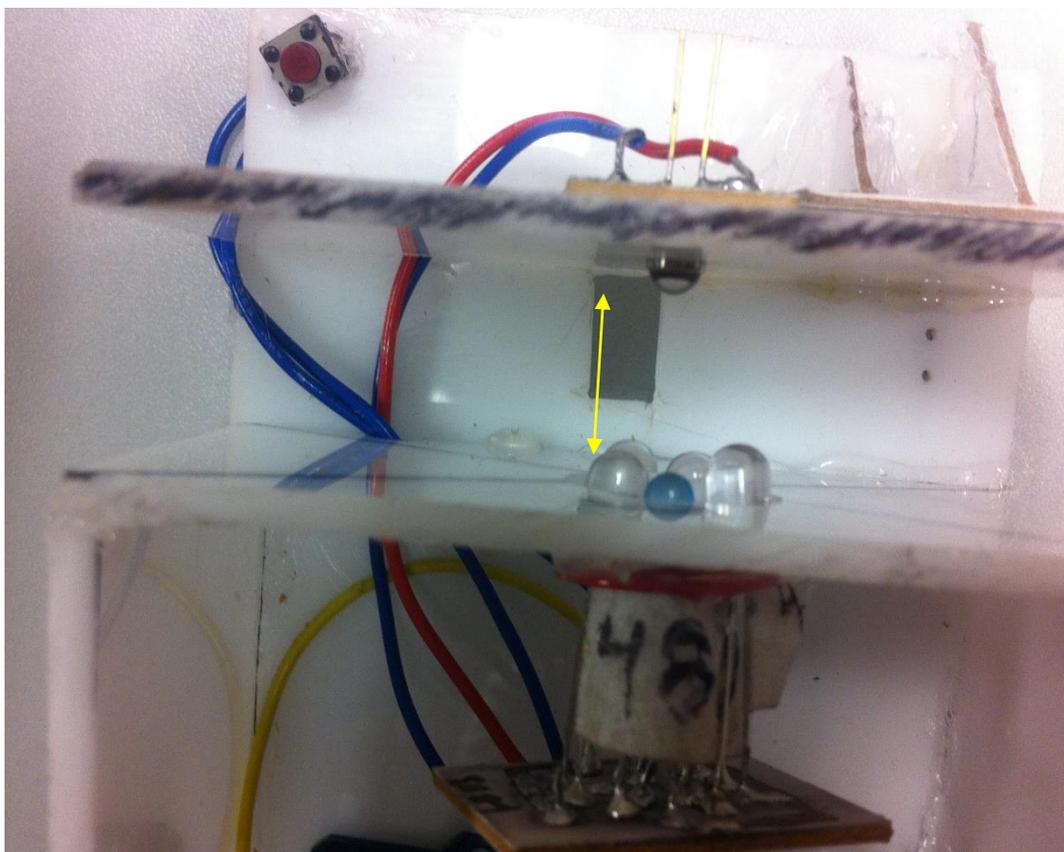


Figura 36. Distancia optima entre el fotodiodo y la fuente de luz.

La distancia debe ser de 1 cm (línea amarilla) desde el encapsulado de la fuente hasta el encapsulado del sensor (Figura 37).

Los pines usados son

Digitales:

Pin 12 encendido de la fuente de luz.

Pin 11 alimenta al botón.

Pin 10 Botón para la medición.

Analógicos:

Pin A5 entrada para el valor del fotodiodo.

Anexo C. PROGRAMA DEL MEDIDOR.

```
#include <math.h>

int Leds=12;
int Fotod=A5;
int FDvalor=0;
int Sensor=10;
int FDvalor1;
int bandera=0;
int FDvalor4;
int respuesta;

void setup()
{
  Serial.begin(9600);
  pinMode(Leds,OUTPUT);
  pinMode(Fotod,INPUT);
  pinMode(Sensor,INPUT);
  pinMode(11,OUTPUT);
}

void loop()
{
  digitalWrite(11,HIGH);
  respuesta = digitalRead(Sensor);
  if(bandera==0)
  {
    digitalWrite(Leds,HIGH);
    FDvalor=analogRead(Fotod);
    FDvalor1=FDvalor;
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,LOW);
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,HIGH);
    FDvalor=analogRead(Fotod);
    int FDvalor2=FDvalor;
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,LOW);
    delay(100);
    digitalWrite(Leds,HIGH);
    FDvalor=analogRead(Fotod);
    int FDvalor3=FDvalor;
```

```

delay(100);
FDvalor4=(FDvalor1+FDvalor2+FDvalor3)/3;
delay(10);
bandera=1;
digitalWrite(Leds,LOW);
delay(100);

}
if(bandera==1)
{
digitalWrite(Leds,LOW);
}
if(bandera==1&&respuesta==HIGH)
{
digitalWrite(Leds,HIGH);
delay(100);
FDvalor=analogRead(Fotod);
FDvalor=1023-FDvalor;
FDvalor4=1023-FDvalor;
doubleDiv=FDvalor4/FDvalor;
double Absorb=log10(Div);
//Serial.println(Absorb);
double SPADPOLI6 =-57.298*(pow (Absorb, 6)) + 582.02*(pow (Absorb, 5)) -
2390.8*(pow (Absorb, 4)) + 5097.7*(pow (Absorb, 3)) - 5990.4*(pow (Absorb, 2)) +
3735.6*Absorb - 954.7;
Serial.println(SPADPOLI6);
delay(1000);
}
else
{
digitalWrite(Leds,LOW);
}
}

```

Bibliografía

¹ SERGIO GONZÁLEZ MORENO, HUGO PERALES VELA, MARTHA O SALCEDO ÁLVAREZ
LA FLUORESCENCIA DE LA CLOROFILA A COMO HERRAMIENTA EN LA INVESTIGACIÓN DE EFECTOS TÓXICOS EN EL APARATO FOTOSINTÉTICO DE PLANTAS Y ALGAS

LABORATORIO DE BIOQUÍMICA, UNIDAD DE MORFOFISIOLOGÍA, FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES IZTACALA, UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO, TLALNEPANTLA, ESTADO DE MÉXICO, MÉXICO. 29 DE FEBRERO DE 2008.

²PROF. BOLAÑOS D.

FOTODIODO.- DIODO DETECTOR DE LUZ.

ELECTRÓNICA (RECOPIACIÓN)

[HTTP://WWW.BOLANOSDJ.COM.AR/TEORIA/SENSORESOPTICOS.PDF](http://www.bolanosdj.com.ar/teoria/sensoresopticos.pdf)

³**FLUORESCENCIA** | MICROSCOPIA FLUORESCENTE

[HTTP://WWW.TECNICAENLABORATORIOS.COM/NIKON/INFO_FLUORESCENCIA .HTM](http://www.tecnicaenlaboratorios.com/nikon/info_fluorescencia.htm)

⁴TAYLOR & FRANCIS GROUP, LLC.

HANDBOOK OF OPTICAL METROLOGY: PRINCIPLES AND APPLICATIONS

TORU YOSHIZAWA, EDITOR. 2008.

⁵DONALD VOET, JUDITH G. VOET

BIOQUÍMICA

ED. MÉDICA PANAMERICANA, 2006.

⁶**LEY DE BEER-LAMBERT**

[HTTP://ES.WIKIPEDIA.ORG/WIKI/LEY_DE_BEER-LAMBERT](http://es.wikipedia.org/wiki/Ley_de_Beer-Lambert)

⁷TRUDY MCKEE, JAMES R MCKEE.

BIOQUÍMICA: LA BASE MOLECULAR DE LA VIDA 3ª EDICIÓN

MCGRAW-HILL-INTERAMERICA. 2003.

⁸TERESA AUDESIRK, GERALD AUDESIRK, BRUCE E. BYERS.

BIOLOGÍA: LA VIDA EN LA TIERRA 8ª EDICIÓN.

EDITORIAL PEARSON. 2008.

⁹SCOTT FREEMAN.

BIOLOGÍA 3ª EDICIÓN.

EDITORIAL PEARSON. 2009.

¹⁰GABRIELA BEATRIZ CORDON.

MÉTODOS ÓPTICOS NO DESTRUCTIVOS PARA MONITOREO DE SALUD VEGETAL

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES, UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES. 2009.

¹¹HUANG J, ZHANG PJ, ZHANG J, LU YB, HUANG F, LI MJ.

CHLOROPHYLL CONTENT AND CHLOROPHYLL FLUORESCENCE IN TOMATO LEAVES INFESTED WITH AN INVASIVE MEALYBUG, PHENACOCUS SOLENOPSIS (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE).

2013 SEP 16.

¹²ANSELMO GONZÁLEZ-TORRES, URIEL FIGUEROA-VIRAMONTES, JORGEA. DELGADO.

LA UTILIZACIÓN DE UN MEDIDOR PORTÁTIL DE CLOROFILA PARA ESTIMAR EL NITRÓGENO FOLIAR EN ORÉGANO

ENSAYO PRELIMINAR SOBRE,
UNIVERSIDAD MILITAR NUEVA GRANADA. 2011.

¹³INGS. AGRS. GUSTAVO N. FERRARIS Y LUCRECIA A. COURETOT

PREDICCIÓN DE LA RESPUESTA A NITRÓGENO EN MAÍZ UTILIZANDO EL MEDIDOR DE CLOROFILA N-TESTER

2008/ 2009

¹⁴N. RAMU.

GESTIÓN DE NITRÓGENO DE TRIGO DE CONFORMIDAD CON CONDICIONES DE RIEGO

DEPARTMENT OF AGRONOMY COLLEGE OF AGRICULTURE, DHARWAD
UNIVERSITY OF AGRICULTURA SCIENCES DHARWAD. 2008.

¹⁵M.C. SUSANA GONZÁLEZ AGUILAR.

ENVERDECIMIENTO DE LA ESPATA DE SPATHIPHYLLUM WALLISII REGEL.

COLEGIO DE POSTGRADUADOS CAMPUS MONTECILLO. 2009.

¹⁶ÁLVARO RINCÓN CASTILLO, GUSTAVO ADOLFO LIGARRETO.

RELACIÓN ENTRE NITRÓGENO FOLIAR Y EL CONTENIDO DE CLOROFILA, EN MAÍZ ASOCIADO CON PASTOS EN EL PIEDEMONTE LLANERO COLOMBIANO
REVISTA CORPOICA - CIENCIA Y TECNOLOGÍA AGROPECUARIA. 2010.

¹⁷MANUEL FERRARI 1,2, L.A. RIVOLTELLA¹ Y J.M. CASADO.

DIAGNÓSTICO DE FERTILIDAD Y ESTRATEGIAS DE FERTILIZACIÓN NITROGENADA EN SORGO GRANÍFERO.

TRABAJO PRESENTADO EN EL XIX CONGRESO LATINOAMERICANO DE LA CIENCIA DEL SUELO - XXIII CONGRESO ARGENTINO DE LA CIENCIA DEL SUELO. 2012.

¹⁸ANSELMO GONZÁLEZ-TORRES, URIEL FIGUEROA-VIRAMONTES, JORGE A. DELGADO, GREGORIO NÚÑEZ-HERNÁNDEZ, JOSÉ A. CUETO-WONG, PABLO PRECIADO-RANGEL Y ARTURO PALOMO-GIL.

CALIBRACIÓN DEL SPAD-502 PARA EVALUAR REQUERIMIENTOS DE NITRÓGENO EN MAÍZ FORRAJERO.

TERRA LATINOAMERICANA 27: 303-309. 2009.

¹⁹BIÓL. GABRIELA MARISOL VÁZQUEZ CUEVAS.

EFFECTO DEL DERRAME DE HIDROCARBUROS SOBRE UNA ESPECIE DE MANGLE

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO. 2012.

²⁰QIHUA LING, WEIHUA HUANG, AND PAUL JARVIS

USE OF A SPAD-502 METER TO MEASURE LEAF CHLOROPHYLL CONCENTRATION IN *ARABIDOPSIS THALIANA*.