

EVALUACIÓN DE MIP OES PARA LA CUANTIFICACIÓN DE MICROELEMENTOS EXTRAÍDOS DE SUELO CON DTPA-TEA

Perez M.¹; D. Brunello²; F. Cora Jofré,^{2,3} N. Kloster^{1*}, M. Savio^{2,3}

¹Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), EEA Anguil "Ing. Agr. Guillermo Covas", INTA, ruta Nac. N° 5 km 580, 6326 Anguil, La Pampa, Argentina.

²Facultad Ciencias Exactas y Naturales, Universidad Nacional de La Pampa, Av. Uruguay 151, 6300 Santa Rosa, La Pampa, Argentina.

³Instituto de Ciencias de la Tierra y Ambientales de La Pampa (INCITAP), Mendoza 109, L6302EPA Santa Rosa, La Pampa, Argentina. kloster.nanci@inta.gov.ar

RESUMEN

Los métodos de análisis de microelementos en suelo, zinc (Zn), cobre (Cu), hierro (Fe) y manganeso (Mn), comprenden dos etapas: una de extracción, comúnmente con solución de ácido dietilentiainopentaacético-trietanolamina (DTPA-TEA), y otra de cuantificación. Esta última etapa se realiza empleando espectrometrías atómicas de distinta naturaleza: de absorción (FAAS), de emisión acoplada a plasma de argón (ICP OES) o empleando una tecnología emergente de emisión atómica con plasma inducido por microondas (MIP OES), la cual presenta además de la ventaja del análisis multielemental el menor costo de operación. El objetivo de este trabajo fue validar la técnica analítica de MIP OES para la cuantificación de Zn, Cu, Fe y Mn extraídos con DTPA-TEA en muestras de suelo. Para ello se utilizaron 17 muestras de suelo superficial de la Región Semiárida Pampeana, que fueron previamente caracterizadas mediante la determinación de fósforo extractable, materia orgánica, pH y arcilla+limo. Los resultados referidos a la cuantificación de microelementos obtenidos mediante MIP OES son aceptables en cuanto a su exactitud (veracidad y precisión comparados con FAAS) y linealidad. La sensibilidad analítica de MIP OES fue menor y el límite de cuantificación para los 4 elementos fue mayor que FAAS, aunque MIP OES presenta la ventaja de su mayor rango lineal, lo cual reduce la necesidad de diluciones al momento de la cuantificación. Se concluye que MIP OES es una técnica prometedora para análisis de microelementos en suelos, aunque más estudios son necesarios para definir el alcance de su aplicación para la cuantificación de elementos críticos como el Zn.

Palabras clave: Análisis multielemental, Absorción atómica, Emisión atómica.

INTRODUCCION

Las espectrometrías atómicas son ampliamente utilizadas en química analítica para la detección cuantitativa de elementos, empleando la absorción o emisión de radiación electromagnética de átomos libres en estado gaseoso (Welz & Sperling, 2007). La espectrometría de absorción atómica con llama (FAAS) y la espectrometría de emisión atómica con plasma acoplado inductivamente (ICP OES) son probablemente hoy en día las técnicas más robustas para análisis de rutina. Mientras que FAAS permite analizar un elemento a la vez (Pereiro-García *et al.*, 2013), ICP OES es un método de análisis multielemental, aunque de mayor costo. Una alternativa para el análisis multielemental en simultáneo es la espectrometría de emisión atómica con plasma inducido por microondas (MIP OES, o alternativamente denominada MP AES), una nueva generación de técnicas de plasma generado a partir de nitrógeno, que resulta ser uno de los métodos analíticos más versátiles en la actualidad (Balaram, 2020). Sus ventajas principales, además de la detección simultánea multielemental, están relacionadas a su alta sensibilidad, amplio rango de respuesta lineal y menor costo de mantenimiento que las espectrometrías atómicas clásicas. En un trabajo previo, Cora Jofré *et al.* (2020) validaron la performance de MIP OES frente a FAAS para la determinación de cationes intercambiables en suelo. El objetivo de este trabajo fue evaluar la aptitud de la espectrometría multielemental MIP OES para cuantificar



los elementos Zn, Cu, Fe y Mn extractables en suelos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestras de suelo

Para la comparación de las técnicas analíticas, se utilizaron 17 muestras de suelo de la Región Semiárida Pampeana, extraídas de horizontes superficiales de suelo (20 cm) las cuales se secaron y tamizaron a 2 mm. Luego se caracterizaron de acuerdo a sus propiedades físico químicas analizando textura (Bouyoucos, 1962), materia orgánica (Walkley & Black, 1934), fósforo extractable (Bray & Kurtz, 1945) y pH en relación suelo:agua 1:2,5.

Reactivos y soluciones

La extracción de Zn, Cu, Fe y Mn se realizó empleando como solución de extracción ácido dietilentriamino-pentaacético-trietanolamina (DTPA-TEA), la solución más comúnmente utilizada en Argentina para la extracción de microelementos en suelo (Barbieri *et al.*, 2017; Gannini-Kurina *et al.*, 2021). Reactivos de calidad p.a. fueron empleados para preparar la solución de extracción: DTPA (0,005 mol L⁻¹), TEA (0,1 mol L⁻¹) y cloruro de calcio (0,01 mol L⁻¹), pH 7,3. La extracción se realizó a partir de 10 g de suelo y 20 mL de solución de extracción (relación 1:2 suelo:solución), agitando en agitador vaivén a 120 gpm durante 2 h. Luego se centrifugó la suspensión y finalmente se filtró con papel de filtro tipo banda azul (JP42) para la obtención de un extracto límpido. Soluciones estándar certificadas Certipure (Merck) y Plasma Cal (Science) 1000 mg L⁻¹ se utilizaron para preparar las soluciones de calibración del instrumental. Tanto las soluciones de calibración como las diluciones de muestras fueron preparadas en la solución DTPA-TEA para reducir los efectos de matriz.

Instrumental

La cuantificación de Zn, Cu, Fe y Mn en los extractos de suelo se realizó utilizando dos espectrometrías: FAAS y MIP OES, para lo cual se utilizaron dos equipos diferentes. Un espectrómetro de absorción atómica PinAAcle 900H (Perkin Elmer), equipado con software Winlab, con el cual se analizaron los elementos en modo absorción con multilámpara de cátodo hueco; y un espectrómetro de emisión atómica con plasma inducido por microondas MP40 (Agilent) el cual realiza la determinación simultánea de los cuatro elementos. Las condiciones instrumentales utilizadas se muestran en la Tabla 1. En ambos equipos se realizaron curvas de calibración con 6 concentraciones de cada elemento, cada una fue preparada en tres réplicas independientes.

Tabla 1. Condiciones instrumentales seleccionadas para el análisis mediante espectrometrías atómicas.

Elemento	FAAS		MIP OES	
	Longitud de onda (nm)	Linealidad de Calibración (mgL ⁻¹)	Longitud de onda (nm)	Linealidad de Calibración (mgL ⁻¹)
Zn	213,9	1	481,0	1
Cu	324,8	2	324,7	2
Fe	248,3	6	317,9	150
Mn	279,5	2	403,0	20

Validación del método instrumental: MIP OES

Una vez optimizado el funcionamiento de los equipos se evaluaron los siguientes parámetros a fin de validar la aptitud de MIP OES para la determinación de Zn, Cu, Fe y Mn: veracidad, precisión, rango de trabajo, límites de detección y cuantificación y sensibilidad analítica (Currie, 1995; Olivieri, 2014). La veracidad de un método analítico expresa la cercanía entre el valor medido y el valor de referencia. Debido a que no se contó con una muestra de referencia para los elementos extractables estudiados en suelo, se estimó la veracidad en MIP OES, una técnica instrumental relativamente emergente, a través de la comparación de los resultados frente a FAAS, una técnica instrumental de mayor popularidad. La precisión se evaluó a partir de la desviación estándar relativa de las muestras analizadas por triplicado. La linealidad se estudió a partir del coeficiente



de correlación lineal (R^2) (aceptable $R^2 > 0,99$). Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) se obtuvieron de acuerdo a las recomendaciones de la IUPAC (Mocak *et al.*, 1997), expresados en unidades de concentración que se derivan de la curva de calibración. El LOD se estima a partir del nivel de señal promedio y las desviaciones estándar para mediciones repetidas de una muestra blanco, considerando la medida de la señal y la desviación estándar. La sensibilidad analítica se calculó a partir de la relación entre la sensibilidad de la calibración (pendiente de la curva de calibración) y el ruido instrumental, lo cual permite comparar dos técnicas instrumentales basadas en respuestas de diferente naturaleza (absorción atómica para FAAS y emisión atómica para MIP OES) (Danzer & Currie, 1998).

Los análisis estadísticos se realizaron empleando el software Microsoft Office Excel 2007 e INFOSTAT (Di Rienzo *et al.*, 2015). La comparación de varianzas de Fisher se aplicó para evaluar la homogeneidad de los datos. Las calibraciones se realizaron ajustando las líneas con el criterio de mínimos cuadrados. Diferencias significativas entre técnicas instrumentales se analizaron por comparación de medias aplicando un test t. Todos los test fueron evaluados a 95 % de nivel de confianza.

RESULTADOS Y DISCUSION

La Tabla 2 muestra las propiedades físico-químicas de las muestras utilizadas: fósforo extractable, materia orgánica, pH en relación suelo:agua 1:2,5 y arcilla+limo. Las muestras utilizadas corresponden a suelos de textura franca a arenosa, característicos de la Región Semiárida Pampeana.

Tabla 2. Propiedades físico-químicas promedio de las muestras de suelo utilizadas en el estudio. Los valores en paréntesis indican el mínimo y máximo de cada parámetro.

Fósforo (mg Kg ⁻¹)	Materia Orgánica (%)	pH 1:2,5	Arcilla+Limo (%)
28,9	1,9	6,5	34
(4,5-59,3)	(0,8-3,5)	(5,4-7,0)	(10-56)

Los resultados de la *veracidad* determinada por comparación de las dos técnicas instrumentales se muestran en la Figura 1, empleando un gráfico de correlación donde cada punto representa una muestra simple analizada por triplicado por ambas técnicas.



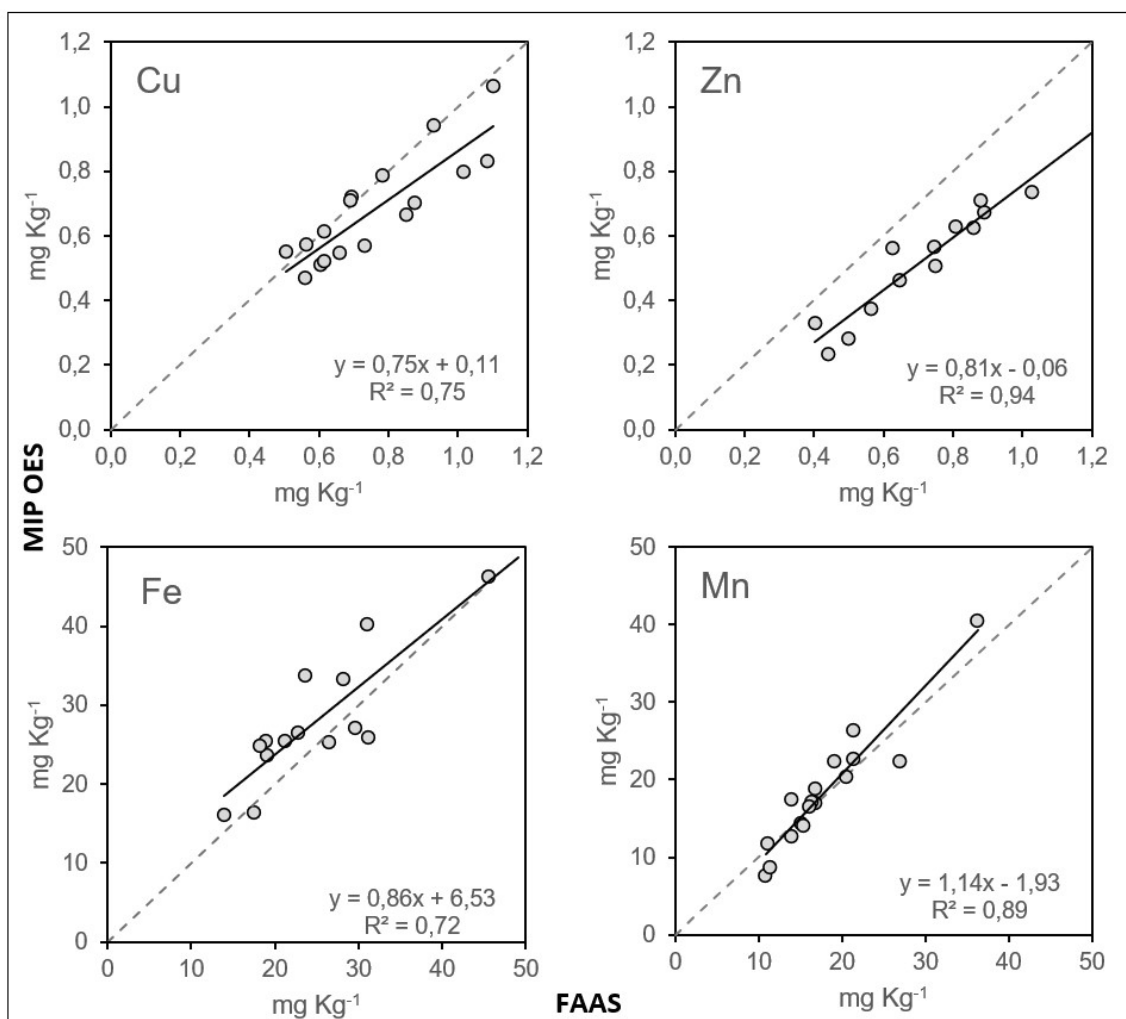


Figura 1. Comparación de métodos instrumentales, MIP OES vs. FAAS, en la determinación de Cu, Zn, Fe y Mn con solución de extracción DTPA-TEA. La línea punteada representa la recta $y=x$.

Si cada muestra arroja un resultado idéntico por ambas técnicas, la línea de regresión tendría una ordenada al origen igual a 0 y una pendiente y coeficiente de correlación igual a 1. Los resultados de veracidad obtenidos en este estudio varían de acuerdo al elemento analizado. Para el Mn los resultados de veracidad obtenidos se aproximan a la recta ideal ($y=x$) ($R^2=0,89$). Esto implica que los resultados obtenidos por MIP OES y FAAS son equivalentes. Para el Zn los resultados se observan más bien paralelos a la recta ideal ($y=x$), con un coeficiente $R^2=0,94$, indicando que los resultados obtenidos por FAAS son sensiblemente superiores a los obtenidos mediante MIP OES. En el caso de Cu y Fe los resultados muestran una relación lineal entre las dos técnicas instrumentales ($R^2=0,75$ y $0,72$ respectivamente), aunque la dispersión observada presupone que son necesarios más estudios para corroborar la ecuación de correlación lineal entre las técnicas y/o evaluar los factores que producen dicha dispersión en los resultados de análisis de Cu y Fe extractables con DTPA-TEA en suelos.

La Tabla 3 muestra los resultados obtenidos para los demás parámetros en el estudio de validación. La *precisión* de ambos instrumentos arrojó resultados dentro del criterio de aceptación $DER \leq 20\%$. Las dos técnicas analíticas alcanzan los criterios de aceptación establecidos para el parámetro *linealidad* ($R^2 \geq 0,99$), aunque MIP OES tiene un mayor *rango dinámico lineal* que FAAS, lo cual es ventajoso dado que reduce la necesidad de realizar diluciones previas a la lectura de los extractos de suelo (Balaram, 2020). En todos los casos FAAS arrojó mejores LODs y LOQs que MIP OES. Esto es particularmente importante para la determinación de Zn y Cu extractables con DTPA-TEA en suelos, cuyas concentraciones críticas se definen alrededor de 1,00 mg

Kg⁻¹ (Barbieri, et al., 2017). Por lo cual, al momento de seleccionar un instrumento de cuantificación es necesario verificar que el LOQ esté por debajo de las concentraciones críticas a cuantificar. Si bien en la literatura algunos trabajos indican que en general los valores LOQs en MIP OES son mejores que en FAAS (Niedzielski, et al., 2015; Ozbek & Akman, 2016), lo cual no se corresponde con los resultados de este trabajo, son necesarios más estudios para verificar el alcance de estas diferencias entre técnicas instrumentales para cada elemento en muestras de suelo.

Tabla 3. Parámetros de validación para el análisis de Zn, Cu, Fe y Mn en solución DTPA-TEA empleando FAAS y MIP OES.

	Anali- to	Pendiente *	Intercep-y [†]	R ²	Sensibil. analítica	LOD (mg Kg ⁻¹)	LOQ (mg Kg ⁻¹)	DER máx (%)	Rango (mg Kg ⁻¹)
FAAS	Zn	0,289	0,0044	0,99	49,2	0,10	0,30	8,90	0,30-2
	Cu	0,082	0,0006	0,99	110,0	0,04	0,13	15,7	0,13-4
	Fe	0,051	0,0072	0,99	15,9	0,33	1,00	15,9	1,00-12
	Mn	0,096	0,0010	0,99	26,0	0,19	0,58	14,5	0,58-4
MI- POES	Zn	14.112	1.409,8	0,99	12,6	0,34	1,04	14,9	1,04-2
	Cu	140.982	1.664,3	0,99	13,9	0,31	0,94	17,5	0,94-4
	Fe	8.618	4.072,1	0,99	0,4	11,4	34,5	21,4	34-300
	Mn	58.926	-5.283,7	0,99	3,7	1,13	3,44	6,90	3,44-40

*El número de dígitos significativos está en función de la respuesta generada por el equipo para cada elemento.

La *sensibilidad analítica* es un parámetro relevante para comparar técnicas instrumentales que arrojan diferente señal, tal como MIP OES y FAAS, dentro de un mismo rango de concentraciones. Como puede verse en la Tabla 3, la sensibilidad analítica empleando FAAS es mayor que MIP OES para todos los elementos estudiados, siendo hasta un orden de magnitud superior para los elementos Cu, Fe y Mn.

CONCLUSIONES

La técnica instrumental MIP OES arrojó resultados prometedores para su aplicación en la determinación de Zn, Cu, Fe y Mn extractables con DTPA-TEA en muestras de suelo, debido a que es una técnica de análisis multielemental, de mayor rango lineal y menor costo comparada con FAAS. Más estudios son necesarios para corroborar el alcance de aplicación de MIP OES para cada elemento, principalmente aquellos que pueden ser deficientes en los suelos de Argentina, tal como el Zn.

BIBLIOGRAFIA

- Balaram, V. 2020. Microwave plasma atomic emission spectrometry (MP-AES) and its applications – A critical review. *Microchemical Journal* 159:1054-1083.
- Barbieri, P; H Sainz Rozas; N Wyngaard; M Eyherabide; N Reussi Calvo; F Salvagiotti; A Correndo; P Barbagelata; G Espósito Goya; J Colazo & H Echeverría. 2017. Can Edaphic Variables Improve DTPA-based Zinc diagnosis in Corn?. *Soil Science Society of American Journal* 81(3):556-563.
- Bouyoucos, GJ. 1962. Hydrometer method for making particle size analysis of soils. *Agronomy Journal* 464-465.
- Bray, R H & L Kurtz. 1945. Determination of total, organic and available forms of phosphorus in soil. *Soil Science* 59:39-45.
- Cora Jofré, F, M Pérez, N Kloster & M Savio. 2020. Analytical methods assessment for exchangeable cations analysis in soil: MIP OES appraisalment. *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 51(16):2205-2214.
- Currie, LA. 1995. Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities (IUPAC recommendations 1995). *Pure and Applied Chemistry*.
- Danzer, K & LA Currie. 1998. Guidelines for calibration in analytical chemistry. Part I. Fundamentals and single component calibration. *Pure Applied Chemistry* 70:993-1014.
- Di Rienzo, JA; F Casanoves; MG Balzarini; L Gonzalez; M Tablada; CW Robledo. InfoStat versión 2015. Grupo InfoStat, FCA, Universidad



Nacional de Córdoba, Argentina.

Gannini-Kurina, F; M Balzarini; J Koritschoner; A Rampoldi & S Hang. 2021. Modelos para la conversión de las concentraciones de Fe, Mn, Cu y Zn entre los métodos Mehlich-3 y DTPA-TEA en suelos de Córdoba. *Ciencia del Suelo* 39(2):1-15.

Mocak, J; A Bond; S Mitchell & G Scollary. 1997. A statistical overview of standard (IUPAC and ACS) and new procedures for determining the limits of detection and quantification: application to voltammetric and stripping techniques. *Pure & Applied Chemistry* 69(2):297-328.

Niedzielski, P; L Kozaka; M Wachelkaa; K Jakubowski & J Wybieralska. 2015. The microwave induced plasma with optical emission spectrometry (MIP-OES) in 23 elements determination in geological samples. *Talanta* 132:591-599.

Olivieri, AC. 2014. Analytical Figures of Merit: From Univariate to Multiway Calibration. *Chemical Reviews* 114:5358-78.

Ozbek, N & S Akman. 2016. Microwave plasma atomic emission spectrometric determination of Ca, K and Mg in various cheese varieties. *Food Chemistry* 192:295-298.

Pereiro-García, R; JM Andrade-Garda; AS Medel; J Costa Fernandez; X Tomas-Morer; J Ferré-Baldrich & L González-Sabaté. 2013. Basic Chemometric Techniques in Atomic Spectroscopy. Royal Society of Chemistry.

Walkley, A & I A Black. 1934. An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, a proposed modification of the chromic acid titration method. *Soil Science* 37: 29-38.

Welz, B & M Sperling (Eds). 2007. Frontmatter, Atomic Absorption Spectrometry. Verlag GmbH: Wiley-VCH.

