

C. ALVAREZ HERRERO
M.^A I. DIAZ GÜEMES PEREZ
M.^A A. GARCIA CIUDAD
M.^A A. MARTIN RAMOS

Departamento de Química Analítica
C/ Serrano, 115 dup.
Madrid-6 — España



ESTUDIO COMPARATIVO DE LOS METODOS ANALITICOS DE ESPECTROANALISIS DE EMISION Y DE ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA APLICADOS A LA DETERMINACION DE ELEMENTOS TRAZA EN PLANTAS PRATENSES

Se han puesto a punto los métodos analíticos de Espectroanálisis de Emisión y de Espectrofotometría de Absorción Atómica para la determinación en plantas pratenses de los elementos Al, Fe, Mn y Zn. Los resultados por ambas técnicas son comparables, con buena precisión y reproducibilidad, siendo la sensibilidad y rapidez de la determinación mayor en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

1 — INTRODUCCION

Dada la diversidad de técnicas físicas de que se dispone en estas décadas para el análisis químico y las ventajas específicas de cada una de ellas, se comprende que la mayoría se hayan aplicado, con mayor ó menor éxito, al estudio de elementos minerales en materiales biológicos, agrícolas y edafológicos. Sin embargo, de entre todas ellas las más utilizadas son el Espectroanálisis de Emisión y la Espectrofotometría de Absorción Atómica (WATSON [1], JONES and ISAAC [2] y JONES [3, 4]).

El análisis espectrográfico presenta ventajas como son: registro simultáneo y amplio rango de aplicabilidad ya que las líneas características de cada elemento pueden seleccionarse de acuerdo con las altas ó bajas concentraciones del elemento a analizar (KENWORTH [5]), además es muy útil para análisis semicuantitativo. Sin embargo, el método tiene limitaciones, la más importante es que la sensibilidad es pequeña para algunos elementos y por lo tanto la precisión también..

Las limitaciones citadas no se presentan en la Espectrofotometría de Absorción Atómica, técnica más exacta (BRECH [6]), si bien, presenta el inconveniente de ser más susceptible a las interferencias. Por lo antedicho y como la reproducibilidad de los resultados analíticos en plantas es difícil, se emplean ambas técnicas conjuntamente, con el fin de poder llegar a resultados más fidedignos.

Nosotros en el presente trabajo, las empleamos para la determinación de Al, Fe, Mn y Zn en plantas pratenses, habiendo resultado evidente que el empleo conjunto de ambas técnicas proporciona resultados comparables y óptimos en la determinación en tejidos de planta, de los elementos considerados, con buena precisión y reproducibilidad, siendo la sensibilidad y rapidez mayor en Espectrofotometría de Absorción Atómica.

Para ello, ha sido preciso la puesta a punto del método de Espectroanálisis de Emisión para todos los elementos enumerados y del de Absorción Atómica para el Aluminio, ele-

mento difícil de analizar por las numerosas y no bien conocidas interferencias que presenta.

2 — PARTE EXPERIMENTAL

Preparación de la muestra

Previamente a su análisis químico, las muestras de plantas pratenses de comunidades naturales (parte aérea) se secan en una estufa de aire forzado a una temperatura de 80°C aproximadamente durante 24 horas. A continuación, la materia seca obtenida se desmenuza y se muele con un molino sistema "culatti" con una tamiz de malla de 1 mm. Las muestras molidas se homogeneizan por "cuarteo". Posteriormente, se pesan en cápsulas de porcelana y se introducen en un horno de mufla donde permanecen 8 h; a 450°C. con lo que se consigue su mineralización. La elevación de la temperatura debe hacerse lenta y gradualmente para evitar proyecciones. Para las determinaciones por Espectroanálisis se ha necesitado 5 g. de muestra seca, mientras que para la Espectrofotometría de Absorción Atómica han bastado muestras de 2 g.

Espectroanálisis de Emisión.

Aparatos y materiales.

Espectrógrafo. Hilger modelo E. 478.303 de gran dispersión y montaje Litrow.

Microfotómetro. Hilger modelo H. 671.301 en su modalidad de no registrador.

Electrodos. Cobre electrolítico (Anodo de 5 mm. de diámetro y forma cónica con 60° de inclinación y Cátodo de 4 mm. de profundidad y 1.5 mm. de diámetro).

Rendija. 1 mm. de longitud y 15 μ de anchura. Material fotográfico. Película Spectrum Analysis n.º 1, revelador D-19, Fijador rápido.

Condiciones experimentales.

Excitación: Arco de corriente continua; voltaje, 230 voltios; intensidad, 6 Amperios; distancia entre los electrodos 2 mm; tiempo de excitación 90 s.

Procedimiento general.

Un primer análisis cualitativo y semicuantitativo ha puesto de manifiesto la necesidad de una concentración previa de la muestra (extracción).

Las cenizas resultantes de la mineralización de los 5 g. de muestra, una vez pesados, se tratan con 50 ml. de una mezcla ácida HCl/HNO₃/H₂O destilada en la proporción 1:1:8 y se llevan a sequedad en placa. El residuo obtenido se pasa a un tubo de decantación de 100 ml, juntamente con 3 ml. de HCl 0.003 N para lavar y arrastrar todo el contenido (Esta acidez se eligió después de un minucioso estudio en el que resultó ser la más adecuada). Se adicionan 2 ml. de una solución recientemente preparada al 2 % de ácido 1-pirrolidinditio-carboxílico (APDC) en agua, y se agita para conseguir que se mezclen completamente. A continuación se agregan 5 ml. de isobutil-metil-cetona (MIBK), se agita vigorosamente durante 1 minuto y se deja reposar 15 minutos hasta conseguir la separación de las dos capas (acuosa y orgánica). Esta operación se realiza dos veces.

Se recoge la fase orgánica en la cápsulas de porcelana, y se evapora hasta sequedad.

El residuo procedente de la evaporación está constituido por los complejos del reactivo con los micronutrientes, conteniendo gran proporción de materia orgánica. Para eliminar ésta, se calcina el residuo en horno de mufla a 450°C durante 4 h en la forma indicada para la mineralización de las muestras. Se obtienen así aproximadamente 10 mg. de residuo procedentes de la extracción.

Para la determinación del Al no es necesaria la extracción. Este elemento, debido a que se encuentra en concentraciones superiores a las del resto de los elementos estudiados, se analiza directamente de las cenizas obtenidas en la mineralización de la muestra.

Patrones.

Los patrones se preparan a partir de los óxidos de los elementos Al₂O₃, Fe₂O₃, MnO₂ y ZnO. Se preparó 1 g. del patrón más con-

centrado y a partir de él, por sucesivas diluciones con CuO (base diluyente), los restantes.

Tabla 1

Estudio de la proporción muestra-patrón interno

Proporción muestra-patrón interno	Al	Fe	Mn	Zn
1 : 0	sm	sm	t	t
1 : 0	sm	sm	t	sm
1 : 0	t	t	t	t
1 : 0,25	sm	sm	t	t
1 : 0,25	sm	sm	sm	sm
1 : 0,25	t	t	t	t
1 : 0,5	sm	sm	sm	sm
1 : 0,5	sm	t	t	t
1 : 0,5	sm	sm	t	t
1 : 1	m	m	sm	sm
1 : 1	m	m	sm	sm
1 : 1	m	m	sm	sm
1 : 1,5	sm	sm	sm	sm
1 : 1,5	sm	sm	t	t
1 : 1,5	m	m	t	—
1 : 2	sm	sm	—	—
1 : 2	t	t	—	—
1 : 2	t	t	—	—

Notación empleada: — no contiene, t: traza, sm: sub-micro, m: micro.

Por último, se les adiciona el patrón interno GeO_2 (regulador espectroquímico) en la proporción 1:1, que resultó ser la óptima como se puede comprobar en la Tabla 1.

Naturalmente las muestras de plantas a analizar también se mezclan con el patrón interno en la misma proporción. Las concentraciones de los patrones espectrales cubren el intervalo 10.000-10 ppm.

Los pares analíticos seleccionados son:

Al: 3092,71 Å	Fe: 3581,19 Å
Ge: 3067,01 Å	Ge: 3067,01 Å
Mn: 2794,82 Å	Zn: 3345,02 Å
Ge: 2829,01 Å	Ge: 3067,01 Å

Las curvas de calibrado son totalmente lineales para las concentraciones comprendidas entre 5×10^{-10} ppm para Al y de 3×10^{-10} ppm para Fe, Mn y Zn, que engloban la zona de trabajo.

Espectrofotometría de Absorción Atómica

Aparatos. Espectrofotómetro de Absorción Atómica "VARIAN-TECHTRON" Modelo 1250
Condiciones Experimentales.

	Aluminio	Hierro	Manganeso	Zinc
Corriente de lámpara	17 mA	15 mA	6 mA	6,5 mA
Longitud de onda	308,7 nm	248,3 nm	279,4 nm	213,3 nm
Altura de mechero	2,90	1,8	3,2	4,5
Paso de banda	0,2 nm	0,2 nm	0,2 nm	0,2 nm
Presión de acetileno	7	2	1,3	1,3
Presión de aire	—	7,9	5,5	5,5
Presión de nitroso	8	—	—	—

Procedimiento general.

Las cenizas resultantes de la mineralización de 2 g. de muestra seca se atacan con $\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}$ destilada en la proporción 1:1:8 y se enrasan hasta 25 ml con la misma mezcla. En la solución así obtenida se determinan Fe, Mn y Zn. El análisis de Al requiere la adición a la mezcla ácida de 2.000 ppm de La para eliminar interferencias (PINTA [7]).

Preparación de patrones.

Para los elementos estudiados Al, Fe, Zn y Mn se parte de metal en polvo y de $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ respectivamente. Se prepara una solución ácida de 1.000 ppm. Por sucesivas diluciones

cada una de ellas los procedimientos generales descritos en la parte experimental. De los valores resultantes de las 10 determinaciones se calcularon: el valor medio, la desviación típica, el error standard y el coeficiente de variación (Tabla 2).

Se deduce de ésta que los resultados de ambas técnicas son, en general, comparables, si bien en Espectrofotometría de Absorción Atómica se alcanza mayor precisión que en Espectroanálisis de Emisión, excepto para el Fe, uno de los elementos estudiados de mayor concentración en la planta. La diferencia entre ambas técnicas, se acentúa en los elementos de concentraciones más bajas, como son el Mn y el Zn.

Tabla 2

Resultados Estadísticos en 10 determinaciones	Al (E.E.)	Al (E.A.A.)	Fe (E.E.)	Fe (E.A.A.)	Mn (E.E.)	Mn (E.A.A.)	Zn (E.E.)	Zn (E.A.A.)
Media (ppm)	72,14	72,40	49,01	39,90	31,09	39,60	15,10	23,30
Desv. típica	1,86	0,85	1,22	4,41	2,01	0,95	0,76	0,30
Error Standard	0,59	0,26	0,39	1,39	0,63	0,30	0,24	0,09
Coef. de Variación (%)	2,59	1,17	2,48	4,70	6,45	2,40	5,06	1,30

Notación empleada: E.E. : Espectroanálisis de Emisión.

E.A.A. : Espectrofotometría de Absorción Atómica.

se obtienen las soluciones patrones con concentraciones comprendidas entre 10-200 ppm para Fe, 5-100 ppm para Zn, 10-200 ppm para Al y 8-200 ppm para Mn.

A las soluciones patrones de Al se, añaden 2.000 ppm de La en forma de solución ácida de $\text{La}(\text{NO}_3)_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$.

Las curvas de calibrado son totalmente lineales para todos los elementos en los intervalos de concentración citados, que comprenden la zona de trabajo.

3 — RESULTADOS Y DISCUSION

Precisión.

Para el estudio comparativo de la precisión de los métodos propuestos, se emplearon 10 muestras iguales de alfalfa (*Medicago sativa* L.), antes de gemación, aplicando a

Recuperación.

Para conocer el grado de recuperación de los elementos estudiados, se adicionaron cantidades conocidas de cada elemento sobre cinco muestras iguales de alfalfa (*Medicago sativa* L.) y se determinaron las concentraciones respectivas (Tabla 3).

Tabla 3

Técnicas utilizadas	Recuperación media %			
	Al	Fe	Mn	Zn
E.E.	99,01	98,86	96,91	96,74
E.A.A.	99,70	97,73	98,43	101,27

Notación empleada: la misma de la Tabla 2.

Como puede observarse respecto a la recuperación ambas técnicas son buenas.

Sensibilidad.

La sensibilidad es, en general, mayor en el análisis por Espectrofotometría de Absorción Atómica, como lo pone de manifiesto el hecho de no ser necesario el proceso de extracción. Por Espectroanálisis de Emisión el único elemento de los estudiados, cuya determinación no precisa de concentración previa, es el Al.

tras (cada muestra compuesta por mezclas herbáceas de dichas plantas) clasificadas en tres niveles: contenido alto (3000-700 ppm), medio (400-100 ppm) y bajo con valores inferiores a 50 ppm. El pH de todos los suelos de las plantas estudiadas es ácido, alrededor de 5. En la Tabla 4 se resumen los resultados de los análisis por ambas técnicas, presentando los correspondientes a cuatro muestras de cada nivel.

Tabla 4

	Aluminio (ppm)		Hierro (ppm)		Manganeso (ppm)		Zinc (ppm)	
	E.A.A.	E.E.	E.A.A.	E.E.	E.A.A.	E.E.	E.A.A.	E.E.
Valores altos	2750	2945	1938	2180	—	—	—	—
	1500	1700	1425	1600	—	—	—	—
	887,5	985,3	1290	1350	—	—	—	—
	825	1000	1263	1400	—	—	—	—
Valores medios	325,0	321,5	388,0	398,9	310,0	308,7	—	—
	275,0	272,9	345,0	343,6	237,5	230,5	—	—
	162,5	160,5	280,0	275,6	175,0	173,0	—	—
	150,0	145,2	185,0	190,5	162,5	163,0	—	—
Valores bajos	—	—	—	—	—	—	37,5	30,0
	—	—	—	—	—	—	32,5	23,5
	—	—	—	—	—	—	27,5	19,9
	—	—	—	—	—	—	17,5	12,5

Notación empleada: la misma de la Tabla 2.

Rapidez.

La rapidez es mayor por Espectrofotometría de Absorción Atómica, pues la técnica de Espectroanálisis de Emisión exige una puesta a punto del método de determinación mucho más laboriosa.

Una vez establecida la bondad de los métodos propuestos, se pasó a estudiar su aplicación a plantas pratenses de comunidades naturales con contenidos variables de los cuatro elementos considerados. Se escogieron 35 mues-

Se ve que, para contenidos altos, los valores más elevados los proporciona el Espectroanálisis de Emisión y, para los contenidos bajos, la Espectrofotometría de Absorción Atómica. Es en los niveles medios donde los resultados de ambas técnicas se aproximan mucho.

En conclusión, para la determinación de elementos traza en plantas, parece aconsejable el empleo conjunto de las técnicas de Espectroanálisis de Emisión y Espectrofotometría de Absorción Atómica por sus características

complementarias, que permitem obter valores fiáveis em quanto ao conteúdo de los mesmos em unos materiais de difícil análise com exactitud.

Recebido 18.Junho.1984

BIBLIOGRAFIA

- [1] WATSON, M.E., *Commun. In Soil Sci. Plant Anal.*, **12**, 601 (1981).
- [2] JONES, J.B., ISAAC, R.A., *Agron. J.*, **61**, 393 (1969).
- [3] JONES, J.B., *J. of the AOAC*, **58**, 764 (1975).
- [4] JONES, J.B., *J. of Plant Nutr.*, **3**, 77 (1981).
- [5] KENWORTH, A.L., *Proceedings of the 36th Annual Meeting of the Council of Fertilizer application*, 39 (1960).
- [6] BRECH, F., *J. of the AOAC*, **51**, 132 (1968).
- [7] PINTA, M., *Spectrometrie d'absorption atomique. Tome I. Problèmes généraux. 2.^a edition. Masson. Paris (1979).*

SUMMARY

Comparison of Emission Spectroscopy and Atomic Absorption Spectrophotometry for determining trace elements in pasture plants.

Analytical methods of Emission Spectroscopy and Atomic Absorption Spectrophotometry for the determination in pasture plants of the elements Al, Fe, Mn and Zn, have been developed. The results for both techniques are comparable, with good precision and reproducibility. The sensibility and the time of the determination are better in Atomic Absorption Spectrophotometry than in Emission Spectroscopy.

RESUMO

Desenvolveram-se métodos analíticos de espectroanálise de emissão e de espectrofotometria de absorção atômica para a determinação dos elementos Al, Fe, Mn e Zn em plantas de pastagens. Os resultados obtidos pelas duas técnicas são comparáveis com boa precisão e reprodutibilidade, sendo a sensibilidade e rapidez de determinação maior em espectrofotometria de absorção atômica.