

## ANÁLISIS MULTIELEMENTAL DE MATERIAL FOLIAR POR MEDIO DE ICP-MS

Ana Lorena Alvarado<sup>1/</sup>\*, José Miguel Yglesias\*, Oscar Güell\*

**Palabras clave:** análisis multielemental, material foliar, plasma inducido, detector de masas, validación.  
**Keywords:** multielemental analysis, foliar material, inductively coupled plasma, mass detector, validation.

Recibido: 23/08/04

Aceptado: 24/01/05

### RESUMEN

Se desarrolló un método analítico que permite la aplicación de la técnica híbrida "ICP-MS" en el análisis multielemental simultáneo de tejidos foliares. Se optimizó el tratamiento del material foliar, el cual consistió en digerir aproximadamente 0,38 g del tejido foliar, previamente secado y tamizado a 0,5 mm, con HNO<sub>3</sub> concentrado; al digerido así obtenido, se le agregó Telurio como estándar interno y luego se diluyó con agua desionizada. La cuantificación se llevó a cabo mediante un ICP-MS ELAN 6000 de PE-Sciex, bajo condiciones instrumentales recomendadas en la literatura y algunas obtenidas mediante procesos de optimización. Los parámetros del desempeño analítico fueron satisfactorios para los siguientes elementos: Al, As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Sb, Se, Tl, V y Zn. Sus límites de detección se calcularon mediante 2 procedimientos diferentes, y oscilaron entre 1 µg l<sup>-1</sup> para el Cd y 40 µg l<sup>-1</sup> para el P. La exactitud de la metodología propuesta se evaluó determinando los porcentajes de recuperación a 3 niveles de concentración diferentes y empleando además una muestra con contenidos certificados para algunos de los elementos. Los resultados de ambos ensayos incluyeron recuperaciones ubicadas entre un 82% para el Mg y 140% para el Zn. Las sensibilidades promedio se encontraron entre 157 cps (µg l<sup>-1</sup>)<sup>-1</sup> para el Be y 12272 cps

### ABSTRACT

**Multielemental analysis of foliar tissue using ICP-MS.** An analytical method that allows the applicability of the hybrid technique ICP-MS to simultaneous multielemental analysis for foliar tissues was developed. The sample treatment, was optimized by digesting approximately 0.38 g of the foliar tissue, previously dried and screened to 0.5 mm mesh, with concentrated HNO<sub>3</sub> until a clear product was obtained, after dilution with deionized water. Te was added as an internal standard. The quantification was done with an ICP-MS ELAN 6000, from PE-Sciex, under recommended instrumental conditions from the literature and other conditions optimized in the laboratory. The analytical performance parameters were satisfactory for the following elements: Al, As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Sb, Se, Tl, V and Zn. The detection limits were calculated by 2 methods, and they ranged between 1 µg l<sup>-1</sup> for Cd and 40 µg l<sup>-1</sup> for P. The accuracy of the proposed methodology was evaluated by determining the recovery percentage at 3 different concentration levels, also with a matrix with certified contents for some elements. Results from both assays included recoveries between 82% for Mg and 140% for Zn. The average values of sensitivities ranged from 157 cps (µg l<sup>-1</sup>)<sup>-1</sup> for Be to 12272 cps (µg l<sup>-1</sup>)<sup>-1</sup> for Tl. The precision of the method, as expressed by means of the relative standard

1/ Autor para correspondencia. Correo electrónico: agamez@cariari.ucr.ac.cr

\* Escuela de Química, Universidad de Costa Rica. San José, Costa Rica.

( $\mu\text{g l}^{-1}$ )<sup>-1</sup> para el Tl. La precisión del método, expresada mediante la desviación estándar relativa, abarcó desde un 0,8% para el As hasta un 18,6% para el Zn. Se comprobó también que las respuestas obtenidas para cada elemento presentaron un comportamiento lineal en el ámbito de concentraciones de interés.

## INTRODUCCIÓN

El término “análisis foliar” incluye todos aquellos métodos de diagnóstico directo que hacen uso del análisis químico aplicado a partes representativas de las plantas (Carvajal 1978). Si se desea enfocar el análisis foliar desde el punto de vista de balance nutricional de la planta, una adecuada selección de muestras puede incluir, la planta entera o secciones específicas de la misma, como los pecíolos, las raíces, y las hojas. Sin embargo, generalmente son estas últimas las que mejor reflejan el estado nutricional de la planta, ya que es ahí donde se efectúa la elaboración de las sustancias para el crecimiento y la fructificación.

Como técnica de diagnóstico, del estado nutricional de los cultivos, el análisis foliar se basa en la necesidad de una concentración específica de nutrimentos, que tiene cada órgano de la planta para el desarrollo normal de sus funciones. La concentración óptima de cada nutrimento depende del papel que este juega en el metabolismo y es determinada experimentalmente (Bertsch 1998); así la evaluación nutricional rutinaria de tejidos foliares consiste en la comparación de los resultados de laboratorio obtenidos para un cultivo de interés y los niveles propuestos como óptimos para dicho cultivo.

Debido a que el contenido de elementos varía considerablemente entre los diferentes órganos de la planta, con la edad del tejido y con la edad de la planta, se han estandarizado los procedimientos de muestreo para cada cultivo (Bertsch 1998). La confiabilidad de las conclusiones del análisis foliar, dependerá entonces de la similitud

deviation, was from 0.8% for As to 18.6% for Zn. It was shown also that results obtained for each element presented a linear behavior in the range of concentrations concerned.

entre los parámetros de muestreo empleados para la determinación de los valores críticos de cada nutrimento y los utilizados en la selección de las muestras del cultivo que se quiere evaluar.

Es importante mencionar que el análisis foliar generalmente se complementa con un estudio de la fertilidad y de las propiedades del suelo (Houba *et al.* 1992). La realización de un análisis de suelos complementario al análisis foliar es de mucha importancia, ya que se espera que exista una relación directa entre la proporción existente de los contenidos nutricionales en el suelo y en las hojas y la razón entre dichos contenidos y el rendimiento de la planta (Espinoza 1994).

Las plantas son una importante fuente de alimento humano y animal, además de ser utilizadas como materia prima para la obtención de innumerables productos medicinales e industriales, por lo tanto, es de primordial importancia la evaluación del contenido del mayor número de elementos posible, sin importar si estos forman o no parte del balance nutricional de las mismas, ya que podrían ser perjudiciales o afectar de alguna manera el desempeño de las actividades mencionadas.

Como consecuencia de la contaminación de los suelos, del aire, de las aguas e incluso como producto de fumigaciones y fertilizaciones directas, es posible que se de la acumulación de elementos tóxicos en los tejidos de las plantas, de ahí la importancia de llevar a cabo análisis foliares para evaluar la concentración de los mismos. De esta manera, el análisis foliar también es empleado como práctica preventiva y de control de calidad, además de ser utilizado como índice de contaminación ambiental.

Desde hace muchas décadas se ha venido utilizando la técnica de absorción atómica de llama para la determinación de elementos en muestras foliares, además de algunas otras técnicas de emisión de llama, pero algunas de ellas presentan limitaciones en cuanto a: límites de detección que pueden ser alcanzados, efectos de matriz (Spiers *et al.* 1983), tipo de muestra, ámbito lineal y número de elementos que pueden ser analizados en forma simultánea. Es por esto que más recientemente, la espectroscopia de emisión con plasma ha llegado a estar a la vanguardia como herramienta analítica para la determinación multielemental en tejidos foliares. El sistema de emisión con plasma es mucho más adaptable a los cambios de matriz y al tipo de muestra, su ámbito lineal permite llevar a cabo análisis a bajas y a altas concentraciones del mismo elemento (Isaac 1985), además de la posibilidad de efectuar análisis multielementales rápidos (Jones 1977, Madeddu y Rivoldini 1996), características que han permitido el empleo exitoso de la técnica de emisión con plasma al análisis foliar (Havlin y Soltanpour 1980). La técnica de emisión atómica con fuente de plasma inducido y detector óptico (ICP-OES) se ve limitada debido a que los límites de detección de dicha técnica para algunos elementos son altos y no se encuentran a nivel de trazas (Olesik 1991), por lo tanto cuando los elementos de interés se encuentran en el tejido foliar a nivel de trazas, es necesario llevar a cabo procesos de preconcentración o bien aumentar la masa de la muestra empleada en el proceso de mineralización, prácticas que podrían limitar la flexibilidad y aplicabilidad del análisis foliar.

Las exigencias ambientales y de investigación de hoy en día, que amplían el enfoque tradicionalmente dado al análisis foliar, requieren el empleo de técnicas analíticas más sofisticadas. Técnicas que sean capaces de combinar altas capacidades de análisis multielemental y ámbitos amplios de trabajo lineal, como lo ofrece el ICP, con límites de detección excepcionales, como los que pueden alcanzarse con un horno de grafito en Absorción Atómica. Es así que el desarrollo de la técnica híbrida de plasma acoplado a un espectrómetro de masas, ICP-MS (Denoyer 1991), que

reúne las características anteriormente citadas (Sargeant y Webb 1993), representa una herramienta importante para responder a las necesidades analíticas de muchos campos del quehacer agrícola de nuestros tiempos.

El objetivo de esta investigación fue desarrollar un método confiable que permita la aplicación de la técnica híbrida "ICP-MS" en el análisis multielemental de tejidos foliares.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Limpieza de la cristalería utilizada

La cristalería se lavó empleando jabón no iónico de la marca Alconox y agua potable, luego se enjuagó 3 veces con agua desionizada destilada y se colocó en baño de ácido nítrico (calidad para análisis) al 20% durante 15 días. Después se enjuagó 3 veces con agua destilada y desionizada y luego 3 veces más con agua destilada y desionizada de 18,2 M $\Omega$  (Milli Q). La cristalería limpia se secó en la estufa a baja temperatura y finalmente se colocó en bolsas plásticas cerradas.

### Tratamiento de las muestras

Las muestras de helecho empleadas en los análisis fueron suministradas por el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA) y las metodologías de análisis, así como los resultados obtenidos, se basaron únicamente en la concentración elemental de dichas muestras, es decir no se consideraron los procedimientos de muestreo llevados a cabo.

El procedimiento habitual que fue seguido, una vez tomada la muestra, consistió en lavar rápidamente cada una de las hojas utilizando agua fría y agua destilada, lo cual se llevó a cabo con el fin de eliminar cualquier contaminación con polvo, suelo, otros tejidos, fertilizantes, fungicidas, etc. Cuando las hojas estuvieron exteriormente limpias se introdujeron en bolsas de papel y se secaron en la estufa a 60°C durante 48 h aproximadamente. Una vez secas, se molieron y tamizaron con una malla de 1 mm

de diámetro para homogeneizar las muestras. Sin embargo, con el fin de mejorar la precisión de los resultados preliminares, esta malla se redujo de diámetro a 0,5 mm en las evaluaciones definitivas. Finalmente, el producto molido se almacenó en bolsas plásticas cerradas (Henríquez *et al.* 1995) y se colocó en desecadores. Las hojas ya molidas se secaron nuevamente a 85°C durante 2 h en la estufa y se tomaron muestras de 0,35-0,39 g que se colocaron en balones de 100 ml para la digestión, empleando ácido nítrico grado analítico al 70% en cantidades entre 8,0 y 9,5 ml. Las muestras se calentaron en un sistema abierto sobre una planchilla eléctrica en una capilla, durante 3 h a una temperatura de 115-120°C hasta la obtención de un color amarillo claro. Seguidamente se eliminaron los vapores de los óxidos de nitrógeno generados y se llevaron casi a sequedad. Una vez digeridas se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se aforaron a 100 ml empleando agua destilada y desionizada (Milli Q). Se utilizó Te como estándar interno a una concentración de 44,6  $\mu\text{g l}^{-1}$  en la disolución final. Los extractos obtenidos se leyeron en el modo cuantitativo con una curva de calibración en un espectrómetro ICP-MS modelo ELAN 6000 (Perkin Elmer-Sciex).

### Preparación de patrones

Para los elementos As, Be, Ca, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Mg, Mn, Mo, Ni, Pb, Sb, Se, Ti, Tl, V y Zn se empleó una disolución madre de 100  $\mu\text{g l}^{-1}$  (Perkin-Elmer, P/N N 930-0209); las disoluciones madre de 1000  $\mu\text{g l}^{-1}$  para el Al, B y P, al igual

que la de Li de 2000  $\mu\text{g l}^{-1}$  fueron preparadas y proporcionadas por el Centro de Electroquímica y Energía Química (CELEQ). Las disoluciones madre de 1000  $\mu\text{g l}^{-1}$  para el K, Na y S fueron preparadas empleando las sales de ftalato ácido de potasio, oxalato de sodio y sulfato de sodio todas tipo primario, respectivamente. En algunos de los patrones de las curvas de calibración, generalmente de 0,08  $\text{mg l}^{-1}$  en adelante, al igual que con varios de los enriquecimientos a partir de 1  $\text{mg l}^{-1}$ , se emplearon disoluciones madre de 1000  $\mu\text{g ml}^{-1}$  que incluyeron los elementos Al, Ca, Fe, Mg, Mn, y Zn. Dichas disoluciones fueron suministradas por Fisher (Fe, Mg, Mn, Zn) y J.T.Baker (Al, Ca) y las facilitó el CIA.

### Condiciones instrumentales

Se utilizó un ICP-MS Elan 6000 (Perkin Elmer-Sciex) con una bomba peristáltica como dispositivo de aspiración de la muestra. Los parámetros instrumentales de optimización (Perkin Elmer Sciex 1994) que se emplearon en todos los análisis se indican en el cuadro 1.

### Determinación de los parámetros de desempeño

La veracidad del método se determinó enriqueciendo las muestras a 3 niveles de concentración diferentes y en 2 ámbitos distintos, uno alto y uno bajo. Para el ámbito de concentraciones bajas se enriqueció a 10, 25, y 50  $\mu\text{g l}^{-1}$  con los elementos As, B, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Li, Mo,

Cuadro 1. Parámetros de optimización utilizados.

Parámetro	Valor empleado
Flujo del nebulizador	0,73 - 1,0 l min <sup>-1</sup>
Voltaje de los lentes	8V-9,5 V
Poder de radiofrecuencia	1000 W
Voltaje de detector analógico (Analog Stage Voltage)	-1950 V
Voltaje de detector de pulsos (Pulse Stage Voltage)	1200 V
Discriminador de umbral (Discriminator Threshold)	150 mV
Corriente alterna de compensación de radiofrecuencia (Ac Rad Offset)	-5 Voltios

Ni, Pb, Sb, Se, Ti, Tl y V, mientras que con los elementos Al, Ca, Fe, K, Mg, Mn, Na, P, y Zn se llevaron a cabo enriquecimientos a 1, 3 y 5 mg l<sup>-1</sup>. También se realizó un análisis paralelo de una muestra certificada de espinaca (National Bureau of Standards S.R.M 1570) para los siguientes elementos Al, Ca, Cr, Cu, Fe, Mn, P, Pb y Zn.

La precisión se obtuvo como resultado proporcional de las desviaciones estándar relativas observadas para cada uno de los elementos, las que fueron obtenidas de los enriquecimientos múltiples que se llevaron a cabo.

Los límites de detección fueron determinados empleando patrones de 0, 10, 100 y 200 µg l<sup>-1</sup> de cada uno de los elementos, utilizando para ello el método de Miller y Miller (2002) y el de Hubaux y Vos (1970) con algunas modificaciones que se detallan en la discusión. Las curvas de calibración de cada elemento se elaboraron empleando 5 patrones iniciales de 10 µg l<sup>-1</sup>, 1 patrón intermedio de 100 µg l<sup>-1</sup> y 2 patrones mayores de 200 µg l<sup>-1</sup>.

Tanto la sensibilidad como el ámbito lineal fueron obtenidos como resultado de las curvas de calibración que se utilizaron en las cuantificaciones.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La determinación de concentraciones bajas de elementos depende de la calidad de los blancos analíticos que pueden ser obtenidos; esta es a su vez dependiente de la pureza de los reactivos involucrados, además de la limpieza tanto del equipo utilizado para su preparación, como de los recipientes contenedores (Moody 1977). De esta manera fue necesario establecer un procedimiento de lavado de cristalería, para asegurarse que esta no representara una fuente importante de contaminación en los blancos utilizados.

Para el tratamiento de muestras de helado se realizaron varios ensayos de digestión empleando ácido nítrico, ácido perclórico y peróxido de hidrógeno, cuyos resultados fueron satisfactorios para decolorar la disolución final, pero estas mezclas no se utilizaron debido a que se consideró innecesario que la disolución final

fuese incolora, ya que luego se iba a utilizar una fuente de plasma de argón de alta temperatura. De esta manera, se utilizaron menos reactivos en el proceso de digestión, lo que podría favorecer los límites de detección, ya que no se introducen en la disolución las impurezas presentes en el peróxido de hidrógeno. En la digestión con HNO<sub>3</sub> se obtuvo una disolución clara, pero no incolora, debido a la permanencia de óxidos de nitrógeno en la disolución. En algunos casos se observó también la presencia de sílice como un sólido amorfo. Sin embargo, el uso de únicamente HNO<sub>3</sub> es recomendable para las digestiones foliares cuantificadas mediante la técnica de ICP-MS, ya que este ácido presenta un espectro de fondo muy parecido al del agua (Montaser y Golightly 1992). Si el empleo de este ácido no fuese suficiente para llevar a cabo una oxidación completa del material orgánico y quedarán libres en la disolución moléculas orgánicas o complejos, estas serían atomizadas efectivamente en el ICP debido a la alta temperatura generada por el plasma (Havlin y Soltanpour 1980). Una mejora al método de digestión empleado, podría ser la utilización de un sistema digestor de microondas con contenedores de teflón, lo cual reduciría la cantidad de HNO<sub>3</sub> empleada, minimizaría las pérdidas por volatilización y, de ser necesario, permitiría la utilización de HF para eliminar los residuos de sílice formados (Madeddu y Rivoldini 1996).

Se realizaron varios procedimientos de afinamiento y calibración del equipo con el fin de obtener la mayor eficiencia instrumental. Por ejemplo, la calibración de las masas se realizó para corregir las diferencias que pudieran existir entre la masa leída por el equipo y la masa exactamente conocida para cada isótopo. Mientras tanto el afinamiento o ajuste de la resolución de los picos se realizó para obtener el mejor balance entre la separación de los picos y la razón señal-ruido. En todos los procesos de afinamiento y de optimización se utilizaron disoluciones que contenían <sup>208</sup>Pb, <sup>24</sup>Mg y <sup>103</sup>Rh con la finalidad de cubrir un ámbito de masas bastante extenso y abarcar así la mayoría de los elementos de interés.

Con el fin de minimizar efectos de matriz generados por atomizaciones incompletas, la

mayoría de los métodos cuantitativos reportados recomiendan el empleo de un estándar interno (Montaser y Golightly 1992) de manera que el Te fue utilizado como tal. Al comparar los coeficientes de correlación de las curvas de calibración obtenidas, fue posible apreciar que en su gran mayoría, las curvas en las que sí se utilizó el estándar interno presentan coeficientes de correlación más cercanos a la unidad, de modo que el Te representa un buen estándar interno para el análisis de los elementos de interés, por lo que fue empleado en todos los demás análisis efectuados.

En la técnica de ICP-MS deben seleccionarse las masas isotópicas más convenientes para el análisis a efectuar. Los isótopos que fueron seleccionados en el método desarrollado se resumen en el cuadro 2. Como se aprecia en la mayoría de los casos se emplearon los isótopos más abundantes de cada elemento, solamente para el Ca, el Fe y el Se esto no fue posible debido a las interferencias isobáricas presentes en cada uno de ellos. Sin embargo, la intensidad generada tanto por el  $^{82}\text{Se}$  como por los isótopos más abundantes de algunos de los elementos evaluados, se corrigieron individualmente debido a la presencia de interferencias isobáricas sobre los mismos, por lo que se aplicaron ecuaciones sencillas para eliminar, de la señal de interés, el porcentaje de intensidad debido a la interferencia presente.

Para el cálculo de los límites de detección y cuantificación se utilizaron las definiciones propuestas por Miller y Miller (2002) y por Hubaux y Vos (1970) con algunas modificaciones. Por ejemplo, la escogencia de la distribución de los patrones constituyentes de las curvas de calibración empleadas, para la obtención de ambos límites por ambos métodos, se realizó mediante el método de “los tres valores” presentado por Hubaux y Vos (1970). Las mismas curvas fueron utilizadas en el cálculo propuesto por Miller y Miller (2002), ya que en dicho tratado no se hace ninguna sugerencia en cuanto a un orden recomendado para la distribución de los patrones. Las curvas de calibración de cada elemento se elaboraron empleando 5 patrones iniciales de  $10 \mu\text{g l}^{-1}$ , 1 patrón intermedio de  $100 \mu\text{g l}^{-1}$  y 2

patrones mayores de  $200 \mu\text{g l}^{-1}$ . No se prepararon más patrones superiores a los  $200 \mu\text{g l}^{-1}$  ya que no se habría observado ninguna ganancia considerable en los resultados obtenidos, debido a que se hubiese excedido el ámbito recomendado entre los patrones extremos, entre los cuales debe existir una diferencia de 20 veces el patrón más pequeño que señala Hubaux y Vos (1970). Es interesante mencionar, que si se hubiese seguido

Cuadro 2. Isótopos seleccionados para realizar la determinación de cada uno de los elementos evaluados.

Elemento	Isótopo	Masa u.m.a.	Abundancia natural %
Al	27	26,9815	100,0000
As	75	74,9216	100,0000
B	11	11,0093	80,1000
Be	9	9,0122	100,0000
Ca	44	43,9555	2,0860
Cd	114	113,904	28,7300
Co	59	58,9332	100,0000
Cr	52	51,9405	83,7890
Cu	63	62,9298	69,1700
Fe	57	56,9354	2,2000
K	39	38,9637	93,2581
Li	7	7,016	92,5000
Mg	24	23,985	78,9900
Mn	55	54,9381	100,0000
Mo	98	97,9055	24,1300
Na	23	22,9898	100,0000
Ni	58	57,9353	68,0770
P	31	30,9938	100,0000
Pb	208	207,977	52,4000
S	32	31,9721	95,0200
Sb	121	120,904	57,3600
Se	82	81,9167	8,7300
Te	130	129,907	33,8000
Ti	48	47,948	73,8000
Tl	205	204,975	70,4760
V	51	50,944	99,7500
Zn	64	63,9291	48,6000

la fórmula matemática desarrollada por Hubaux y Vos (1970) para la determinación del ámbito de concentraciones que deben abarcarse, este hubiera sido muy extenso debido a la utilización del blanco. Fue por este motivo que se utilizó el factor de 20, que es el valor recomendado para cuando hay disponible un blanco de los patrones.

En el cuadro 3 se detallan los límites calculados por el método de Miller y Miller (2002), los cuales no varían significativamente de los calculados por Hubaux y Vos (1970).

La exactitud y la veracidad de los resultados que genera el método desarrollado fue evaluada mediante 2 de los procedimientos recomendados por Green (1996). El primero de ellos, el cual se realizó para algunos de los elementos de interés, consistió en el análisis de una muestra certificada de espinaca y se evaluó la exactitud. El segundo, efectuado para todos los elementos propuestos, consistió en llevar a cabo enriquecimientos y calcular los porcentajes de recuperación correspondientes, y se evaluó la veracidad. Los enriquecimientos efectuados se diseñaron en 2 grupos, uno para bajas y otro para altas concentraciones. De manera que en cada uno de los grupos se efectuaron enriquecimientos empleando 7 réplicas a 3 niveles de concentración diferentes, como recomienda Taylor (1987). En el ámbito de bajas concentraciones (Cuadro 4), se enriqueció a 10, 25 y 50  $\mu\text{g l}^{-1}$ , mientras que en las concentraciones altas, los enriquecimientos se efectuaron a 1, 3 y 5  $\text{mg l}^{-1}$  (Cuadro 5). Es importante mencionar que el Ca, K, B y Ti no fueron incluidos en los cuadros respectivos debido a que tanto los porcentajes de recuperación obtenidos, como sus respectivas desviaciones estándar, no fueron satisfactorios para su validación (recuperación < 80%). Estos resultados pueden deberse a varias interferencias. Por ejemplo, el Ca se ve interferido por especies poliatómicas generadas por elementos presentes en las disoluciones patrón mixtas utilizadas, Mg y Al, así como MgO y AlO. El K se ve interferido por la especie ArH generando resultados erróneos en su determinación. Algunos autores recomiendan la aplicación de condiciones instrumentales diferentes a las

que fueron utilizadas; el uso de plasma frío, que se obtiene con la disminución del poder de radiofrecuencia, es una de las variantes más importantes con respecto a la metodología convencional, a dicho conjunto de modificaciones se le conoce como “plasma frío” (Tanner *et al.* 1995). El B se ve afectado por pérdidas por volatilización o fenómenos de absorción o adsorción en la antorcha de cuarzo (Spiers *et al.* 1983). Por otro lado, en el caso del Ti, la dispersión de los datos puede justificarse debido a que el isótopo leído, el  $^{48}\text{Ti}$ , se ve afectado

Cuadro 3. Límites de detección y cuantificación calculados por el método de Miller y Miller (2002).

Elemento	Límite de detección $\mu\text{g l}^{-1}$	Límite de cuantificación $\mu\text{g l}^{-1}$
Al	5	$2 \times 10^1$
As	2	6
B	$6 \times 10^1$	$2 \times 10^2$
Be	4	$1 \times 10^1$
Ca	$8 \times 10^1$	$3 \times 10^2$
Cd	2	6
Co	6	$2 \times 10^1$
Cr	2	6
Cu	4	$1 \times 10^1$
Fe	8	$2 \times 10^1$
K	$4 \times 10^1$	$1 \times 10^2$
Li	3	9
Mg	1	4
Mn	3	$1 \times 10^1$
Mo	1	5
Na	$3 \times 10^1$	$9 \times 10^1$
Ni	2	7
P	$4 \times 10^1$	$1 \times 10^2$
Pb	2	6
Sb	2	8
Se	4	$1 \times 10^1$
Ti	5	$2 \times 10^1$
Tl	4	$1 \times 10^1$
V	3	$1 \times 10^1$
Zn	3	$1 \times 10^1$

Cuadro 4. Porcentajes de recuperación obtenidos a 3 niveles bajos de concentración (n=7 en cada nivel) y sus desviaciones estándar relativas D.S.R.

Elemento evaluado	Enriquecimientos					
	10 µg l <sup>-1</sup>		25 mg l <sup>-1</sup>		50 µg l <sup>-1</sup>	
	Recuperación %	D.S.R. %	Recuperación %	D.S.R. %	Recuperación %	D.S.R. %
As	102 ± 1	0,99	102 ± 1	0,80	101 ± 1	1,28
Be	104 ± 3	3,17	106 ± 2	2,45	105 ± 2	1,44
Cd	99 ± 1	1,27	108 ± 12	11,15	103 ± 7	6,60
Co	102 ± 2	1,52	100 ± 2	2,38	98 ± 1	1,28
Cr	100 ± 8	7,64	100 ± 8	8,15	102 ± 3	2,56
Cu	94 ± 8	8,99	95 ± 4	4,66	101 ± 5	5,15
Li	101 ± 1	1,41	101 ± 3	2,84	101 ± 2	1,77
Mo	101 ± 2	1,96	101 ± 2	2,24	101 ± 1	1,25
Ni	99 ± 4	3,74	98 ± 3	3,52	96 ± 1	1,40
Pb	96 ± 4	4,51	100 ± 3	2,90	97 ± 3	2,95
Sb	93 ± 1	1,15	96 ± 2	1,89	88 ± 7	8,09
Se	104 ± 9	8,65	105 ± 4	4,12	102 ± 2	2,11
Tl	102 ± 3	3,18	103 ± 1	1,02	102 ± 2	1,49
V	109 ± 1	0,93	105 ± 3	2,59	103 ± 2	1,67
Zn	140 ± 26	18,60	106 ± 10	9,48	109 ± 13	12,09

Cuadro 5. Porcentajes de recuperación obtenidos a 3 niveles altos de concentración (n=7 en cada nivel) y sus desviaciones estándar relativas D.S.R. (%).

Elemento evaluado	Enriquecimientos					
	1 mg kg <sup>-1</sup>		3 mg kg <sup>-1</sup>		5 mg kg <sup>-1</sup>	
	Recuperación %	D.S.R. %	Recuperación %	D.S.R. %	Recuperación %	D.S.R. %
Al	106 ± 7	6,83	113 ± 2	1,88	116 ± 2	1,54
Fe	108 ± 5	4,78	110 ± 2	1,71	105 ± 2	1,90
Mg	82 ± 11	13,67	105 ± 5	4,55	114 ± 3	2,78
Mn	103 ± 3	2,53	109 ± 1	1,29	110 ± 2	1,86
Na	105 ± 5	4,59	114 ± 7	5,91	116 ± 1	1,22
P	105 ± 9	8,98	93 ± 15	16,57	96 ± 11	11,46

por especies del S. Además de la interferencia del <sup>48</sup>Ca, que fue corregida mediante una ecuación, el <sup>48</sup>Ti experimenta interferencias originadas por las especies <sup>34</sup>S <sup>14</sup>N y <sup>32</sup>S <sup>16</sup>O las cuales no se corrigieron (Montaser y Golightly 1992).

Los estudios de precisión del método desarrollado se basaron en las recomendaciones esbozadas por Taylor (1987), las cuales establecen que el mismo debe sustentarse en las desviaciones estándar calculadas a partir de grupos de 7



muestras, enriquecidos a 3 niveles de concentración diferentes (bajo, medio y alto). Se utilizaron para esto, los resultados obtenidos en el cálculo de los porcentajes de recuperación. Como se observa los cuadros 4 y 5, todas las desviaciones que se obtuvieron excepto para el Zn, Mg, Cd y P, se encuentran por debajo del 9%. En general, las desviaciones obtenidas en este trabajo son menores a las que reportan Madeddu y Rivoldini (1996) en el análisis de tejido foliar utilizando complementariamente las técnicas de plasma con detección óptica y de masas, excepto para los elementos citados. Aún así, la desviación de 11,2 unidades que presentó el Cd fue muy similar a la que reportaron Madeddu y Rivoldini (1996) de 11,1 unidades. En el caso del Mg las desviaciones estándar relativas disminuyen conforme aumentó la concentración, lo que podría indicar que las cantidades empleadas para los enriquecimientos más bajos fueron pequeñas, comparadas con la cantidad de este elemento presente en el tejido foliar. La contribución en la intensidad total de la señal que ejerce el Mg suministrado en los enriquecimientos, es menos significativa que la aportada por el Mg presente en el tejido foliar, por

lo tanto la desviación de los resultados depende en una mayor proporción de la cantidad de Mg presente en el tejido foliar. Como consecuencia las desviaciones estándar relativas al porcentaje de recuperación se hacen más dependientes del enriquecimiento agregado conforme se aumenta la concentración del mismo. La baja precisión observada, tanto para el P como para el Zn, se debe en parte a las interferencias isobáricas que experimentan dichos elementos. Al P lo interfieren las especies SiH, NO y NOH mientras que al Zn, como se mencionó anteriormente, las especies TiO, SO<sub>2</sub>, CaO y PO<sub>2</sub>, las 2 últimas debido a las altas concentraciones de Ca y P presentes en las disoluciones mixtas de elementos empleados en los enriquecimientos.

Como complemento a la evaluación de los porcentajes de recuperación, se llevó a cabo un análisis paralelo efectuado sobre una muestra certificada de espinaca, el cual reveló que la exactitud del método es, en general, muy buena para la mayoría de los elementos que fueron comparados con dicha muestra (Cuadro 6). Contrariamente a los porcentajes de recuperación obtenidos mediante los enriquecimientos, en la muestra certificada

Cuadro 6. Resultados obtenidos del análisis de una muestra certificada de espinaca (NBS 1570).

Elemento evaluado	Resultado obtenido (%)	Valor certificado (%)
Ca	1,4 ± 0,2	1,35 ± ,03
P	0,53 ± 0,02	0,55 ± ,02
Elemento evaluado	Resultado obtenido (mg kg <sup>-1</sup> )	Valor certificado (mg kg <sup>-1</sup> )
Al	546 ± 32	870 ± 50
As	0,144 ± 0,008	0,15 ± 0,05
Cd*	1,3 ± 0,1	1,5
Co*	1,2 ± 0,1	1,5
Cr	4,0 ± 0,5	4,6 ± 0,3
Cu	11,2 ± 0,5	12 ± 2
Fe	554 ± 25	550 ± 20
Mn	179 ± 9	165
*Ni	5,8 ± 0,3	6
Pb	0,94 ± 0,07	1,2 ± 0,2
Zn	48 ± 2	50 ± 2

\* No fueron certificados pero son dados como referencia. n=7 para todos los elementos excepto para el As donde n=4

no se obtuvo un buen resultado para el Al. Es interesante apreciar también que para los últimos 3 elementos descritos: N, Cd y Co (Cuadro 5), a pesar de no haber sido certificados, se obtuvo valores muy similares a los de referencia, lo que reitera aún más la exactitud de los análisis llevados a cabo utilizando el método propuesto.

Además del análisis del tejido de espinaca, se analizaron las hojas de helecho empleadas como “control” en el CIA. Como puede observarse en el cuadro 6, los resultados obtenidos para

Cuadro 7. Comparación de los resultados obtenidos, para la muestra control de helecho, con los valores obtenidos por el Centro de Investigaciones Agronómicas (CIA).

Elemento	Concentración	Valor obtenido por el CIA
Al	(230 ± 10) mg kg <sup>-1</sup>	NR
As	ND	---
Be	ND	---
Ca	(0,51 ± 0,02) %	0,50 %
Cd	ND	---
Co	ND	---
Cr	NC	NR
Cu	(14 ± 1) mg kg <sup>-1</sup>	15 mg kg <sup>-1</sup>
Fe	(140 ± 4) mg kg <sup>-1</sup>	115 mg kg <sup>-1</sup>
Li	ND	---
Mg	(0,28 ± 0,01) %	0,26 %
Mn	(74 ± 1) mg kg <sup>-1</sup>	68 mg kg <sup>-1</sup>
Mo	NC	---
Ni	NC	---
P	0,20 ± 0,02 %	0,22 %
Pb	NC	---
Sb	ND	---
Se	ND	---
Ti	(12 ± 2) mg kg <sup>-1</sup>	NR
Tl	ND	---
V	ND	---
Zn	(47 ± 1) mg kg <sup>-1</sup>	49 mg kg <sup>-1</sup>

ND= No detectable.

NC= No cuantificable.

NR= No reportado.

la mayoría de los elementos en concentraciones detectables, coinciden con los reportados por el CIA (Cuadro 7).

En conclusión, se desarrolló y validó un método confiable y rápido para el análisis multielemental de muestras foliares, empleando la técnica híbrida ICP-MS, plasma acoplado inductivamente con detector de masas, para los elementos Al, As, Be, Cd, Co, Cr, Cu, Fe, Li, Mg, Mn, Mo, Na, Ni, P, Pb, Sb, Se, Tl, V y Zn, el cual demostró tener parámetros de desempeño muy adecuados para el análisis multielemental simultáneo de un grupo considerable de elementos de interés.

Para mejorar los resultados obtenidos en la determinación del Na, K, Ca e incluso del Fe y Li, se debe reemplazar las condiciones “normales” de trabajo del equipo por otras que permitan generar un plasma a una menor temperatura. El objetivo de emplear un “plasma frío” es reducir el ruido poliatómico espectral asociado mayormente con especies provenientes del argón, y que causan interferencias en las señales propias de los elementos anteriormente mencionados.

## AGRADECIMIENTO

Se agradece al CIA (Centro de Investigaciones Agronómicas), al CELEQ (Centro de Electroquímica y Energía Química), a la Escuela de Química de la Universidad de Costa Rica y a la empresa Perkin Elmer, el apoyo brindado para llevar a cabo esta investigación.

## LITERATURA CITADA

- BERTSCH F. 1998. La fertilidad de los suelos y su manejo. Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo, San José. 157 p.
- CARVAJAL J.F. 1978. El diagnóstico del estado nutricional de los cultivos. *Agronomía Costarricense* 2(2): 175-183.
- DENOYER E.R. 1991. Applied plasma source mass spectrometry. Holland Greenville, U.K. p. 199-208.
- ESPINOZA J. 1994. Análisis foliar: fundamentos y métodos de evaluación. *Informaciones Agronómicas* 17, INFOPOS, 1-9.

- GREEN J.M. 1996. A practical guide to analytical method validation. *Analytical Chemistry* 68(9): 305A-309A.
- HAVLIN J.L., SOLTANPOUR P.N. 1980. A nitric acid plant tissue digest method for use with inductively coupled plasma spectrometry. *Communication Soil Science and Plant Analysis* 11(10): 969-980.
- HENRÍQUEZ C., BERTSCH F., SALAS R. 1995. Fertilidad de Suelos: Manual de Laboratorio, Asociación Costarricense de la Ciencia del Suelo, San José. 64 p.
- HOUBA V.J.G., NOVOZAMSKY I., VAN DER LEE J.J. 1992. Soil testing and plant analysis in Western Europe. *Communication Soil Science and Plant Analysis* 23(17-20): 2029-2051.
- HUBAUX A., VOS G. 1970. Decision and detection limits for calibration curves. *Analytical Chemistry* 42(8): 849-855.
- ISAAC R.A., JOHNSON W.C. 1985. Elemental analysis of plant tissue by plant emission spectroscopy: collaborative study. *Journal of the Association of Official Analytical Chemistry* 68(3): 499-505.
- JONES J.B. 1977. Elemental analysis of soil extracts and plant tissues ash by plasma emission spectroscopy. *Communication Soil Science Plant Analysis* 8(4): 349-365.
- MADEDDU B., RIVOLDINI A. 1996. Analysis of plant tissue by ICP-OES and ICP-MS using an improved microwave oven acid digestion. *Atomic Spectroscopy* 17(4): 148-154.
- MILLER N.J., MILLER J.C. 2002. Estadística y quimiometría para química analítica, Prentice Hall, Madrid. 296 p.
- MONTASER A., GOLIGHTLY D.W. 1992. Inductively coupled plasmas in analytical atomic spectrometry. VCH Publishers, Inc., New York. p. 551-676.
- MOODY J.R.; LINDSTROM R.M. 1977. Selection and cleaning of plastic containers for storage of trace element samples. *Analytical Chemistry* 49(14): 2264-2267.
- OLESIK J. W. 1991. Elemental analysis using ICP-OES and ICP/MS. *Analytical Chemistry* 63(1): 12A-21A.
- PERKIN ELMER SCIEX. 1994. Elan 6000 Software Guide. The Perkin Elmer Corporation, U.S.A.
- SARGEANT M., WEBB K. 1993. Instrumental aspects of inductively coupled plasma-mass spectrometry. *Spectroscopy Europe* 5(3): 21-28.
- SPIERS G.A., DUDAS M.J., HODGINS L.W. 1983. Instrumental conditions and procedures for multielemental analysis of soils and plant tissues by ICP-AES. *Communication Soil Science and Plant Analysis* 14(7): 629-644.
- TANNER S.D., PAUL M., BERES S.A., DENOYER E.R. 1995. The application of cold plasma conditions for the determination of trace levels of Fe, Ca, K, Na and Li by ICP-MS. *Atomic Spectroscopy* 16(1): 16-18.
- TAYLOR J. K. 1987. Quality assurance of chemical measurements. Lewis Publisher, Inc., U.S.A. 328 p.

