

Artículo Original

**DESARROLLO DE FORMULACIONES DEL HERBICIDA
GLUFOSINATO DE AMONIO**

FORMULATIONS OF AMMONIUM GLUFOSINATE HERBICIDE

DEVELOPMENT

Milaidi Pérez Carballo ^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-8344-3880>
Abel Duménigo González ¹ <https://orcid.org/0000-0002-9663-7254>
Bárbara González Dávila ¹ <https://orcid.org/0000-0002-2266-9835>
Jesús Gibert Laureiro ¹ <https://orcid.org/0000-0002-7150-4658>
Yilian Batista López ¹ <https://orcid.org/0000-0003-0565-8816>

¹ Centro de Ingeniería e Investigaciones Químicas (CIQ). Vía Blanca s/n entre Infanta y Palatino.
Cerro, La Habana, Cuba.

Recibido: Febrero 27, 2020; Revisado: Abril 5, 2020; Aceptado: Junio 12, 2020

RESUMEN

Introducción:

El Glufosinato de amonio es un herbicida de gran efectividad, utilizado en 82 países para controlar malezas en más de 100 cultivos. En Cuba, actualmente se planifican montos de importación de este plaguicida de 2,3 MUSD anuales. Como consiguiente, la introducción de productos como este en la producción nacional es una premisa del país.

Objetivo:

Desarrollar formulaciones de Glufosinato de amonio al 15 % como concentrado soluble (CS).

Materiales y Métodos:

La formulación se obtuvo mediante la dilución de Glufosinato de amonio en agua y el empleo de tensoactivos. El comportamiento del formulado en el tiempo se evaluó mediante estudios de estabilidad hasta 12 meses, por los métodos de almacenamiento acelerado y prolongado respectivamente, en los cuales se llevó a cabo la determinación del pH, densidad, humedad y contenido de ingrediente activo. Con la aplicación del producto en la etapa de post-emergencia de las malezas en el cultivo del arroz, se determinó la efectividad biológica.



Este es un artículo de acceso abierto bajo una Licencia *Creative Commons* Atribución-No Comercial 4.0 Internacional, lo que permite copiar, distribuir, exhibir y representar la obra y hacer obras derivadas para fines no comerciales.

* Autor para la correspondencia: Milaidi Pérez, Email: milaidi@ciq.cu



Resultados y Discusión:

Durante la evaluación, bajo condiciones severas de temperatura y humedad, así como en envejecimiento, los resultados de los parámetros físicos químicos se obtuvieron dentro de los rangos permisibles, indicando que no ocurrieron cambios físicos o degradación química. El ensayo biológico demostró que controla mejor las malezas monocotiledóneas, sin revelar fitotoxicidad en el cultivo.

Conclusiones:

El estudio evidencia que el formulado es estable en el tiempo. El ensayo biológico determinó que controla las malezas en el cultivo de arroz. El producto recibió el permiso de uso para su producción y comercialización.

Palabras clave: estabilidad; formulado; herbicida.

ABSTRACT

Introduction:

Ammonium Glufosinate is a great effective herbicide, used in 82 countries to control weeds in more than 100 crops. In Cuba, amounts of 2.3 MUSD p.a are currently being planned for this pesticide importation. As a result, the introduction of products like this in national production is a premise for the country.

Objective:

To develop 15% Ammonium Glufosinate formulations as soluble concentrate (SL).

Materials and Methods:

The formulation was obtained by Ammonium Glufosinate dilution in water using surfactants. formulated behavior over time was evaluated by stability studies up 12 months, by accelerated and prolonged storage methods respectively, in which pH, density, humidity and content of active ingredient determination was carried out. Biological effectiveness was determined with product application in the post-emergence stage of weeds in rice cultivation.

Results and Discussion:

During the evaluation, under severe conditions of temperature and humidity, as well in aging, chemical physical parameters results were obtained within allowable ranges, indicating that no physical changes or chemical degradation occurred. The biological test showed that it controls monocotyledonous weeds better, without revealing phytotoxicity in the crop.

Conclusions:

The study shows that the formulated is stable over time. The biological test determined that it controls weeds in rice cultivation. The product received the use permit for its production and commercialization.

Keywords: stability; formulated; herbicide.

1. INTRODUCCIÓN

El desarrollo de plaguicidas en Cuba, como un camino a la sustitución de importaciones, constituye una línea estratégica del Grupo Empresarial de la Industria

Química. Es prioritario el máximo aprovechamiento de las capacidades instaladas en el país para la producción de estos productos, con formulaciones que se pueden disponer en la industria sin precisar de nueva tecnología. El plaguicida en estudio, glufosinato de amonio, despierta un gran interés, ya que su producción representaría entre un 25-30% de ahorro del monto anual planificado para su adquisición (2,3 MUSD) por concepto de sustitución de importación del producto terminado, al ritmo actual. Se emplea en el control de una amplia variedad de malezas en cultivos como maíz, plátano, caña de azúcar, entre otros. Ayuda a mejorar la salud del cultivo y los rendimientos agrícolas cuando se emplea como parte de un programa integrado de gestión de maleza. Por otra parte, se presenta como alternativa promisoriosa al empleo del glifosato, cuyo uso presenta una tendencia a la disminución a nivel mundial, al ser declarado como potencial carcinógeno humano por la Organización Mundial de la Salud (OMS) (OMS/IARC, 2015). En este contexto, el Laboratorio de Química Orgánica del Centro de Ingeniería e Investigaciones Química desarrolla formulaciones de glufosinato de amonio al 15 % CS con el fin de obtener una fórmula satisfactoria que pueda alcanzar el permiso de uso para su posterior producción y comercialización. Precisamente el objetivo del presente trabajo es desarrollar formulaciones de Glufosinato de amonio al 15 % como concentrado soluble (CS).

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Los formulados se obtuvieron implementando las normas de especificaciones de formulación de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO) y la OMS, que abarcan la apariencia física, el contenido de ingrediente activo, sus propiedades físico-químicas y su estabilidad en almacenamiento; y demandan los métodos de ensayo publicados por el CIPAC (FAO/OMS, 2017). En la tabla 1 se muestran las materias primas empleadas. Los tensoactivos fueron seleccionados de acuerdo a su función específica adherente en la formulación, como ayuda para la mejor adhesión de las gotas del herbicida a las hojas; y su disponibilidad en la industria nacional.

Tabla 1. Materias primas

<i>Ingrediente activo (IA)</i>	<i>Solvente</i>	<i>Tensoactivos</i>
Nombre común: Glufosinato de amonio Nombre químico (IUPAC): Amonio 4-[hidroxi (metil) fosfinoíl] -DL-homoalaninate; DL-amonio homoalanin-4-il (metil) fosfinato Especificaciones de calidad (Fabricante): Pureza – 95,2% Contenido de IA - 94,0 ± 2	Agua	G-WET-FASB (Malasia\Velamar)
		THR V (68730)
		SYNWET A. (Imaspro Resourles sdn. Bhd)

Por el método MT 47.2 “Persistencia de espuma” (CIPAC, 2017a), el producto técnico se disuelve en agua adicionando los tensoactivos como auxiliares de formulación, utilizando probeta graduada de 100 mL con boca esmerilada y tapa, que se invierte 30 veces. Se mide la cantidad de espuma creada después de 1, 2 y 24 horas de observación. Aspecto general: Se observa que el producto presente un color uniforme y sin contenido

de sólidos. En el caso de CS, que forme una solución verdadera del activo al ser diluido.

2.1. Ensayos físicos químicos

2.1.1. Estudio de estabilidad o almacenamiento acelerado (AA)

De acuerdo al procedimiento MT 46.3 (CIPAC, 2017b), el formulado que presente la apariencia descrita en el aspecto general se mantiene durante 14 días en estufa a $54^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, en un volumen aproximado de 100 mL y en recipiente herméticamente cerrado. Posteriormente se determinan los parámetros pH, densidad, humedad y contenido de ingrediente activo. Si la solución muestra resultados satisfactorios, es reproducida y sometida al estudio de estabilidad, envejecimiento o almacenamiento prolongado.

2.1.2. Estudio de estabilidad o almacenamiento prolongado (AP)

Se conserva en anaquel a temperatura ambiente de $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$, durante un tiempo mínimo de un año. Se evalúan los parámetros pH, densidad, humedad y contenido de ingrediente activo a los tres, seis, nueve y doce meses de envejecimiento.

2.1.3. Determinación de parámetros físicos químicos

1. pH: Mediante un medidor de pH y electrodos de vidrio a temperatura de 25°C , de acuerdo al método MT 75.3 (CIPAC, 2017c).
2. Densidad: Con el empleo del picnómetro se comparan los pesos de iguales volúmenes, como indica el procedimiento MT 3.2 (CIPAC, 2017d).
3. Humedad o Contenido de agua: Por el método Dean Stark (MT 30.5 CIPAC, 2017e).
4. Contenido de ingrediente activo: Se cuantifica mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) sobre una columna de intercambio aniónico de base fuerte (ZORBAX amina 4,6 mm x 25 cm) y detección UV a 195 nm (CIPAC, 2017f). La determinación cuantitativa se realiza por comparación con un estándar externo de composición conocida (patrón analítico de glufosinato de amonio al 95%), con una precisión del método dentro de un 1%.

2.2 Ensayo biológico del Glufosinato de amonio 15% CS

El ensayo se lleva a cabo para el control de malezas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en post emergencia, en la Cooperativa de Créditos y Servicios (CCS) “Antonio Maceo”, Empresa Agropecuaria Horquita, en el municipio Abreus, provincia Cienfuegos, Cuba. El experimento se desarrolla en un área de suelo pardo y se realiza riego por aniego con la frecuencia que necesite el cultivo. El diseño fue de bloque al azar con dos variantes y cuatro réplicas, en un área de 10 m^2 para el análisis, aplicando la dosis óptima propuesta en el permiso de uso del glifosato estándar de producción (tabla 2).

Tabla 2. Variantes empleadas en el experimento

No.	Variantes	Dosis
1	Glufosinato de amonio 15% CS	4,0 L PC/hm ²
2	Estándar de producción (Glifosato 48% CS)	4,0 L PC/hm ²

La aplicación del herbicida se realiza con mochila Guarani empleando boquilla de abanico, de forma tal de lograr una buena cobertura. A continuación, se muestrean las especies evaluándose el porcentaje de cobertura, mediante el método de marco cuadrado (Püntener y Zahner, 1981), para determinar el efecto del herbicida en cada una de las variantes a los 7, 14 y 21 días después del tratamiento. Los datos son procesados efectuándose los análisis de varianza correspondientes con el empleo del paquete estadístico STATISTICA para Windows versión 4.0 (StatSoft, 1993).

A los 21 días se evalúa la toxicidad del formulado a las malezas dicotiledóneas por tratamiento según escala de nueve grados (Püntener y Zahner, 1981) (tabla 3).

Tabla 3. Escala de nueve grados para evaluar la toxicidad sobre las malezas

Valor	1	2	3	4	5	6	7	8	9
% de control de malezas	100	99,9 a 98	97,9 a 95	94,9 a 90	89,9 a 82	81,9 a 70	69,9 a 55	54,5 a 30	29,9 a 0

De acuerdo con lo planteado por Püntener y Zahner, (1981), la toxicidad al cultivo se evalúa por escala de puntuación llamada European Weed Research System (EWRS) (tabla 4).

Tabla 4. Escala de puntuación EWRS

Puntuación	Síntomas de intolerancia
1	Ausencia absoluta de síntomas/plantas sanas.
2	Síntomas muy leves, cierta atrofia, etc.
3	Síntomas leves, pero claramente apreciables.
4	Síntomas más acusados (p.e. clorosis), sin efecto negativo sobre la cosecha.
5	Raleo de la flor, fuerte clorosis y/o atrofia; es de esperar que se vea afectada la cosecha.
6	Daños crecientes hasta la desaparición del cultivo.
7	
8	
9	

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El glufosinato de amonio es una versión sintética de la fosfinitricina, un producto de degradación de bialafos producidos por *Streptomyces viridochromogenes* y *S. hygroscopicus*, cuyas propiedades como antibióticos y herbicidas fueron descubiertos por Droge-Laser et al., (1994). Esto llevó a la síntesis de este ingrediente activo como herbicida, para uso en varios cultivos, diferentes sistemas de producción y en áreas no agrícolas (Puertas de Freitas et al., 2016).

En la tabla 5 se presentan los resultados de los ensayos de persistencia de la espuma, realizados a las diferentes formulaciones desarrolladas de este herbicida.

Tabla 5. Formulaciones desarrolladas

No.	Formulaciones	Persistencia de espuma (cm)		
		1 h	2 h	24 h
1	glufosinato de amonio + G-WET-FASB	2	4	6
2	glufosinato de amonio + THRV (68730)	0	1	1
3	glufosinato de amonio + SYNWET A	2	2	3

La receta base seleccionada entre las formulaciones desarrolladas fue la número 2, que alcanzó 1 cm de espuma de hasta 2 cm, de acuerdo a lo establecido en el método de persistencia de espuma; y generó una solución clara, sin traza de sedimento ni partículas sólidas visibles en la parte superior o en el fondo al final de las lecturas durante los estudios de almacenamiento acelerado y prolongado respectivamente, la fórmula conservó la apariencia original hasta concluir el período de prueba.

En la tabla 6 se muestran los resultados al finalizar el almacenamiento o estudio de estabilidad acelerado y prolongado.

Tabla 6. Parámetros físicos químicos

Parámetro	AA (14 días)	AP (12 meses)	Intervalo permisible	
			Límite inferior	Límite superior
pH	3,7	3,7	3,5	4,5
Contenido de agua (%)	1	1	-	1
Densidad (g/mL)	1,08	1,08	1,16	-

El análisis del valor de los parámetros determina que se encuentran dentro del intervalo permisible para este tipo de formulación (CS), lo que garantiza que la formulación no presenta propiedades físico-químicas inferiores que puedan llevar a una aplicación inadecuada del producto o aumentar el riesgo para el personal en contacto con el herbicida. La comparación de los resultados al culminar los estudios de estabilidad o almacenamiento correspondientes evidencia que no ocurre desviación de los mismos durante el estudio completo de estabilidad de la solución, lo que responde a la inexistencia de cambios físicos o degradación química del producto.

Se muestra en la tabla 7 la cuantificación del ingrediente activo en los estudios de almacenamiento o estabilidad acelerado y prolongado.

Tabla 7. Contenido de ingrediente activo (%)

No.	Fórmula	AA	AP			
		(meses)	(meses)			
		0	3	6	9	12
1	Glufosinato S/tensoactivos	14 ± 1	15,2 ± 1	15,9 ± 1	15,5 ± 1	15 ± 1
2	Glufosinato + THRV	16,3 ± 1	16,2 ± 1	16 ± 1	15,6 ± 1	15,1 ± 1

La cuantificación del ingrediente activo obtenida durante el estudio demuestra que el contenido del principio activo se comporta dentro de las desviaciones permisibles de concentración que establece la FAO y la OMS en función del contenido inicial de la

sustancia activa en el producto, entre 10-25% la variación aceptable es de $\pm 6\%$, lo que indica la estabilidad en el tiempo del formulado, sin la ocurrencia de degradación de la sustancia activa (glufosinato de amonio), con el resultado de un producto de buena calidad que asegura la eficacia en su aplicación y reduce al mínimo cualquier riesgo relacionado con su utilización, cumpliendo de esta manera con los estándares internacionales de calidad (FAO/OMS, 2017).

En el ensayo biológico se observó control de las malezas con disminución de la cobertura hasta los 21 días. Las monocotiledóneas anuales manifestaron a los 7, 14 y 21 días después del tratamiento, diferencias en el control entre las variantes; la cobertura sobre las malezas estuvo marcada en mayor valor (28%) a los 21 días con el glufosinato de amonio 15% CS a 4,0 L PC/hm² con respecto al alcanzado por el estándar (5,0%) a 4,0 L PC/hm², siendo este último más eficaz en el control sobre las malezas predominantes, mostrando diferencia estadística entre ambos tratamientos, en todos los momentos evaluados (tabla 8).

Tabla 8. Resultado de las evaluaciones para la cobertura de malezas monocotiledóneas

<i>Variantes</i>	<i>7 días</i>		<i>14 días</i>		<i>21 días</i>	
	<i>% de cobertura</i>	<i>2 arc sen ŷ</i>	<i>% de cobertura</i>	<i>2 arc sen ŷ</i>	<i>% de cobertura</i>	<i>2 arc sen ŷ</i>
glufosinato de amonio 15% CS. Dosis 4,0 L PC/hm ²	87,2	2,49a	53,0	1,63a	28,0	1,11a
glifosato 48% CS. Dosis 4,0 L PC/hm ²	62,7	1,96b	17,7	1,02b	5,0	0,45b
ET (Error típico de la media)	-	0,16	-	0,21	-	0,29
CV (Coeficiente de variación)	-	11,2	-	21,0	-	22,0
Los datos de cobertura obtenidos en porcentaje fueron transformados en 2 arc sen ŷ						

*Medias con letras desiguales (a y b) difieren para $p < 0,05$ según el test de rangos múltiples de Duncan (Lerch, 1977).

Al analizar el control de malezas dicotiledóneas, la cobertura fue disminuyendo en los distintos momentos evaluados, aunque la variante de glufosinato de amonio 15% CS presentó mayor cobertura con respecto al estándar de producción, existiendo diferencia estadística entre las dos variantes evaluadas en todos los momentos (tabla 9).

Tabla 9. Resultados de las evaluaciones para la cobertura de malezas dicotiledóneas

Variantes	7 días		14 días		21 días	
	% de cobertura	2 arc sen y \hat{p}	% de cobertura	2 arc sen y \hat{p}	% de cobertura	2 arc sen y \hat{p}
glufosinato de amonio 15% CS. Dosis 4,0 L PC/hm ²	91,2	1,70a	83,0	0,39a	38,0	1,32a
glifosato 48% CS. Dosis 4,0 L PC/hm ²	78,5	1,97b	36,3	0,70b	14,0	1,41b
ET (Error típico de la media)	-	0,16	-	0,21	-	0,29
CV (Coeficiente de variación)	-	11,2	-	21,0	-	22,0
Los datos de cobertura obtenidos en porcentaje fueron transformados en 2 arc sen y \hat{p}						

*Medias con letras desiguales (a y b) difieren para $p < 0,05$ según el test de rangos múltiples de Duncan (Lerch, 1977).

A pesar de que el estándar de producción logró los mejores porcentajes de cobertura que el producto de estudio, este último ejerció control teniendo en cuenta que existió una diferencia significativa entre las concentraciones de los ingredientes activos, 48% en el caso del glifosato y 15% para el glufosinato de amonio. Debe marcar la diferencia que en todos los momentos evaluados el glufosinato de amonio ejerció mejor control entre las monocotiledóneas que en las dicotiledóneas.

La toxicidad en las especies predominantes de los herbicidas aplicados, presentó un comportamiento similar en el glufosinato de amonio 15% CS y el estándar con acción herbicida media del 97,9 – 95% que representa el valor 3 en la escala de nueve grados; señalando que en las especies *Cyperus elegans* L. (Cortadera) y *Ludwigia erecta* (L.) H, Hara (Santa Juana), no ejercieron control los herbicidas probados. Durante el período de evaluación del efecto de Glufosinato de amonio 15% CS y el estándar, empleados sobre las malezas en el cultivo de *Oryza sativa* L. (arroz), no se observó fitotoxicidad en el cultivo, por lo que representó valor 1 en la escala de puntuación EWRS, significando una ausencia absoluta de síntomas/plantas sanas. Resultando que el producto puede incorporarse al Registro Central de Plaguicidas.

Puertas de Freitas et al., (2016) evaluaron la velocidad de absorción del glufosinato de amonio y sus efectos sobre las malas hierbas y las plantas de algodón (*Gossypium hirsutum* L.). Estos autores evidenciaron que la absorción de glufosinato de amonio aumentó hasta las 24 h en algodón y 48 h en las malezas *B. decumbens* e *I. grandifolia*. A pesar del aumento en el contenido de glufosinato en los períodos más largos sin lluvia, los niveles de amonio aumentaron y los de glutamina disminuyeron. Las hojas de algodón mostraron los contenidos más bajos de glufosinato, amoniaco y glutamina. Las dos especies de maleza tuvieron las cantidades mayores de glufosinato y amoniaco, las cuales fueron menores para *I. grandifolia* comparada con *B. decumbens*.

Este estudio, aunque se realizó en un cultivo diferente al de la presente investigación, logra evidenciar también la efectividad del glufosinato de amonio en el control de malezas, con acción selectiva sobre estas con respecto al cultivo en cuestión.

El glufosinato de amonio al 15% CS fue presentado al Registro Central de Plaguicidas de la República de Cuba, el cual le otorgó el permiso de uso No. 014/18 para su producción y comercialización, tras evaluar toda la información correspondiente a la calidad del producto y su eficacia en el control de malezas.

4. CONCLUSIONES

Atendiendo a los resultados satisfactorios del producto herbicida Glufosinato de amonio CS 15% durante el estudio se puede plantear que:

1. Se obtuvo el “*Know How*” del formulado glufosinato de amonio CS 15% empleando el tensoactivo THRV.
2. Los parámetros físicos químicos (pH, densidad, humedad y contenido de ingrediente activo) en la evaluación de la estabilidad se mantienen dentro de las desviaciones permisibles para una formulación de concentrado soluble, indicando que no ocurrieron cambios físicos o degradación química en el tiempo. Lo que responde a un producto estable, que cumple con los estándares internacionales de calidad.
3. El ensayo biológico evidencia que el producto terminado ejerció control en las malezas monocotiledóneas y dicotiledóneas en el cultivo de arroz (*Oryza sativa* L.) en post emergencia a dosis de 4,0 L PC/hm².
4. El herbicida formulado se presentó al Registro Central de Plaguicidas y le fue otorgado el permiso de uso para su producción y comercialización.

AGRADECIMIENTOS

Los autores le agradecen a los especialistas de la estación de protección de plantas de Yaguaramas: M.Sc. Niarfi Morejón López, Ing. Oscar Chaple Puerto y Téc. David Marcilla Cortés, por su colaboración en el Ensayo biológico realizado al producto terminado.

REFERENCIAS

- CIPAC., Almacenamiento acelerado., Collaborative Internacional Pesticides Analytical Council, CIPAC, 2017 a, pp. 128-129.
- CIPAC., Determinación de los valores de pH., Collaborative Internacional Pesticides Analytical Council, CIPAC, 2017 b, pp. 131-132.
- CIPAC., Determinación del contenido de agua., Collaborative Internacional Pesticides Analytical Council, 2017 c, pp. 120-121.
- CIPAC., Método del picnómetro., Collaborative Internacional Pesticides Analytical Council, 2017 d, pp. 13-14.
- CIPAC., Persistencia de espuma., Collaborative Internacional Pesticides Analytical Council, 2017 e, pp. 152-153.
- CIPAC., Determinación del ingrediente activo en materiales formulados por Cromatografía Líquida de Alta Resolución., Collaborative Internacional Pesticides

- Analytical Council, 2017 f , pp. 8-9.
- Droge-laser, W., Siemeling, U., Puhler, A., y Broer, I., The metabolites of the herbicide-phosphinothricin (glufosinate) (identification, stability, and mobility in transgenic, herbicide-resistant, and untransformed plants)., *Plant Physiol.*, Vol. 105, 1994, pp. 159-166.
- FAO/OMS., Manual sobre la elaboración y uso de las especificaciones para plaguicidas de la FAO y la OMS., Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación/Organización Mundial de la Salud. Roma, 2017, pp. 84-89.
- Lerch, G., La experimentación en las Ciencias biológicas y agrícolas., Editorial Científico-Técnica, 1977, pp. 223-224.
- OMS/IARC, Evaluación de cinco insecticidas y herbicidas organofosfatados., Organización Mundial de la Salud/International Agency for Research on Cancer, 2015, pp. 2-3.
- Puertas de Freitas, I., Carbonari, C.A., Domingues, E., Ferreira, J., Tropaldi, L., & Gimenes, G.L. Absorption velocity of glufosinate and its effects on weeds and cotton., *Agrociencia.*, Vol. 50, No. 2, 2016, pp. 239-249. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000200239&lng=es&tlng=es
- Püntener, W., Zahner, O., Manual para ensayos de campo en protección vegetal., 2^{da} edición CIBA-Geisy, Basilea, Suiza, 1981, pp. 130-131.
- StatSoft, D., STATISTICA., Paquete estadístico, 1993, pp. 2-7.

CONFLICTO DE INTERÉS

Los autores declaran que no existe conflicto de interés.

CONTRIBUCIONES DE LOS AUTORES

- M.Sc. Milaidi Pérez Carballo. Realizó el estudio, análisis y escritura del artículo.
- M.Sc. Abel Duménigo González. Colaboró en las determinaciones experimentales y colaboró con la escritura del artículo.
- Ing. Bárbara González Dávila. Realizó las cuantificaciones cromatográficas del estudio y colaboró con el análisis de los resultados.
- Téc. Jesús Gibert Laureiro. Realizó las determinaciones experimentales.
- Lic. Yilian Batista López. Realizó las cuantificaciones cromatográficas del estudio y colaboró con el análisis de los resultados.