



UNIVERSIDAD DE CONCEPCIÓN
Facultad de Ciencias Químicas
Programa de Magíster en Ciencias con Mención en Química

DETERMINACIÓN DE ELEMENTOS ESENCIALES Y TÓXICOS EN
ALFORFÓN (*Fagopyrum esculentum*) POR ESPECTROMETRÍA
DE MASAS CON PLASMA ACOPLADO INDUCTIVAMENTE

DETERMINATION OF ESSENTIAL AND TOXIC ELEMENTS IN
BUCKWHEAT (*Fagopyrum esculentum*) BY INDUCTIVELY COUPLED
PLASMA MASS SPECTROMETRY

Por: Matías Riffo Acuña
Profesora Guía: Dra. Mónica Pérez Rivera
Profesor Co-Guía: Dr. Carlos Peña Farfal

Concepción, Chile 2022

DERECHO DE AUTOR

Se autoriza la reproducción total o parcial, con fines académicos, por cualquier medio o procedimiento, incluyendo la cita bibliográfica del documento.



DEDICATORIA



A mi familia, pareja, amigos y profesores.

AGRADECIMIENTOS

Agradecer el apoyo, paciencia y dedicación de mi familia, polola, amigos, profesores y funcionarios de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Concepción para poder terminar con éxito este proceso y trabajo.



TABLA DE CONTENIDOS

ÍNDICE DE TABLAS.....	8
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	10
RESUMEN.....	12
ABSTRACT	13
1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.1 Espectrometría de masas	14
1.2 Espectrometría de Masas con plasma acoplado inductivamente (ICP- MS) 16	
1.3 Pseudocereales	21
1.4 Alforfón (<i>Fagopyrum esculentum</i>).	25
1.5 Nutrición y crecimiento de las plantas	28
1.6 Oligoelementos	29
1.6.1. Macrominerales	31
1.6.2. Elementos trazas: hierro	32
1.6.3. Elementos trazas: cobre	33

1.6.4. Elementos trazas: cobalto.....	36
1.6.5. Elementos trazas: zinc y manganeso.....	37
1.6.6. Elementos trazas: cromo y níquel.....	38
1.6.7. Elementos ultra trazas: estroncio.....	40
1.6.8. Elementos ultra trazas: litio y plomo.....	41
1.6.9. Elementos ultra trazas: cadmio y boro.....	42
1.6.10. Elementos ultra trazas: galio y plata.....	43
1.7 Figuras de mérito del método.....	45
2. HIPÓTESIS.....	48
3. OBJETIVOS.....	49
3.1 Objetivo general.....	49
3.2 Objetivos específicos.....	49
4. METODOLOGÍA DE TRABAJO.....	50
4.1 Tratamiento de la muestra de alforfón <i>Fagopyrum esculentum</i>	53
4.2 Determinación de concentraciones de elementos de la semilla.	55
4.2.1 Curva de Calibrado.....	56
4.2.2 Cuantificación de resultados.....	57



5. RESULTADOS	58
5.1 Determinación de elementos encontrados por debajo de los Límites de Detección y Cuantificación.....	58
5.2 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 10 µg/L.....	60
5.3 Determinación de elementos encontrados entre 10 y 100 µg/L.....	62
5.4 Determinación de elementos encontrados entre 100 y 1000 µg/L.....	63
5.5 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 25 mg/L.....	64
6. DISCUSIONES.....	66
6.1 Determinación de elementos encontrados por debajo de los Límites de Detección y Cuantificación.....	70
6.2 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 10 µg/L.....	71
6.3 Determinación de elementos encontrados entre 10 y 100 µg/L.....	73
6.4 Determinación de elementos encontrados entre 100 y 1000 µg/L.....	76
6.5 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 25 mg/L.....	78
7. CONCLUSIONES	86
8. PROYECCIONES.....	89



9. RECURSOS DISPONIBLES.....91

10. REFERENCIAS92

11. ANEXOS.....102



ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Dosis diarias recomendadas (g/kg de peso) de calcio, potasio, sodio y magnesio.	32
Tabla 2. Calibración y límites de detección para litio, cobalto, galio, plata, cadmio e indio en solución (µg/L).....	59
Tabla 3. Concentraciones de litio, cobalto, galio, plata, cadmio e indio en ppb (µg/L).	60
Tabla 4. Calibración y límites de detección para cromo, níquel, plomo y bismuto en solución (µg/L).....	61
Tabla 5. Concentraciones de cromo, níquel, plomo y bismuto en µg/L.	62
Tabla 6. Calibración y límites de detección para boro, manganeso, cobre, estroncio y bario en solución (µg/L).....	62
Tabla 7. Concentraciones de boro, manganeso, cobre, estroncio y bario en ppb (µg/L).	63
Tabla 8. Calibración y límites de detección para hierro y zinc en ppb (µg/L).	63
Tabla 9. Concentraciones de hierro y zinc en ppb (µg/L).	64
Tabla 10. Calibración para sodio, magnesio, potasio y calcio.	65
Tabla 11. Concentraciones de sodio, magnesio, potasio y calcio en ppm (mg/L).	65
Tabla 12. Tabla de isótopos escogidos, abundancia y posibles interferentes de los elementos considerados esenciales.	67

Tabla 13. Tabla de isótopos escogidos, abundancia y posibles interferentes de elementos considerados tóxicos.....	68
Tabla 14. Condiciones de invernadero.....	70
Tabla 15. Concentración de cromo, níquel, plomo y bismuto por kilogramo de muestra.	71
Tabla 16. Límite de consumo diario de cromo, níquel, plomo y bismuto en $\mu\text{g}/\text{día}$	71
Tabla 17. Concentración de boro, manganeso, cobre, estroncio y bario por kilogramo de muestra.	73
Tabla 18. Límite de consumo diario de boro, manganeso, cobre, estroncio y bario en $\text{mg}/\text{día}$	74
Tabla 19. Concentración de hierro y zinc por kilogramo de muestra.	76
Tabla 20. Límite de consumo diario de hierro y zinc por $\text{mg}/\text{día}$	76
Tabla 21. Concentración de sodio, magnesio, potasio y calcio por kilogramo de muestra.	78
Tabla 22. Límite de consumo diario de sodio, magnesio, potasio y calcio en $\text{mg}/\text{día}$	78
Tabla 23. Características del suelo utilizado para la siembra de semillas.	81

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figura 1. Esquema básico de la espectrometría de masas.....	14
Figura 2. Componentes básicos de un espectrómetro de masas.....	15
Figura 3. Fuente iónica e interfaz de un espectrómetro ICP-MS.....	17
Figura 4. Plantas de quinoa.....	23
Figura 5. Semillas de quinoa.....	23
Figura 6. Plantas de amaranto.....	24
Figura 7. Semillas de amaranto.....	24
Figura 8. Planta de alforfón.....	26
Figura 9. Semillas de alforfón.....	26
Figura 10. Esquema de absorción de nutrientes en plantas.....	28
Figura 11. Curva dosis-respuesta para elementos esenciales.....	30
Figura 12. Porfirina IX de hierro correspondiente al grupo hemo b.....	33
Figura 13. Funciones metabólicas de las proteínas de cobre.....	35
Figura 14. Cobalamina (Vitamina B12).....	36
Figura 15. Reacción de descomposición de la urea vía ureasa.....	38
Figura 16. Sitio activo de ureasa con centros metálicos de níquel.....	39
Figura 17. Factor de tolerancia de glucosa (GTF) con centro metálico de cromo.	39
Figura 18. Ranelato de estroncio.....	41
Figura 19. Diagrama de contaminación del suelo.....	50

Figura 20. Siembra en invernadero de semillas de alforfón.	51
Figura 21. Horno de microondas Milestones RL ETHOS UP.	52
Figura 22. Software easyCONTROL de la terminal del microondas.....	53
Figura 23. Diagrama de flujo del método.	54
Figura 25.Fórmula de conversión de mg/L (ppm) a mg/kg de muestra.	57
Figura 26. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo ($\mu\text{g}/100\text{g}$) para elementos encontrados entre 1 y 10 $\mu\text{g}/\text{L}$	72
Figura 27. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo ($\mu\text{g}/100\text{g}$) para elementos encontrados entre 10 y 100 $\mu\text{g}/\text{L}$	75
Figura 28. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo ($\text{mg}/100\text{g}$) para elementos encontrados entre 100 y 1000 $\mu\text{g}/\text{L}$	77
Figura 29. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo ($\text{mg}/100\text{g}$) para elementos encontrados entre 1 y 25 mg/L	79

RESUMEN

El presente trabajo tuvo como finalidad la determinación de los niveles de minerales por parte del alforfón o trigo sarraceno (*Fagopyrum esculentum*) según las características del suelo donde fue sembrado. Esto, con el fin de promoverlo como uno de los pseudocereales más importantes en la dieta de la población que convive con reacciones alérgicas al gluten, o al sector de la población que, por decisión propia prefiere vivir con una dieta enfocada al veganismo por su alto valor nutricional enfocados cantidad de proteínas, fibras, vitaminas y minerales esenciales. La técnica empleada fue Espectrometría de Masas por Plasma de Acoplamiento Inductivo, conocida ampliamente como ICP-MS que permite la detección y cuantificación multielemental y simultánea de elementos a nivel de trazas y ultra trazas, mientras que para elementos con concentración sobre 1 mg/kg, se utilizó la técnica de absorción atómica con llama.

De esta forma se logra determinar cuantitativamente concentraciones de algunos elementos trazas y algunos ultra trazas, pudiendo compararse estos valores con los encontrados en otros alimentos tipo cereal o pseudocereal de manera efectiva siendo menores a las dosis recomendadas para elementos como Cr, Ni, Pb y Bi por debajo de los 2 mg/kg. B, Mn, Cu, Sr, Ba entre 5 y 20 mg/kg. Fe y Zn entre 25 y 75 mg/kg. Na, Mg, K y Ca entre 1 y 7 g/Kg. Li, Co, Ga, Ag, Cd e In por debajo de 1 µg/kg de muestra.

ABSTRACT

The purpose of this work was to determine the levels of minerals by buckwheat (*Fagopyrum esculentum*) according to the characteristics of the soil where it was planted. This, in order to promote it as one of the most important pseudo cereals in the diet of the population that lives with allergic reactions to gluten, or the group of people that, by its own decision, prefers to live with a diet focused on veganism due to its high nutritional value focused on the amount of proteins, fibers, vitamins and essential minerals. The technique that was used Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry, widely known as ICP-MS that allows multielemental and simultaneous detection and quantification of elements at trace and ultra-traces levels, while for elements with concentration over 1 mg/kg, the technique that was used was flame atomic absorption spectrometry.

In this way it was possible to quantitatively determine concentrations of some trace and some ultra-traces elements, being able to compare these values with those found in other cereals or pseudo cereals effectively being concentrations founded lower than the recommended doses for elements as Cr, Ni, Pb and Bi under 2 mg/kg. B, Mn, Cu, Sr and Ba between 5-20 mg/kg. Fe and Zn between 25-75 mg/kg. Na, Mg, K and Ca between 1-7 g/kg and Li, Co, Ga, Ag, Cd and In under 1 µg/kg of samples.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Espectrometría de masas

La espectrometría de masas (MS) es una técnica analítica que determina la razón masa/carga (m/z) atómica o molecular convirtiendo a las especies químicas en iones describe Gross, J. H. (2007). Esta metodología, ampliamente usada para análisis de tipo estructural y cualitativo, también puede entregar información cuantitativa de analitos a niveles traza, debido a que presenta una gran sensibilidad. Esta técnica permite estudiar dinámicas de reacción y proveer información sobre propiedades físicas de los iones tales como energía de ionización, entalpía de reacción o afinidad electrónica, entre otras. Es una de las técnicas analíticas más versátiles en la actualidad y su uso se encuentra dentro de las áreas como química, geología, ciencias nucleares y de materiales, industria farmacéutica y ciencias ambientales, entre otros indica Dass, C. (2001).

Las etapas básicas de la espectrometría de masas se presentan en el siguiente esquema:

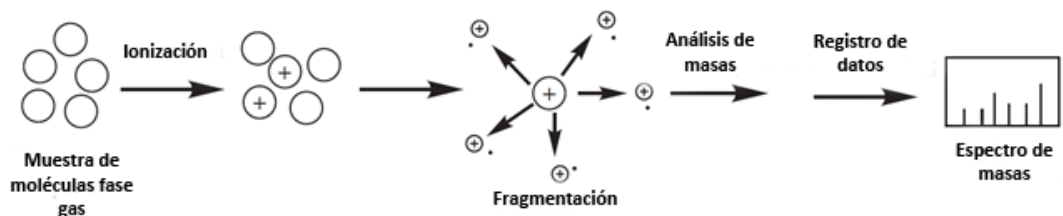


Figura 1. Esquema básico de la espectrometría de masas.

Fuente: Extraído de Dass C., *Principles and Practice of Biological Mass Spectrometry*, Wiley-Interscience, 2001.

En un primer paso, Dass, C. (2001) indica que los analitos son ionizados a una fase gaseosa con carga positiva y para esto, se requiere la remoción de electrones. Para el caso de moléculas, estas son fragmentadas en pequeños cationes. Luego, los fragmentos son separados por masas según su proporción m/z para finalmente, mediante un detector, ser medidos y cuantificados en forma de espectro.

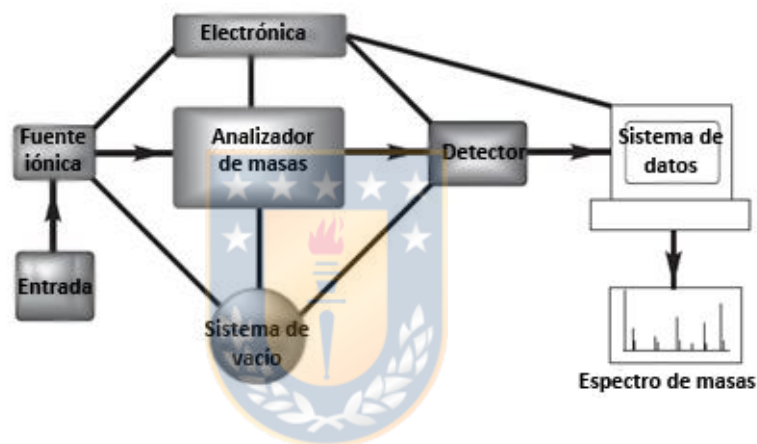


Figura 2. Componentes básicos de un espectrómetro de masas.

Fuente: Extraído de Dass C., *Principles and Practice of Biological Mass Spectrometry*, Wiley-Interscience, 2001.

Para Gross, J. H. (2007) los componentes básicos y fundamentales de un espectrómetro son la fuente iónica, donde el analito cambia su carga de neutral a positiva en una fase gas. Un analizador de masas tipo cuadrupolo, donde los campos eléctricos controlan el movimiento y separación de los cationes. Un detector que amplifica las señales obtenidas, todo esto se realiza en un sistema de vacío donde se minimiza la presión entre 10^{-4} y 10^{-8} torr. Finalmente, un

software que procesa y distribuye los datos en un espectro donde indica las concentraciones de los fragmentos.

Dentro de las mejoras que se le han aplicado a esta técnica debido a su constante modernización Dass, C. (2001) comenta que actualmente la espectrometría de masas consta de nuevas técnicas dependiendo de la forma de ionización como la desorción/ionización láser asistida por matriz (MALDI-MS) o la espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) y de la forma de detección de los elementos como la espectrometría de masas con cromatografía líquida (LC-MS) o gaseosa (GC-MS).

1.2 Espectrometría de Masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS)

La espectrometría de masas por plasma de acoplamiento inductivo (ICP-MS) presenta una sensibilidad más alta que la técnica básica de espectrometría de masas, donde las concentraciones determinadas se encuentran entre las partes por millón ($\mu\text{g/mL}$) y partes por cuatrillón (pg/mL), por lo que se obtienen límites de detección extraordinariamente bajos y, simultáneamente, un análisis multielemental de isótopos de los analitos de interés como describe Dass. C (2001). El plasma acoplado entrega temperaturas cercanas a los 6000°C , al respecto Houk, R. y Praphairaksit, N. (2001) comentan que se mejora la conversión de elementos a sus cationes correspondientes llevando al límite las propiedades físicas del átomo, al estar en estado plasma y se minimiza también

la posible pérdida de muestra, ya que se ioniza en su totalidad permitiendo una mayor precisión en el análisis.

Tiene como ventaja por sobre otras técnicas, una elevada tolerancia a sales que se pudiesen formar en el disolvente, las cuales se descomponen en plasma y se eliminan en la fase gaseosa. Para esto, se utilizan matrices y aguas de lavado con ácidos altamente volátiles como el ácido nítrico según indican Stewart, I. I. y Olesik, J. W., (1998a y 1998b) y también Tangen A. y Lund W. (1999).

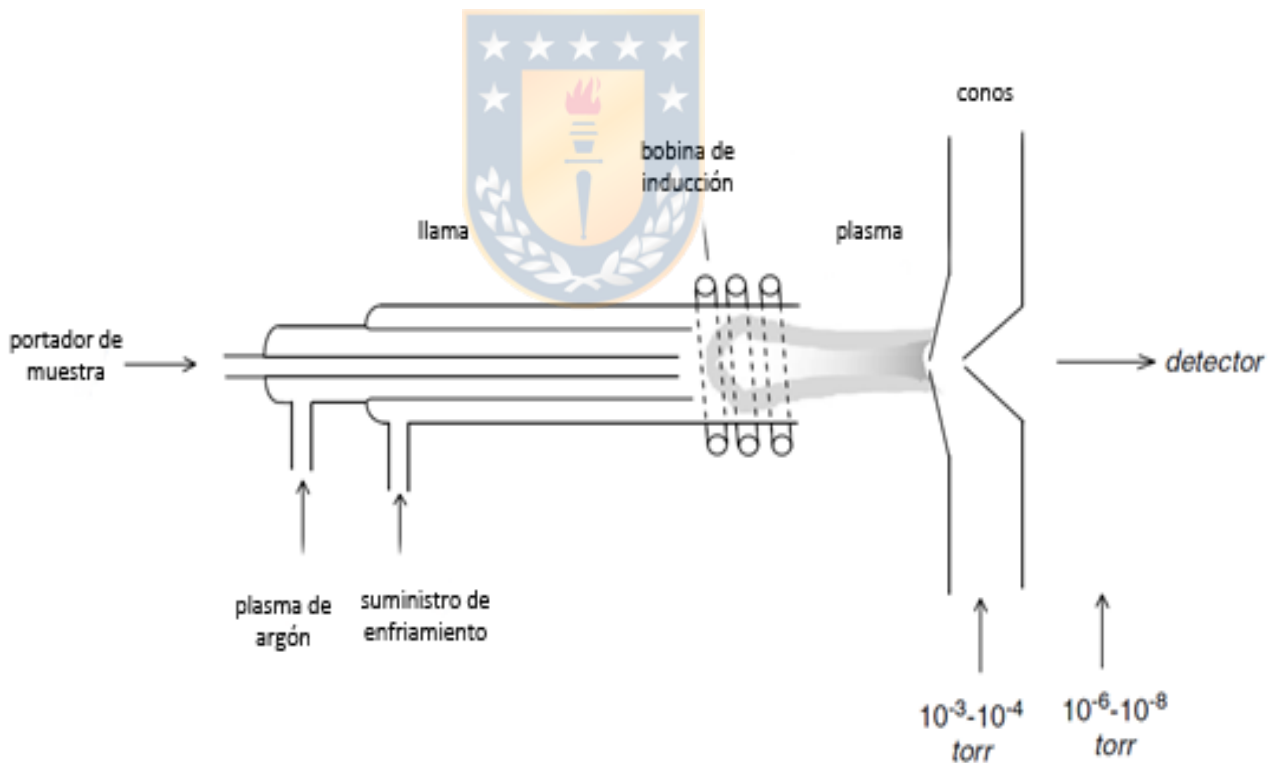


Figura 3. Fuente iónica e interfaz de un espectrómetro ICP-MS.

Fuente: Extraído de Ammann A. Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS): a versatile tool, *Journal of mass spectrometry* 42: 419-427, 2007.

Para analizar muestras con esta técnica, es necesario emplear la nebulización de soluciones líquidas. Las muestras en su mayoría son digeridas y disueltas hasta la obtención de una solución homogénea.

Para los estudios multielementales de las muestras, también se puede utilizar otras técnicas como la espectrometría óptica con plasma acoplado inductivamente (ICP-OES) y la espectroscopía de absorción atómica en su variable de llama (F-AAS) y atomización por horno de grafito (GF-AAS).

A diferencia de estas técnicas, en ICP-MS se utiliza un analizador de masas de cuadrupolo simple, que es capaz de separar los distintos isótopos de los elementos con una diferencia de 1 una o menos según su razón m/z , en comparación a ICP-OES y F-AAS, en que la concentración del analito dependerá de la intensidad de la longitud de onda característica del mismo.

Adicionalmente, el analizador tiene otra ventaja. Al momento del análisis presenta una linealidad mayor a 8 órdenes de magnitud por sobre el ICP-OES (5 órdenes de magnitud) y AAS (2 órdenes de magnitud para horno de grafito y 3 órdenes de magnitud para llama), lo que le da un amplio intervalo de trabajo para concentraciones en muestras multielementales.

El análisis con ICP-MS utilizado para este estudio permite dos tipos de cuantificación de sus concentraciones; una de tipo estándar o normal, donde se realiza un barrido general de la muestra según los isótopos que se escojan

Es importante resaltar que la mayoría de los elementos de la tabla periódica tienen varios isótopos estables en distintas proporciones, por lo que al

hacer un promedio ponderado de masas se entrega el valor en una que es mostrado en la tabla periódica.

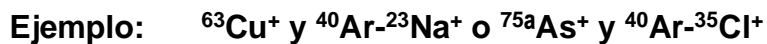
El otro método de determinación es el llamado *Kinetic Energy Discrimination* (KED). Dicho método es capaz de identificar interferencias previas al análisis para su descarte, separando mediante su energía cinética las posibles desviaciones en el análisis al tener una razón m/z similar, ya que la energía cinética de un aducto formado por dos o más cationes es menor a la que tiene el elemento solo.

May T. y Wiedmeyer, R. (1998) definen las posibles interferencias de los analitos, según su composición se pueden clasificar en:

- Solapamientos isobáricos: donde un isótopo de un elemento es medido en conjunto con otro con la misma razón m/z :



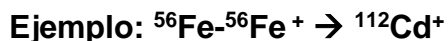
- Interferencias poliatómicas: donde un aducto de elementos pequeños o medianos altera la medida de un elemento pesado



Dentro de estas interferencias están incluidos los óxidos:



y cargas dobles donde el aducto está formado por dos isotopos de un mismo elemento



Estas interferencias podrían venir dadas por la interacción de los elementos presentes en la muestra con el gas plasmógeno que se ioniza al momento del análisis:



También producen interferencias la con interacción con los elementos presentes en la matriz. Por ejemplo: mezcla ácida-oxidativa de HNO_3 , tiene como posibles interferentes a cationes H^+ , O^+ y N^+ .

Para minimizar estas interferencias, es necesario tener previamente una muestra diluida homogéneamente y que la cantidad de sólidos en suspensión de la disolución sea menor al 0,02 mg/L al compararlo con otras técnicas donde se acepta hasta un límite de sólidos en suspensión desde 3 a 20 mg/L (como en la espectrometría de absorción atómica de llama y horno de grafito respectivamente). Además, se requiere utilizar un patrón conocido o certificado para corregir posibles desviaciones de la curva de calibrado.

Para la elección de isótopos es recomendable no seleccionar los que tengan razón m/z similar. Por el contrario, se recomienda elegir los de mayor proporción y porcentaje de abundancia o, en su defecto, seleccionar los que no tengan interferentes mayores con la matriz o plasmógeno independiente de su bajo porcentaje de abundancia. Si fuese imposible, se deberán hacer correcciones matemáticas seleccionando otros isotopos.

La técnica de ICP-MS debido a su multifuncionalidad de análisis y elementos posibles es ampliamente utilizada en la industria teniendo varios

campos de aplicación como el análisis de aguas, suelo y aire en el área medioambiental. También es empleada en industrias farmacéuticas y en empresas dedicadas a producción de alimentos, industrias mineras y petroquímicas.

La posibilidad de la utilización de esta técnica dentro de las dependencias de la Universidad de Concepción se debe a que la Facultad de Ciencias Químicas en conjunto con otras Universidades del sur de Chile, adjudicaron el proyecto EQM180217 de FONDEQUIP y la adquisición del equipo espectrómetro de masas por plasma acoplado inductivamente integrado a un cromatógrafo iónico (IC-ICP/MS). Este equipamiento, se encuentra ubicado en el Servicio y Asistencia Tecnológica (SAT) de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Concepción, siendo uno de los pocos disponibles en el área.

Esta novedosa técnica analítica fue la seleccionada para llevar a cabo la determinación y cuantificación de algunos elementos de la tabla periódica en muestras de alforfón, un pseudocereal muy poco conocido a nivel comercial y gastronómico.

1.3 Pseudocereales

Al no pertenecer a la familia *Graminae*, no clasifican como cereales, ya que sus semillas no producen pasto, sino grandes hojas anchas y en algunos casos flores. Ya que los cereales se caracterizan por contener una proteína denominada gliadina, que es componente esencial del conjunto de proteínas

llamado gluten, parte fundamental en la repostería y panadería. Sin embargo, esta proteína en algunas personas genera una reacción alérgica que se manifiesta en el organismo de acuerdo a los diferentes niveles de tolerancia, ocasionando según la sensibilidad del individuo, desde reacciones dérmicas, hasta alcanzar problemas gastrointestinales y respiratorios en los casos extremos.

Estos pseudocereales a modo de comparación con los cereales comunes contienen una mayor cantidad de proteínas. Se estima que por cada 100 gramos (porción recomendada) un 15 % corresponde a las proteínas (13 a 15 gramos), estando al nivel de legumbres como lentejas o porotos (frijoles) según Lamacchia, C. *et al.* (2014). Han sido determinados cerca de 9 aminoácidos esenciales, que son denominados de esta manera ya que el cuerpo humano no es capaz de sintetizarlos de forma natural y es necesario obtenerlos mediante la dieta o ingesta de alimentos que los contengan como determinaron Gorinstein, S. *et al.* (2002) y Harmuth-Hoene, A. *et al.* (1987)

También son buenas fuentes de vitaminas como informan Coulter, L. y Lorenz, K. (1990) especialmente la B2 (riboflavina), B6 (piridoxina), C (S-ácido ascórbico) y E (tocoferoles y tocotrienoles), mayor cantidad de lípidos donde la importancia se basa en la presencia de ácidos grasos insaturados beneficiosos para el organismo, una similar concentración de fibras y una alta concentración de minerales y oligoelementos como informa Meier-Ploger, A. (1990), que serán parte del estudio.

Dentro de la categoría de los pseudocereales, se encuentra la quinoa o quinua (*Chenopodium quinoa*), esta planta es cultivada a lo largo de la Cordillera de los Andes, siendo sus principales productores y exportadores los países de Perú, Bolivia y Ecuador, debido a los índices de exportación del producto. Chile, por el contrario, no logra entrar al Top 3 de ventas de países exportadores de este producto (Perú, Bolivia y Estados Unidos), teniendo índices de exportación menores lo que lo ubica en posiciones por detrás de estos países, siendo su consumo en su mayoría debido a importaciones.



*Figura 4. Plantas de quinoa.
Fuente: Biodiversity International*



*Figura 5. Semillas de quinoa.
Fuente: ecoalimentos.cl*

Su símil en América del Norte y Central es el amaranto (*Amaranthus*), pudiéndose encontrar desde México hasta el norte de Colombia, en algunos casos es posible encontrarlo en la zona del sudeste asiático e islas del Pacífico, como parte importante de la economía de la zona.



Figura 6. Plantas de amaranto.
Fuente: grupoamarantomexicano.wordpress.com

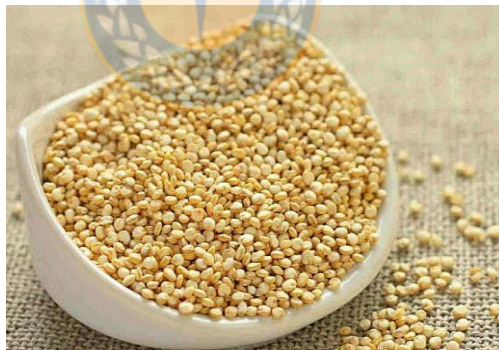


Figura 7. Semillas de amaranto.
Fuente: puertoverde.cl

Otros pseudocereales poco conocidos son la cañahua o cañihua (*Chenopodium pallidicaule*) muy similar a la quinoa, y la chía (*salvia hispánica*), además del pseudocereal de interés que se analizara por ICP-MS, el alforfón (*Fagopyrum esculentum*).

1.4 Alforfón (*Fagopyrum esculentum*).

El alforfón, también conocido como trigo sarraceno, es una planta proveniente de norte de Asia descrita por Ohnishi, O. (1998) y Price T. V. (1988), popularizada en la agricultura de Europa Central durante la Edad Media, como una alternativa al trigo, para alimento para animales. Ciacci, C. *et al.* (2015) describe en sus investigaciones, como al conocer sus propiedades y valores alimenticios en proteínas y minerales esenciales, se ha vuelto fundamental en la dieta vegana y de personas alérgicas al gluten ya sea como harina o grano en países asiáticos y europeos.

A este tipo de cultivos se denomina seco, ya que no requiere un agua de riego especial, nutriéndose según las características del suelo y las aguas lluvias, ahorrando de cierta forma la mantención húmeda de la tierra.

Dentro de sus principales productores y exportadores están Polonia (16%), Canadá (9%) y Estados Unidos (8%), mientras que en Sudamérica los principales exportadores son Perú (10%) y Bolivia (7%), mientras que Chile no supera el 0,05% de la producción mundial en 2020, según la información proporcionada por la base de datos de la Organización Mundial para la Alimentación y la Agricultura FAO-STAT.

Esta planta tiene un ciclo natural de entre 4 a 5 meses aproximadamente, donde es cultivada a comienzos de la primavera, para aprovechar el suelo húmedo por el invierno.



*Figura 8. Planta de alforfón.
Fuente: almacennapura.cl*



*Figura 9. Semillas de alforfón.
Fuente: burea-uinsurance.com*

Sobre la planta de alforfón no existe abundante literatura como lo describen Peng, L. *et al.* (2014), Mestek, O. *et al.* (2007) y Kitaguchi, T. *et al.* (2008). En estos materiales bibliográficos, se presenta el contenido elemental de alforfón, siendo los trabajos más destacados aquellos en los que se identifican los elementos esenciales y tóxicos presentes, tanto en semilla, como en harina procesada.

El alforfón ha reportado actividad farmacológica mostrando beneficios cardiovasculares en el colesterol y glucosa en la sangre como lo mencionan Yao, Y. *et al.* (2008) y también Lin, L. *et al.* (2008) y al estrés oxidativo como se refiere Inglett, G. *et al.* (2011).

Este pseudocereal llega a Chile a mediados de la década de los 90, específicamente al sur de Chile en la ciudad de Valdivia, para su cultivo y comercialización basado en su contenido proteico. En los últimos años, su zona de siembra y cosecha abarca un área entre las regiones del Maule y la región de Los Lagos, donde se ha innovado la forma de consumo normal aprovechando las propiedades de la planta mediante la producción de miel de trigo sarraceno, donde las colmenas de abejas interactúan principalmente con las flores de alforfón, constituyéndose en una nueva forma de ingesta dentro de la dieta diaria. Las formas más comunes de consumir los pseudocereales son como grano crudo, tipo granola o en conjunto con ensaladas verdes, o como grano cocido como similar a la cocción del arroz.

Este producto, es considerado un producto nicho dentro del mercado nacional e internacional. Debido a su alto costo, cerca de 10 mil pesos chilenos por kilogramo, en comparación al precio del kilogramo de trigo, arroz o maíz. La popularización del alforfón podría ayudar a disminuir el valor de mercado de la quinoa, además de su accesibilidad, ya que se encuentran en su mayoría en sectores de comida tipo gourmet o en tiendas exclusivas de comidas veganas.

Existen diversas formas en las cuales una planta puede absorber durante su desarrollo los elementos y minerales esenciales y beneficiosos para el organismo, así como también puede potencialmente absorber elementos tóxicos y metales pesados.

1.5 Nutrición y crecimiento de las plantas

Dentro de las fuentes más importantes están las características del suelo donde se siembre y cultiva un alimento. Además, la calidad del agua de riego y su concentración de trazas y ultra trazas. Al ser un cultivo de tipo seco, la variable de la irrigación es imposible de controlar a nivel de campo, pero sí es controlable en siembras de invernadero o *in-door*, pero en estas condiciones se descarta que el tamaño y la calidad de la semilla alcance su máximo.

Fang, X. *et al.* (2018) resaltan que las características del suelo donde es plantada esta semilla son importantes ya que una superficie rica en nitrógeno sea natural o fertilizado, hará crecer plantas con mejores cualidades tales como número de ramas, número de semillas, flores y hojas por rama, y asimismo tamaño y peso de la semilla, produciendo granos de alta calidad y valor proteico nutricional.

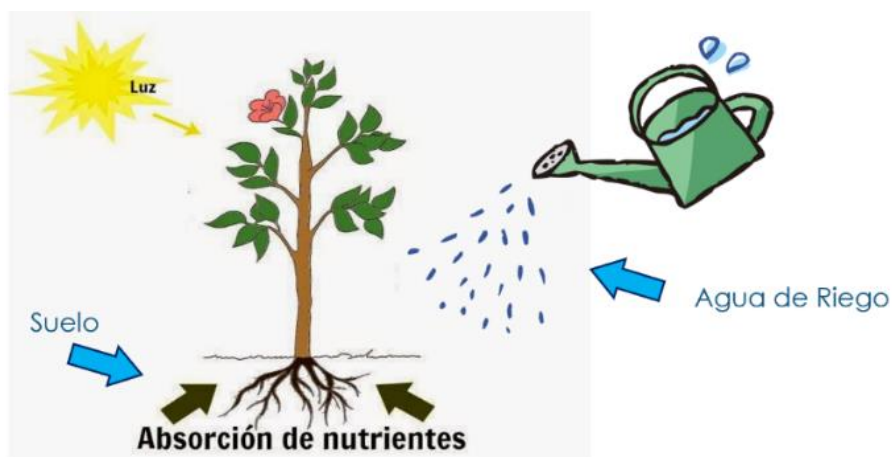


Figura 10. Esquema de absorción de nutrientes en plantas.

Fuente: Elaboración propia.

Otro de los factores importantes que podrían variar la concentración ideal de minerales dentro de una planta son las características del suelo o del agua, considerando el potencial de óxido-reducción (E°) y pH, que afectarán la absorción y solubilidad de los elementos por parte de las raíces de la planta. Esta absorción se presenta en función de los estados de oxidación del elemento y la estabilidad de los mismos como definen Ruiz, C. y Bressani, R. (1990).

1.6 Oligoelementos

Después de los elementos esenciales más importantes de los cual se componen en su mayoría los seres vivos (carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno y fósforo) los siguen los oligoelementos, macrominerales, elementos traza y ultra trazas. Debido a sus diversos estados de oxidación, éstos permiten la generación y gasto de energía para síntesis y descomposiciones de macromoléculas según la funcionalidad de los órganos del cuerpo humano a través de la transferencia de electrones en los procesos de óxido reducción.

La ingesta de estos elementos en los organismos de los seres vivos consta de 5 etapas, donde según la dosis, se considera ingesta de sobrevivencia, ingesta deficiente, ingesta óptima, ingesta de toxicidad o ingesta de letalidad descritos por Roat-Malone, R. (2002).

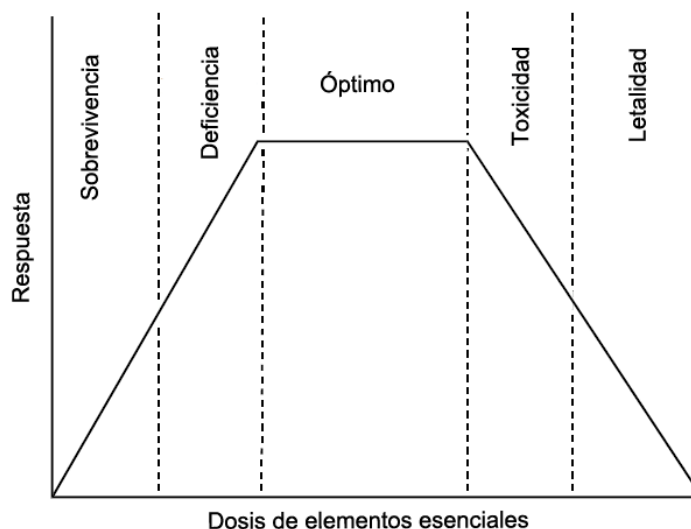


Figura 11. Curva dosis-respuesta para elementos esenciales.

Fuente: Extraído de Roat-Malone R., *Bioinorganic chemistry*, Wiley-Interscience, 2002.

Como se observa en la figura 11, cuando la dosis ingerida es menor a la recomendada se considera como técnicamente como deficiencia y como respuesta las funciones fisiológicas comienzan a fallar o, en su defecto, a funcionar a menor intensidad a la normal.

Luego, al seguir disminuyendo su ingesta a niveles críticos el organismo en cuestión apenas puede sobrevivir por lo que se priorizan algunas tareas funcionales por sobre otras, lo que genera graves problemas de salud del individuo. Sin embargo, cuando se elimina por completo la ingesta de estos elementos de la dieta diaria, las fallas multisistémicas de algunos órganos asociados a procesos importantes en el metabolismo traen por consecuencia la muerte del organismo.

Por otro lado, cuando la dosis ingerida supera la óptima, a pesar de que sea beneficioso, se considera tóxico por acumulación, ya que no se elimina naturalmente en su totalidad como sucede cuando la dosis se considera normal mediante la excreción de sudor, orina y heces fecales. Finalmente, a dosis aún mayores a las consideradas tóxicas, se clasifica como dosis letal para el organismo y también generan fallas múltiples provocando la muerte, similar al no consumo del mismo.

Los elementos que serán parte de este estudio fueron elegidos y seleccionados por su disponibilidad y alcance para las preparaciones de las curvas de calibrado correspondientes, a partir de un patrón multielemental certificado. Dependiendo de la concentración necesaria para el funcionamiento óptimo fisiológicamente se pueden clasificar en macrominerales y elementos trazas.

1.6.1. Macrominerales

Al respecto, Frieden, E. (1985) menciona que para mantener el equilibrio hidroelectrolítico de las funciones cerebrales y celulares, es necesario la ingesta de macrominerales como Na, Mg, K y Ca en forma iónica de manera constante ya que estos elementos se van eliminando del cuerpo diariamente mediante la orina y sudor. Por esto, dichos elementos son considerados principales ya que es necesario su consumo en concentraciones mayores a 50 mg/día.

Tabla 1. Dosis diarias recomendadas (g/kg de peso) de calcio, potasio, sodio y magnesio.

Elemento	Contenido (g/kg de peso)
Calcio	10 – 20
Potasio	2 - 2.5
Sodio	1 - 1.5
Magnesio	0.4 - 0.5

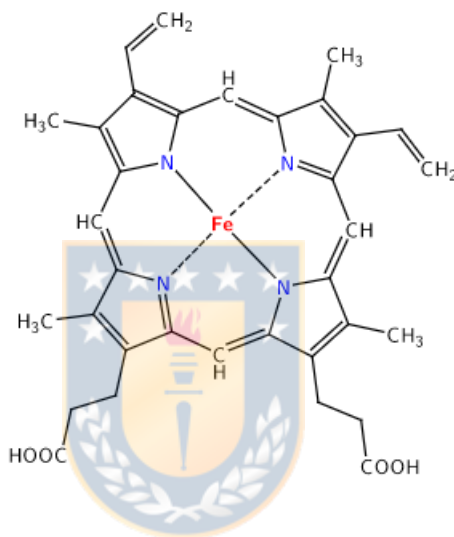
Fuente: Belitz H. D., et al. (2009). *Food Chemistry*. pág. 421.

Luego, se encuentran los elementos cuya concentración al momento de la Se consideran elementos trazas los que forman un papel fundamental de los procesos fisiológicos el organismo humano con una ingesta recomendada por debajo de los 50 mg/día que disminuye según el elemento, ya que cuentan una función bioquímica específica como, por ejemplo, el centro metálico de proteínas y enzimas.

1.6.2. Elementos trazas: hierro

Uno de los metales de transición beneficiosos para el organismo es el hierro, elemento fundamental para evitar la anemia y mantener un adecuado número de glóbulos rojos en el sistema circulatorio, ya que el hierro es el centro metálico de los grupos proteicos hemo de tipo porfirinas tales como hemoglobina (sangre) y mioglobina (tejido muscular) en células animales. En células vegetales, el hierro está presente en citocromos, cumpliendo la misma función

para la respiración aeróbica y anaeróbica en la fotosíntesis, así como también presente en enzimas, ya que al cambiar constantemente su estado de oxidación entre el Fe^{2+} y Fe^{3+} , entrega energía mediante la transferencia de electrones. Por lo mismo, es recomendable su consumo de alrededor de 15 mg/día ya sea desde fuentes animales (carnes rojas y blancas) o fuentes vegetales.



*Figura 12. Porphirina IX de hierro correspondiente al grupo hemo b.
Fuente: Elaborado utilizando ChemDraw Ultra 7.0 y Adobe Illustrator 10.*

1.6.3. Elementos trazas: cobre

Es un elemento trascendental como antioxidante mediante la catálisis de radicales libres, asimismo en la producción de energía en la formación de ATP y también presente en enzimas cuproprotéicas óxido-reductasas que ayudan a la producción y síntesis de hemoglobina catalizando la oxidación de Fe (II) a Fe (III) y la posterior reducción, llegando a necesitarse aproximadamente una concentración alrededor de 1,5 mg/día de consumo.

El cobre está presente en enzimas tales como la lisil-oxidasa, una cuproproteína que es importante en la formación de los tejidos conectivos mediante la interacción de colágeno y elastina. En el caso del transporte de oxígeno está la hemocianina (enzima de cobre binuclear con dos centros metálicos Cu (II) con configuración electrónica d^9) presente en moluscos y crustáceos, dándoles su característico color azul. Por otra parte, existe en el cerebro la dopamina β -hidroxilasa, donde ocurre la hidroxilación de la dopamina produciendo noradrenalina, entre otros como se observa en la Figura 13.



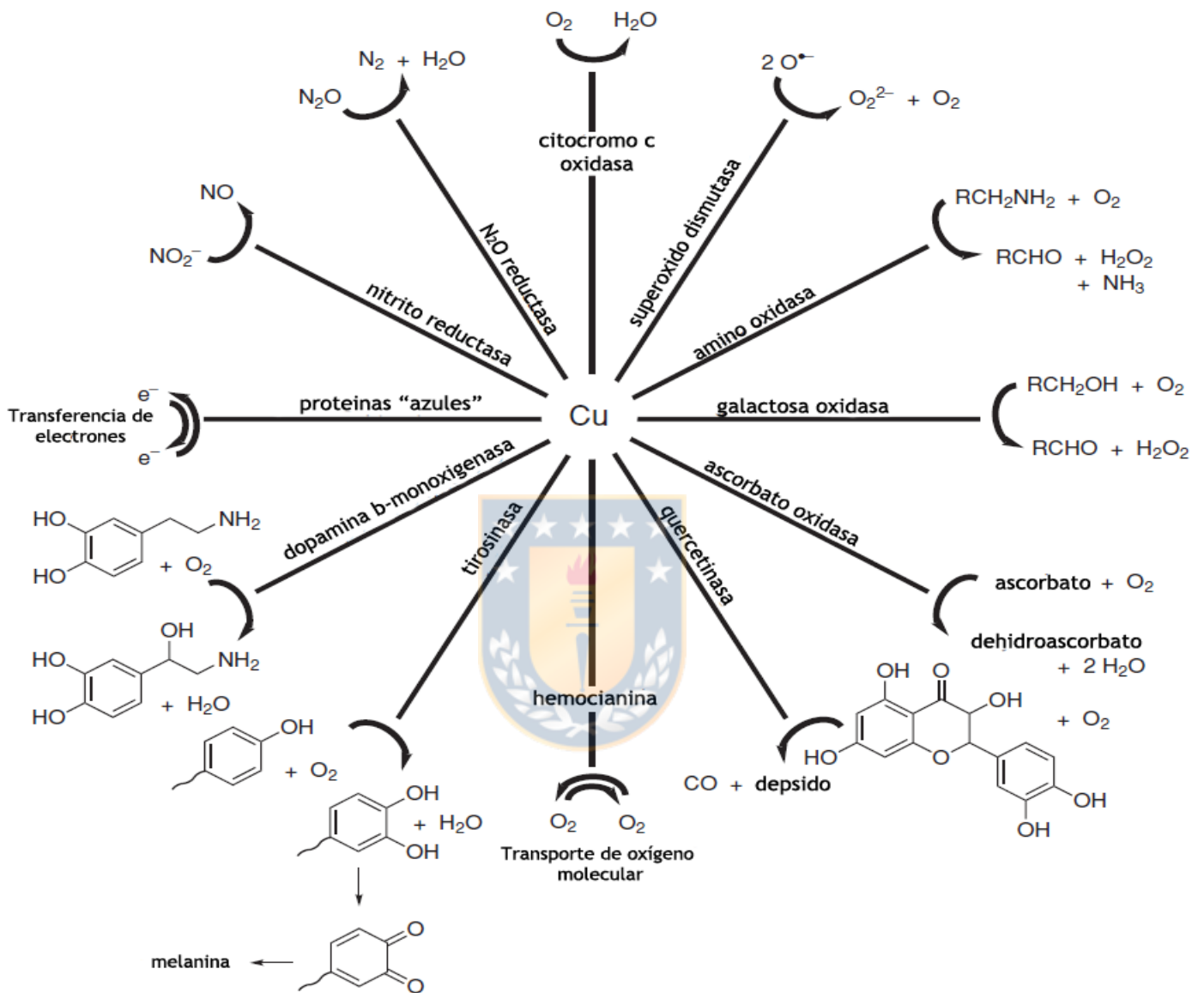


Figura 13. Funciones metabólicas de las proteínas de cobre.

Fuente: Kaim W., Schwederski B., Klein A., *Bioinorganic chemistry: Inorganic elements in the chemistry of life*, Wiley, 2013.

1.6.4. Elementos trazas: cobalto

Este elemento es el centro metálico en su estado de oxidación (III) en las cobalaminas, la cual varía según el grupo R enlazado al centro metálico ($R = \text{CH}_3, \text{CN}, \text{OH}$) donde la vitamina B12 viene dada por la cianocobalamina como lo menciona Flokers, K. (1984), esta vitamina es considerada fundamental debido a que es necesaria y se debe adquirir mediante la dieta por ingesta de productos en su mayoría de origen animal, tales como pescados, mariscos, carnes rojas y blancas, huevos y lácteos.

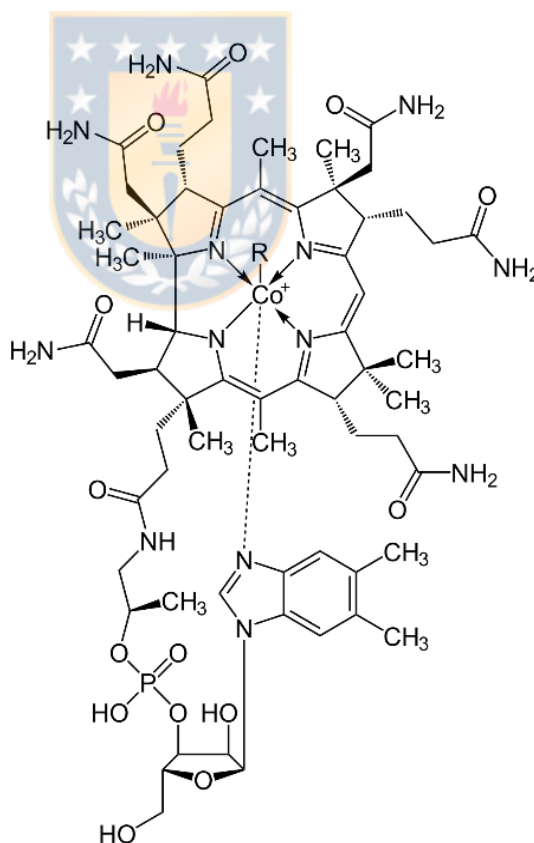


Figura 14. Cobalamina (Vitamina B12)

Fuente: Elaborado utilizando ChemDraw Ultra 7.0 y Adobe Illustrator 10.

La síntesis es realizada principalmente por animales herbívoros en simbiosis con bacterias y su producción en el ser humano no es posible. Otras funciones enzimáticas del grupo de las cobalaminas incluyen isomerasas, dentro de las cuales hay del tipo mutasas como dice Banerjee, C. (2003) donde ocurre el intercambio entre las posiciones de grupos funcionales y eliminadas según Toraya, T. (2003) donde ocurren reacciones de eliminación de agua del tipo deshidratadas).

1.6.5. Elementos trazas: zinc y manganeso

Fundamental en el metabolismo enzimático de alcoholes, grasas y carbohidratos, necesario en una dosis aproximada de 20 mg/día, también tiene una función estructural ya que asegura y mantiene las estructuras tridimensionales en la formación de las células y en la síntesis de insulina en el páncreas pudiéndose encontrar en leguminosas, frutos secos y alimentos provenientes del mar (pescados y mariscos).

Manganeso, un elemento importante en la absorción de vitamina E y síntesis de hormonas y ácidos grasos describe Folkers, K. (1984), se encuentra principalmente en alimentos de origen vegetal tales como; (cereales, frutas y hortalizas verdes) ya que cataliza el transporte de electrones en el proceso de la conversión de plastoquinona en plastohidroquinona en presencia de luz, siendo el catalizador una oligoproteína que contiene cuatro centros de manganeso como lo establece Vignais, M. y Billoud, B. (2007). Se puede encontrar también, pero en menor cantidad en carnes y derivados lácteos.

1.6.6. Elementos trazas: cromo y níquel

Finalmente, Vincent, J. B. (2010) reporta que a menores concentraciones están el cromo y níquel, siendo para el primero su dosis ideal bajo 200 µg, importante para la actividad de la insulina en el metabolismo de la glucosa siendo parte de factor de tolerancia de la glucosa (GTF) en su estado de oxidación de Cr (III) (Figura 17) ayudando a disminuir enfermedades cardiovasculares como comenta Vincent, J. (2012). Este elemento está biodisponible en dietas de cereales de granos integrales en altas concentraciones, y en frutas y vegetales a menores dosis.

Mientras que el níquel, se encuentra en el centro metálico enzimático de la ureasa de forma binuclear, que se encuentra disponible en alimentos tipo leguminosas (Figura 15), esta enzima es la responsable de descomponer la urea en dióxido de carbono y amoníaco según indica la siguiente reacción:

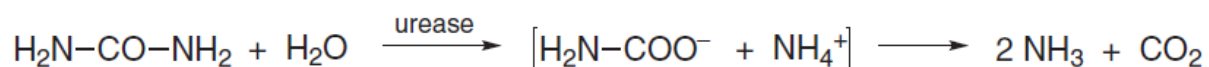


Figura 15. Reacción de descomposición de la urea vía ureasa.

Fuente: Kaim, W., Schwederski, B., Klein, A., *Bioinorganic chemistry: Inorganic elements in the chemistry of life*, Wiley, 2013.

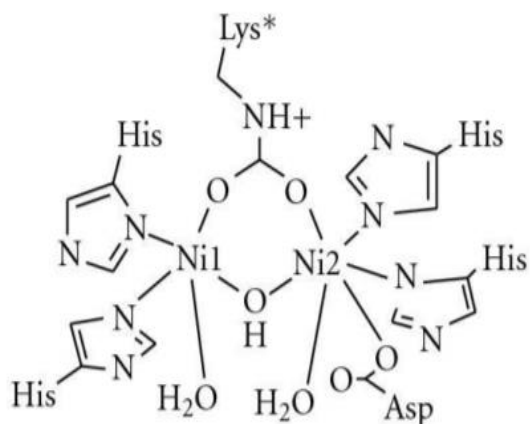


Figura 16. Sitio activo de ureasa con centros metálicos de níquel.

Fuente: Benini, S., Rypniewski W.R., Wilson K. S., Miletti, S., Ciurli S., and Mangani S., "A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis costs two nickels," *Structure*, vol. 7, no. 2, pp. 205–216, 1999.

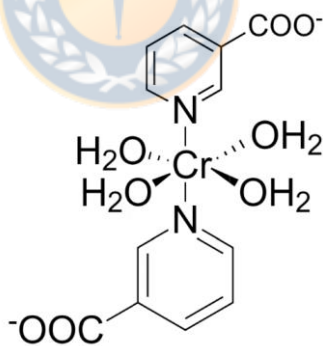


Figura 17. Factor de tolerancia de glucosa (GTF) con centro metálico de cromo.

Fuente: Elaboración propia utilizando ChemDraw Ultra 7.0.

Por otra parte, también hay elementos también llamados ultra-trazas, que a dosis bajas pudiesen ser tóxicos y nocivos para el organismo de los seres vivos tanto vegetales como animales (Li, Ga, Sr, Ag, Cd, In, Ba, Pb y Bi), así como

también algunos elementos beneficiosos para la salud, como algunos de los que fueron nombrados anteriormente, que en dosis superiores a la definida por un límite diario de consumo expresada ya sea en forma general (por día), o por kilogramo de peso del individuo que consume el alimento, el cual varía y depende de la organización gubernamental dedicada al sistema de salud de cada país.

Además, entran en esta clasificación los elementos a los cuales no se les ha descubierto una importancia biológica en los procesos fisiológicos de los seres vivos y por su poca disponibilidad y abundancia tanto como en suelo, agua y aire como los elementos ultra trazas.

1.6.7. Elementos ultra trazas: estroncio

Pors Nielsen, S. (2004) clasifica los elementos como dañinos por su reactividad o competencia con otros elementos de un tamaño y estado de oxidación similar, como es el caso del estroncio (Sr^{2+}) compite con el calcio (Ca^{2+}) en el desarrollo óseo temprano provocando malformaciones tales como huesos más grandes y densos de lo normal en el caso de dosis altas al intercambiarse por el catión calcio en la hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), aunque está documentado bibliográficamente el uso de ranelato de estroncio ($\text{C}_{12}\text{H}_6\text{N}_2\text{O}_8\text{SSr}_2$) como medicamento para la osteoporosis en mujeres postmenopáusicas, también tiene efectos secundarios al momento del inicio del tratamiento tales como problemas digestivos y gastrointestinales llegando hasta problemas cardíacos producidos por tromboembolias pulmonares mencionadas por Sánchez, A. (2016)

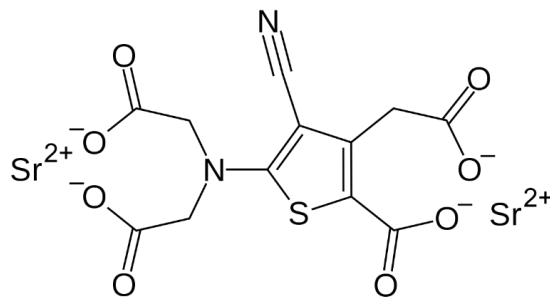


Figura 18. Ranelato de estroncio.

Fuente: Barbu, H., Andreescu, C. Raluca Monica, C., Lorean, A., Podariu, A. Bechir, A. (2014). *Effect of Strontium Ranelate on Maxillary Bone Density. Revista de Chimie -Bucharest-Original Edition-*. 66. 244.

1.6.8. Elementos ultra trazas: litio y plomo

En el caso del litio en el organismo, su acumulación progresiva en el tiempo tras la ingesta de medicamentos basados en el principio activo del catión Li^+ , como, por ejemplo, el carbonato de litio (Li_2CO_3) para el tratamiento de problemas psiquiátricos, genera una alteración y deterioro en la glándula tiroides, llegando a provocar en algunos casos hipotiroidismo y algunos problemas renales como demostraron Aral, H. y Vecchio-Sadus, A. (2016). Deverel, S. *et al.* (2011) refieren que en los suelos se puede encontrar en arcillas o en aguas con concentraciones altas de Na y K, su toxicidad en plantas ha sido reportada a valores menores de 100 $\mu\text{g/L}$ en aguas de regadío.

Los efectos dañinos del plomo han sido reportados a través de la historia desde la antigüedad en el proceso de la metalurgia de otros metales como oro, plata y cobre hasta la revolución industrial donde es parte importante de las baterías para automóviles, pigmentos y aditivos para combustibles. Al respecto, Benetou-Marantidou, A. *et al.* (1988) reseñan que la intoxicación por acumulación

de plomo en la sangre se denomina plumbosis o saturnismo, que altera la producción de hemoglobina y daños neuronales por el transporte de plomo en la sangre.

1.6.9. Elementos ultra trazas: cadmio y boro

Nordberg, G. F. (2009) describe como el cadmio ha sido reportado como un elemento más tóxico que el plomo ya que requiere una dosis menor para ser letal en el organismo de un ser vivo, generalmente ingerido en aguas contaminada que se utilizan de regadío para plantaciones y mediante el consumo de cigarrillos, lo que provoca desde problemas renales y hepáticos hasta potenciales agentes carcinógenos por su alta capacidad tiofílica lo que lo hace más reactivo en la cisteína reemplazando y desplazando al zinc en la formación de enzimas y también por su tamaño similar al calcio, una competencia con el estroncio en el tejido óseo.

Con relación al boro, EPA (1997) establece que presenta una dualidad en su esencialidad y toxicidad dependiendo de su dosis, es utilizado como suplemento medicinal para el tratamiento de osteoporosis y fortalecimiento de huesos, como también para incrementar el nivel de testosterona en la ingesta de productos para aumentar la masa muscular en bajas dosis de aproximadamente 1 mg/día. La toxicidad viene dada por la presencia de este elemento en productos de limpieza (ácido bórico o bórax), en cerámicos y en pesticidas en la agricultura, que trae como consecuencias problemas gastrointestinales y cardiovasculares, también afecciones renales y dérmicas. Kot, F. (2009) establece que esta

asimilación del organismo humano podría darse por sus propiedades como su tamaño pequeño y alta energía de ionización generando enlaces covalentes en lugar de enlaces metálicos.

1.6.10. Elementos ultra trazas: galio y plata

Para el galio, otro elemento que es utilizado en medicina, específicamente como fármaco para el tratamiento de cáncer y problemas asociados a los huesos, es importante resaltar que mediante la alteración de la concentración de calcio del organismo y su concentración se incrementa su toxicidad debido a la acumulación como lo menciona Chitambar, C. (2010). Este elemento no es abundante en los suelos y en la naturaleza por lo que su concentración podría ser del orden de los partes por billón o pudiese estar por debajo de ella.

Se puede encontrar plata abundante como mineral en los suelos, especialmente en Chile, siendo uno de los países que exportan este metal precioso junto a Perú, México y China informado por Geological Survey, U.; (2021). Algunas sales como el nitrato de plata mediante la ingestión o inhalación tiene la tendencia de producir cáncer al estar presentes en el sistema circulatorio, la deposición de estas sales en algunos tejidos produce una enfermedad llamada argiria, como lo mencionan en sus investigaciones Kubba, A. *et al.* (2013).

En estos casos, los niveles normales de concentración son de alrededor de 1 mg y su dosis letal 50 a 500 mg/kg de peso del individuo, como lo establecen Drake, P. y Hazelwood, K. (2005). Otros efectos producidos por la alta concentración en acumulación crónica de plata en el organismo son daños

renales, pulmonares y hepáticos. Naturalmente a niveles de suelo para agricultura es difícil encontrar niveles considerables de este elemento, sin embargo, es posible encontrarlas en el caso de que se usasen pesticidas o fungicidas basados en sales de plata o nanopartículas de plata, las cuales afectan su concentración y acumulación progresiva en aguas y plantas como describen Manimegalai, G. *et al.* (2011).

1.6.11. Elementos ultra trazas: bario, indio y bismuto

Los compuestos más comunes de encontrar de bario corresponden a los sulfatos y carbonatos, los cuales son insolubles en agua y se acumulan en el suelo y en aguas duras. La concentración de bario en el agua puede llegar a 30 ppb hasta 300 ppb en zonas de depósitos de minerales, como se refleja en ATSDR (2016). Su toxicidad no viene dada por una alta dosis ingerida de una sola vez, sino que, a través de la acumulación en el organismo, la cual progresivamente resulta en problemas cardíacos y renales.

La concentración acumulada de indio en el organismo ha mostrado efectos negativos en mamíferos ya que progresivamente en el tiempo es capaz de disminuir la concentración de prolactina plasmática, hormona que estimula la producción de leche en las glándulas mamarias, también tiene consecuencias embriotóxicas y teratógenas en mujeres embarazadas sometidas a la exposición prolongada de este metal, utilizado farmacológicamente como indicador radioactivo para la detección de tumores y fibrosis pulmonar, también es utilizado industrialmente en joyería y como anticorrosivo mencionado por Polmear, I. J.

(1993). Su disponibilidad en los suelos es a nivel ultra traza por lo que similar al galio, podría encontrarse a niveles de ppt tanto como en aire y agua.

Por otra parte; Domenico, P. *et al.* (1996) mencionan que el bismuto es utilizado en forma de medicamento para el tratamiento de enfermedades digestivas como las úlceras gástricas y duodenales en forma de sales como citratos, subcitratos y subnitratos los cuales ayudan a mantener la mucosa gástrica en contra de la *Helicobacter pylori* mediante la inhibición del transporte de hierro en la interacción con bacterias gram-negativas cuando está con estado de oxidación Bi (III) en forma de quelatos. Su concentración en suelos es del orden de los 250 a 350 ppb en suelos ricos en plomo y cobre informado por Bowen, H. (1979).

1.7 Figuras de mérito del método.

Para el desarrollo de este trabajo se determinaron algunos parámetros analíticos para demostrar su confiabilidad, repetibilidad y reproducibilidad, dentro de los cuales están:

- Límite de detección (LOD): cantidad o concentración mínima que puede ser detectada por el método analítico utilizado a partir de la medición de un blanco y que es diferenciable del blanco.

$$LOD = \bar{x} + 3SD$$

\bar{x} = media aritmética.

SD: Desviación estándar.

- Límite de cuantificación (LOQ): menor concentración que puede ser determinada por el método con precisión o exactitud dados.

$$LOD = \bar{x} + 10 SD$$

\bar{x} = media aritmética.

SD: Desviación estándar.

- Linealidad: capacidad del método para entregar resultados proporcionales a la concentración del analito en el intervalo de trabajo.

$$y = mx + b$$

m = pendiente de la ecuación de la recta

b = intercepto de la recta con el origen.

$$r = \frac{\sum (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2 \sum (y_i - \bar{y})^2}}$$

r = coeficiente de correlación de Pearson.

$$R^2 = \frac{\sum_{t=1}^T (\hat{Y}_t - \bar{Y})^2}{\sum_{t=1}^T (Y_t - \bar{Y})^2}$$

R² = coeficiente de determinación.

- Sensibilidad: capacidad del método para registrar pequeñas variaciones de la concentración del analito.

$$\gamma = \frac{m}{SD}$$

m = pendiente de la ecuación de la recta

SD: Desviación estándar.

- Precisión: para asumir que un método es reproducible independiente del operador y/o día en que se ejecuta es necesaria la concordancia entre los resultados obtenidos de forma idéntica mediante la determinación de la desviación estándar (SD), con resultados representativos de un universo de datos con la siguiente formula:

$$SD = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n - 1}}$$

Para establecer su exactitud y precisión, en reemplazo de un material de referencia certificado se utilizará el método de recuperación (*Recovery*) en donde la exactitud se expresará en porcentaje de recuperación (% R) comparando la concentración inicial de la muestra, el patrón añadido y la concentración sumada al patrón para determinar si existen interferencias por parte de la matriz.

$$\% R = \frac{Y - X_0}{X_i} \times 100$$

X₀ = Concentración inicial de la muestra.

X_i = Concentración del patrón añadido a la muestra.

Y = Concentración de la muestra tras añadir el patrón.

2. HIPÓTESIS

El presente trabajo de investigación se sustenta en base a la literatura estudiada por lo cual fue posible plantear las siguientes hipótesis:

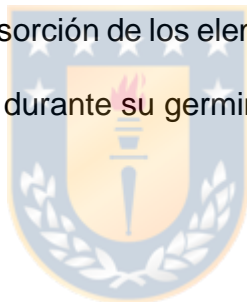
- 1) Las concentraciones de los elementos Na, Mg, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu y Zn en distintos tipos de semillas de alforfón utilizado estarán estrechamente relacionadas entre sí, sin tener en cuenta al contenido de dichos elementos en los suelos donde se desarrolla al cultivar.
- 2) Alforfón presentara baja absorción de elementos nocivos y tóxicos para la salud como Li, B, Ga, Sr, Ag, Cd, In, Ba, Pb, Bi, que se añadan exprefeso a los suelos de cultivo.



3. OBJETIVOS

3.1 Objetivo general

Determinar la concentración de los elementos esenciales Na, Mg, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn y tóxicos Li, B, Ga, Sr, Ag, Cd, In, Ba, Pb, Bi en $\mu\text{g}/\text{kg}$ o mg/kg en las muestras según correspondan, de semillas de alforfón y harina comercial con la finalidad de establecer una correlación entre las matrices y así conocer la capacidad de absorción de los elementos tóxicos presentes en el suelo por parte del pseudocereal durante su germinación.



3.2 Objetivos específicos

1. Determinar la concentración de los elementos seleccionados en semilla y harina de alforfón.
2. Establecer correlaciones entre las concentraciones elementales de las matrices analizadas.
3. Determinar si el análisis de nuevas semillas es suficiente para afirmar la capacidad de absorción de ciertos elementos por parte de la planta.

4. METODOLOGÍA DE TRABAJO

Se realizó un análisis para determinar la concentración multielemental de una cosecha de semillas de alforfón para tener referencia base, la cual se utilizó para comparar con los resultados obtenidos de la línea base de las nuevas semillas producto de la adición contaminante *exprofeso* en los suelos. De esta forma se realizó también una comparación con la harina comercial de trigo sarraceno

Una porción de las semillas se sembró en un suelo controlado al adicionar *exprofeso* de elementos de 5 mL por cada 500 gramos de suelo de una disolución de 10 mg/L de un patrón multielemental, como refiere la bibliografía consultada, añadiendo en total aproximadamente 100 µg/L de cada elemento al suelo según Cabezas, J. *et al.* (2004).

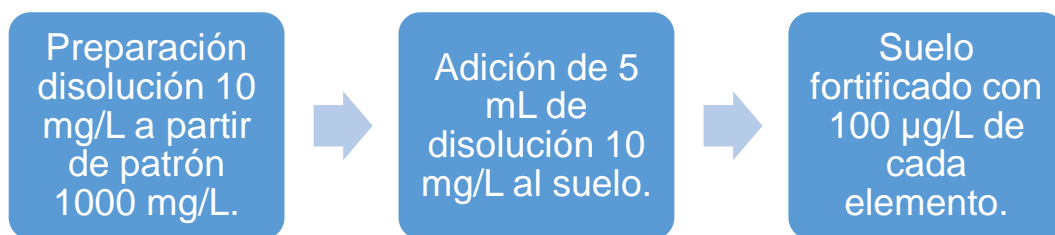


Figura 19. Diagrama de contaminación del suelo.



Figura 20. Siembra en invernadero de semillas de alforfón.

La harina de trigo sarraceno comercial disponible en el mercado analizada, corresponde a una elaborada en Estados Unidos por la empresa Bob's Red Mill, comercializada por la cadena de supermercados Jumbo.

La etapa de digestión de las muestras a analizar en sus tres matrices fue llevada a cabo en un horno de microondas marca Milestones RL ETHOS UP, equipo que también está ubicado en dependencias del Servicio y Asistencia Tecnológica de la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad de Concepción.

Este proceso de digestión tiene la gran ventaja de que al realizarse en compartimientos cerrados herméticamente se evita la pérdida de elementos de interés volátiles a altas temperaturas, o contaminación cruzada de la muestra por parte del ambiente, casos que ocurren en digestión en arena caliente o en

planchas calefactoras, por lo que es muy favorable para la exactitud de los análisis.

Estos compartimientos resistentes a alta presión son agitados constantemente en un rotor SK-15 easyTEMP, el cual permite una digestión simultánea de 15 muestras con capacidad de hasta 100 mL.

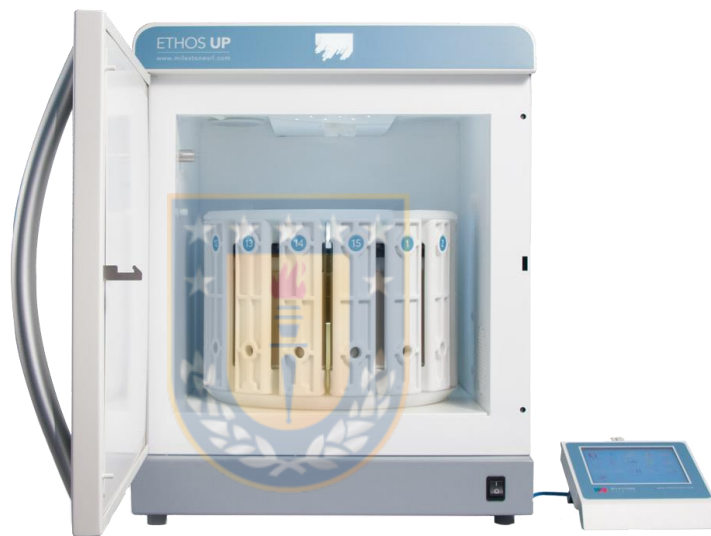


Figura 21. Horno de microondas Milestones RL ETHOS UP.

Fuente: milestonesrl.com

Por otra parte, consta de un software easyCONTROL en su terminal donde dependiendo del tipo de muestra aconseja emplear una cantidad óptima de muestra requerida para la digestión, asimismo la concentración de la matriz necesaria según el tipo de muestra ya sea orgánica (alimentos, tejidos, fármacos, petroquímica o suelos) o inorgánicos (metales o minerales).

Igualmente, este software controla las tres etapas de la digestión (calentamiento, digestión y enfriamiento) mediante la programación previa de tiempo, temperatura y presión de cada etapa dependiendo de cada método a utilizar. El software consta de varios procedimientos precargados aprobados por la US-EPA (Agencia de Protección al Medioambiente de Estados Unidos) en varios idiomas.

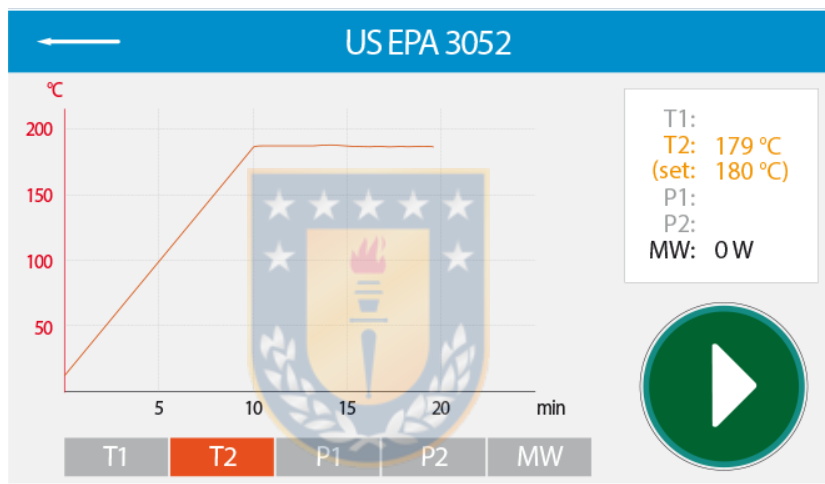


Figura 22. Software easyCONTROL de la terminal del microondas.
Fuente: milestonesrl.com

4.1 Tratamiento de la muestra de alforfón *Fagopyrum esculentum*

Las muestras de *Fagopyrum esculentum*, fueron molidas con mortero de ágata para la reducción de su tamaño y separación de su cáscara mediante tamizado de media pulgada.

Posteriormente fueron digeridas en Horno de microondas Milestones RL ETHOS UP usando 10 mL una mezcla ácido-oxidante correspondiente a ácido

nítrico y peróxido de hidrógeno en proporciones 9:1 (v/v) según métodos para cereales tipo semillas (Milestone ETHOS UP Method SK-FOOD-044 Sunflower sedes y SK-FOOD-052 Barley) métodos utilizados para muestras de semillas de maravilla y cebada respectivamente y harinas con una masa aproximadamente de 0,250 g de muestra.

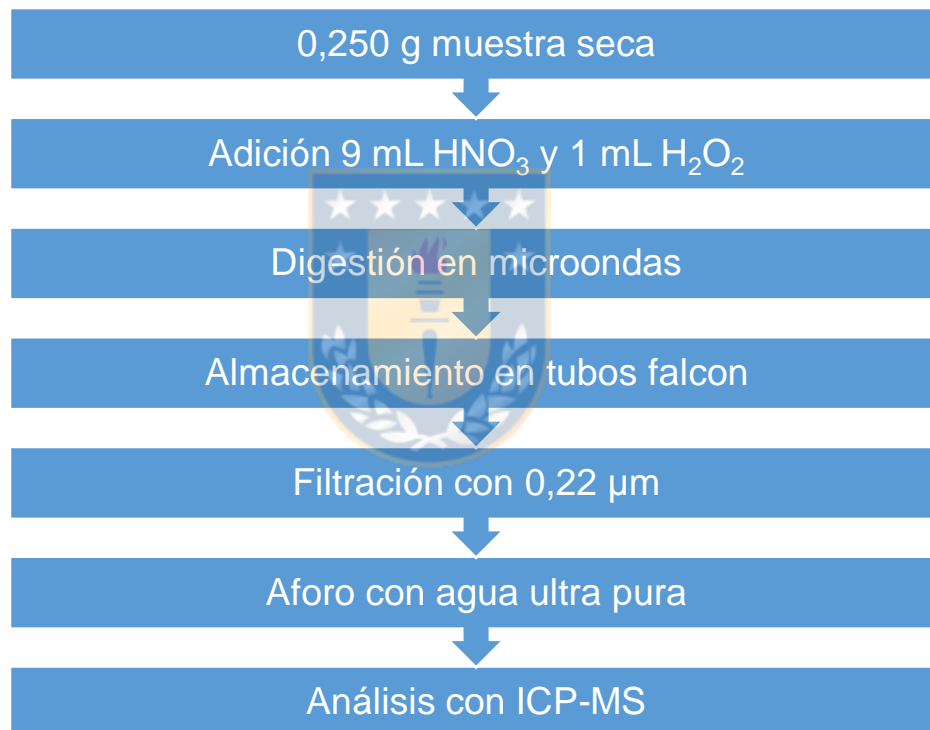


Figura 23. Diagrama de flujo del método.

Las muestras fueron calentadas por 15 minutos hasta alcanzar 140°C, luego 45 minutos de digestión y finalmente 15 minutos de enfriamiento hasta temperatura ambiente. Luego, estas fueron transferidas a tubos Falcon de 50 mL

previa eliminación de vapores de dióxido nitroso, para luego ser filtradas mediante jeringas y filtros de 0,22 μm para ser aforadas a 50 mL. Tras eso, se tomaron 5 mL para la dilución respectiva aforando nuevamente a 50 mL y se filtraron nuevamente para evitar la aparición de sólidos en suspensión al instante previo de la medición.

Este procedimiento se utilizó tanto como para las semillas de alforfón como para la harina comercial, omitiendo en este último caso la molienda mediante mortero ya que las muestras venían molidas. Estas muestras fueron sembradas la segunda semana de noviembre de 2019 y cosechadas la primera semana de abril de 2020 con trilladora, limpieza mediante aireado en frío, molienda en molino Fidibus XL Ultra y tamizado en tamices SISA, con granulometría entre 200 y 500 micrómetros.



4.2 Determinación de concentraciones de elementos de la semilla.

Cada análisis de las muestras se realizó en triplicado tanto como para la semilla inicial, las semillas cosechadas y la harina comercial, así como también los blancos de cada matriz, mientras que la curva de calibrado sólo se realizó una vez por medición por disponibilidad de reactivos.

La determinación de las concentraciones de los elementos en estudio se llevó a cabo mediante ICP-MS, donde las posibles interferencias fueron ajustadas con el cambio del isótopo a determinar, cuando esto fue posible.

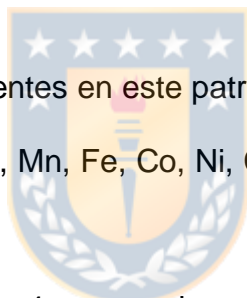
Alternativamente, el instrumento cuenta con el sistema de Discriminación

por Energía Cinética (KED) con el fin de determinar las interferencias isobáricas, y para todas las mediciones se utilizará como gas plasmógeno el argón.

4.2.1 Curva de Calibrado

La curva de calibrado inicial fue preparada desde un patrón multielemento 1000 mg/L Merck, donde las concentraciones elegidas para el primer barrido serán 1, 3, 5 y 10 mg/L con ácido nítrico al 5% v/v para muestras de semillas y harina, mientras que para muestras de suelo la concentración de ácido nítrico es de 3% v/v.

Los elementos presentes en este patrón multielemento son los siguientes Li, B, Na, Mg, Al, K, Ca, Cr, Mn, Fe, Co, Ni, Cu, Zn, Ga, Sr, Ag, Cd, In, Ba, Pb y Bi.



Luego, se realizaron 4 curvas de calibrado donde las concentraciones serán:

- a) 1, 3, 5 y 10 $\mu\text{g/L}$.
- b) 10, 25, 50 y 100 $\mu\text{g/L}$.
- c) 100, 250, 500 y 1000 $\mu\text{g/L}$.
- d) 1 a 5 mg/L. (Según elemento en F-AAS)

Las muestras de semillas y harina digeridas fueron diluidas para lograr llegar a una concentración final de 5% v/v de ácido nítrico, dicho factor de dilución

será aplicado para la cuantificación de resultados, los cuales son f=10 para muestras de semillas y harina, al igual que para muestras de suelo.

4.2.2 Cuantificación de resultados

Los resultados del espectrómetro ICP-MS son entregados en ppm (mg/L) por lo que fueron reconvertidos y reportados en mg de elemento por kg de muestra (mg/kg) utilizando la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración } \left(\frac{\text{mg}}{\text{kg}} \right) = \frac{\text{Concentración (mg/L)} * \text{Volumen muestra (L)} * 1000 \text{ g}}{\text{masa muestra (g)} * 1 \text{ kg}} * f$$

Figura 24. Fórmula de conversión de mg/L (ppm) a mg/kg de muestra.

Donde el volumen de muestra es de 0,050 L (aforo) y la masa de muestra será cercana a 0,250 g como ha sido señalado el punto anterior, además se considera el factor de dilución respectivo asociado.

Además, la fórmula también sirvió para la conversión de µg/L a µg de elemento por kg de muestra (µg/kg).

5. RESULTADOS

Se analizan seis tipos de muestras correspondientes a semillas de la cosecha 2018 (S), harina comercial (H), semilla cruda de la cosecha 2019 seca (C), semilla cruda húmeda de la cosecha 2019 (CH), semilla cruda tamizada fina (F) y semilla cruda tamizada ultrasónica powder (P), para las cuales sus concentraciones serán expresadas en $\mu\text{g/L}$ o mg/L según corresponda la curva de calibración utilizada. Las figuras de mérito analíticas que se muestran a continuación fueron calculadas mediante las fórmulas indicadas en el apartado 1.7 de la introducción.

5.1 Determinación de elementos encontrados por debajo de los Límites de Detección y Cuantificación.

En consideración a los límites de detección y cuantificación para la curva de 1 a 10 $\mu\text{g/L}$ de cada elemento mostrado en la tabla 2, no se considera a ningún elemento como bajo el límite de detección a excepción de litio y galio por concentración calculada previamente, al igual que el descarte de medición de plata, indio y cadmio ya considerados no detectables antes de la dilución realizada a las muestras analizadas en un ensayo previo a esta investigación.

También para el galio se logró observar que fue el único donde se obtuvo un valor mayor en concentración al límite de detección (muestra S), pero inferior

al límite de cuantificación, por lo que se puede discutir que es posible detectar galio en la muestra, ya que no es confiable su cuantificación en este trabajo. Este tipo de error es llamado tipo I o falso positivo. Para estos casos se utiliza el concepto de Límite crítico (LC), que corresponde a:

$$\text{Límite crítico (LC)} = \frac{\text{Límite de Detección}}{2}$$

Esto sirve para identificar que la probabilidad de que el analito esté presente en la muestra, pero no pueda detectarse ni cuantificarse, en este caso los valores obtenidos para plata, cadmio e indio están por debajo del límite crítico por las concentraciones de los blancos, por lo que se asume que no están presentes en la muestra.

Se logra cuantificar en bajas concentraciones cobalto y galio, mientras que las demás están por debajo de los límites de detección y cuantificación.

Tabla 2. Calibración y límites de detección para litio, cobalto, galio, plata, cadmio e indio en solución ($\mu\text{g/L}$).

Elemento	Ecuación de la recta	Coefficiente de Determinación (R^2)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
^7Li	$Y = 4915X + 1219$	0,99893	0,02	0,08
^{59}Co	$Y = 85887X + 10238$	0,99939	0,01	0,04
^{69}Ga	$Y = 97932X + 17765$	0,99692	0,02	0,06
^{107}Ag	$Y = 441480X + 1423451$	0,99472	0,001	0,003
^{114}Cd	$Y = 67780X - 36654$	0,98498	0,02	0,05

^{115}In	$Y = 411421X - 258855$	0,97892	0,004	0,014
-------------------	------------------------	---------	-------	-------

Tabla 3. Concentraciones de litio, cobalto, galio, plata, cadmio e indio en ppb ($\mu\text{g/L}$).

Elemento	Concentración ($\mu\text{g/L}$)					
	S	H	CH	C	F	P
^7Li	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
^{59}Co	$0,26 \pm 0,02$	$0,04 \pm 0,18$	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
^{69}Ga	$0,46 \pm 0,01$	<LOD	<LOD	$0,70 \pm 0,02$	$1,1 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,1$
^{107}Ag	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
^{114}Cd	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD
^{115}In	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD	<LOD

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

5.2 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 10 $\mu\text{g/L}$.

Dentro de los elementos detectables que se encontraron dentro de la curva de calibrado más baja utilizada en este estudio, se lograron detectar y cuantificar elementos como cromo, níquel, cobalto y bismuto.

Para el níquel, a pesar de que el isótopo que se debería escoger según el apartado 7 (Discusiones) es el ^{58}Ni por sobre el ^{60}Ni según su abundancia, en este estudio se logró cuantificar de mejor manera el isótopo ^{60}Ni que el ^{58}Ni , por razones asociadas a tener un límite de detección y un límite de cuantificación

menor en comparación al isótopo mencionado, por lo que se eligió el isótopo ^{60}Ni para discusiones y conclusiones del trabajo realizado.

Por otro lado, se seleccionó este isótopo ya que al estar dentro de los parámetros de la curva de calibrado utilizada, se evita una dilución de la disolución, y además sortear los errores asociados que conlleva la misma.

Para la medición del cobalto y cromo, se logra detectar y cuantificar en algunas muestras, pero en bajas concentraciones mientras que, para otras muestras, éstas se encuentran bajo los límites de detección y cuantificación. Para el plomo y bismuto, se logra cuantificar de adecuadamente las concentraciones en la muestra.

Tabla 4. Calibración y límites de detección para cromo, níquel, plomo y bismuto en solución ($\mu\text{g/L}$).

Elemento	Ecuación de la recta	Coefficiente de Determinación (R^2)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
^{52}Cr	$Y = 82012X + 25131$	0,99834	0,03	0,09
^{60}Ni	$Y = 43234X + 30795$	0,99578	0,09	0,30
^{208}Pb	$Y = 48868X + 65778$	0,99514	0,36	1,09
^{209}Bi	$Y = 1182807X - 327990$	0,99119	0,003	0,010

Tabla 5. Concentraciones de cromo, níquel, plomo y bismuto en $\mu\text{g/L}$.

Elemento	Concentración ($\mu\text{g/L}$)					
	S	H	CH	C	F	P
^{52}Cr	$3,2 \pm 1,8$	$4,4 \pm 0,3$	$1,0 \pm 0,7$	<LOD	$1,0 \pm 0,8$	<LOD
^{60}Ni	$9,7 \pm 3,0$	$5,4 \pm 1,9$	$6,8 \pm 1,0$	$8,5 \pm 0,6$	$8,8 \pm 0,3$	$7,4 \pm 0,8$
^{208}Pb	$2,7 \pm 0,3$	$0,74 \pm 0,8$	$1,8 \pm 0,3$	$3,9 \pm 0,04$	$1,5 \pm 0,3$	$2,3 \pm 0,3$
^{209}Bi	$9,2 \pm 0,9$	$6,3 \pm 0,5$	$8,4 \pm 0,1$	$8,6 \pm 0,1$	$7,2 \pm 0,4$	$7,1 \pm 0,1$

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

5.3 Determinación de elementos encontrados entre 10 y 100 $\mu\text{g/L}$.

Dentro de los elementos encontrados entre 10 y 100 $\mu\text{g/L}$, se determinaron y cuantificaron boro, manganeso, cobre, estroncio y bario sin ningún problema ya que, en muestras reales correspondientes a cereales y pseudocereales, estos elementos son más abundantes que los analizados anteriormente.

Tabla 6. Calibración y límites de detección para boro, manganeso, cobre, estroncio y bario en solución ($\mu\text{g/L}$).

Elemento	Ecuación de la recta	Coefficiente de Determinación (R^2)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
^{11}B	$Y= 15063X + 68374$	0,99462	0,08	0,25
^{55}Mn	$Y= 475097X + 2531237$	0,99043	0,007	0,023
^{65}Cu	$Y= 93730X + 674190$	0,99090	0,24	0,81
^{88}Sr	$Y= 124482X + 40161$	0,99565	0,12	0,41
^{138}Ba	$Y= 141722X - 62629$	0,99497	0,06	0,20

Tabla 7. Concentraciones de boro, manganeso, cobre, estroncio y bario en ppb ($\mu\text{g/L}$).

Elemento	Concentración ($\mu\text{g/L}$)					
	S	H	CH	C	F	P
^{11}B	82 ± 2	76 ± 3	52 ± 2	69 ± 3	$32 \pm 0,4$	$49 \pm 0,4$
^{55}Mn	81 ± 18	62 ± 3	93 ± 3	129 ± 7	63 ± 6	$62 \pm 0,4$
^{65}Cu	72 ± 3	59 ± 4	80 ± 5	74 ± 4	$71 \pm 2,4$	$62 \pm 0,3$
^{88}Sr	33 ± 3	17 ± 2	19 ± 3	$41,51^*$	13 ± 7	19 ± 2
^{138}Ba	29 ± 4	20 ± 3	2 ± 4	20 ± 17	25 ± 5	13 ± 1

*La concentración de Sr de la muestra C no tiene desviación estándar ya que uno de los valores obtenidos del duplicado estaba por debajo del límite de cuantificación y detección.

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

5.4 Determinación de elementos encontrados entre 100 y 1000 $\mu\text{g/L}$.

Para esta curva se cuantificaron los dos metales más abundantes en este tipo de muestras, como lo son el hierro y el zinc, con algunos problemas para la determinación de zinc en 3 muestras.

Tabla 8. Calibración y límites de detección para hierro y zinc en ppb ($\mu\text{g/L}$).

Elemento	Ecuación de la recta	Coefficiente de Determinación (R^2)	LOD ($\mu\text{g/L}$)	LOQ ($\mu\text{g/L}$)
^{54}Fe	$Y = 2041X + 27874$	0,9996	0,79	2,62
^{64}Zn	$Y = 14835X + 891720$	0,9949	2,06	6,85

Tabla 9. Concentraciones de hierro y zinc en ppb ($\mu\text{g/L}$).

Elemento	Concentración ($\mu\text{g/L}$)					
	S	H	CH	C	F	P
^{54}Fe	239 \pm 33	159 \pm 3	128 \pm 5	427 \pm 28	124 \pm 4	156 \pm 5
^{64}Zn	133 \pm 15	16 \pm 15	144 \pm 21	<LOD	<LOD	<LOD

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

5.5 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 25 mg/L.

La técnica de ICP-MS, no suele ser usada para cuantificar elementos con concentración por encima de 1 mg/L; en consecuencia, es necesario buscar una técnica alternativa para poder cuantificar estos elementos. Para este estudio se selecciona la técnica de absorción atómica de llama (F-AAS) para poder medir elementos como sodio, magnesio, potasio y calcio. Estos elementos son abundantes en muestras de materia orgánica o en suelos donde se suelen plantar cereales y pseudocereales, además de estar presentes también en aguas de regadío, obteniéndose los siguientes resultados.

Tabla 10. Calibración para sodio, magnesio, potasio y calcio.

Elemento	Ecuación de la recta	Coefficiente de Determinación (R ²)
Na	$Y = 0,2174X + 0,0089$	0,9994
Mg	$Y = 0,2369X + 0,0083$	0,9942
K	$Y = 0,1212X + 0,0051$	0,9995
Ca	$Y = 0,1687 X + 0,0213$	0,9955

Tabla 11. Concentraciones de sodio, magnesio, potasio y calcio en ppm (mg/L).

Elemento	Concentración (mg/L)					
	S	H	CH	C	F	P
Na	9,6 ± 0,2	12,0 ± 0,3	5,4 ± 1,5	6,8 ± 1,3	4,9 ± 1,2	9,2 ± 0,2
Mg	13,2 ± 1,9	16,8 ± 1,1	17,4 ± 0,5	14,7 ± 1,9	3,2 ± 0,5	7,9 ± 1,5
K	30,8 ± 2,5	21,4 ± 1,8	27,7 ± 0,9	38,2 ± 1,9	19,2 ± 1,1	16,3 ± 5,3
Ca	13,7 ± 0,2	4,9 ± 1,5	10,5 ± 0,9	12,3 ± 2,1	6,8 ± 0,6	14,7 ± 0,2

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

6. DISCUSIONES

El diseño del método a utilizar consideró una cosecha de trigo sarraceno del año 2018 para establecerla como línea base, la cual, tras el tratamiento mecánico y químico, fueron cuantificadas en el espectrómetro de masas por plasma acoplado inductivamente, esta muestra corresponde a la identificada como S.

Para las mediciones en primer lugar se realizó la selección de los isótopos de los elementos a analizar con la finalidad de eliminar interferencias que puedan alterar la confiabilidad de los datos que se obtuviesen, en un principio se descartarán automáticamente aquellos elementos que tengan como interferentes aductos que se formen con el isótopo $^{40}\text{Ar}^+$, que se forma por ser el gas plasmógeno.

También se apartarán los aductos que se formen con los elementos de la matriz, en este caso, al ser ácido nítrico (HNO_3), se tratarán de seleccionar los isótopos que no tengan aductos con $^1\text{H}^+$, $^{14}\text{N}^+$ y $^{16}\text{O}^+$ en caso de que fuese posible. Otro criterio de selección es la abundancia relativa, por lo que en el caso de que el isótopo más abundante tenga muchas interferencias, se elegirá al siguiente en abundancia hasta encontrar uno que evita tener interferentes.

De los denominados en este estudio como analitos “esenciales”, hay 3 elementos que tienen un 100% de abundancia de un único isótopo, los cuales son el ^{23}Na , ^{55}Mn y ^{59}Co y de los “tóxicos” sólo se encuentra al ^{209}Bi .

De los elementos restantes, se pueden ver en las tablas 12 y 13 el isótopo escogido, la abundancia del mismo y la razón por la cual se elige como, por ejemplo, la existencia de interferentes altamente probables de encontrar en la disolución.

Tabla 12. Tabla de isótopos escogidos, abundancia y posibles interferentes de los elementos considerados esenciales.

Isótopo escogido	Abundancia relativa	Posibles interferencias
^{23}Na	100 %	No tiene
^{24}Mg	79 % (^{25}Mg 10% y ^{26}Mg 11 %)	^{24}Mg ($^{12}\text{C}_2^+$) ^{25}Mg ($^{12}\text{C}_2\text{-}^1\text{H}^+$) ^{26}Mg ($^{12}\text{C}\text{-}^{14}\text{N}^+$, $^{12}\text{C}_2\text{-}^1\text{H}_2^+$)
^{39}K	93% (^{41}K 7%)	^{41}K ($^{40}\text{Ar}\text{-}^1\text{H}^+$)
^{44}Ca	2% (^{40}Ca 97%)	^{40}Ca (^{40}Ar)
^{52}Cr	84% (^{53}Cr 10%)	^{52}Cr ($^{40}\text{Ar}\text{-}^{12}\text{N}^+$)
^{55}Mn	100 %	$^{40}\text{Ar}\text{-}^{14}\text{N}\text{-}^1\text{H}^+$, $^{23}\text{Na}\text{-}^{32}\text{S}^+$
^{57}Fe	2% (^{54}Fe 6% y ^{56}Fe 92%)	^{54}Fe ($^{40}\text{Ar}\text{-}^{14}\text{N}^+$) y ^{56}Fe ($^{40}\text{Ar}\text{-}^{16}\text{O}^+$ y $^{40}\text{Ca}\text{-}^{16}\text{O}^+$)
^{58}Ni	68% (^{60}Ni 26%)	^{60}Ni ($^{23}\text{Na}\text{-}^{37}\text{Cl}^+$)
^{59}Co	100 %	$^{24}\text{Mg}\text{-}^{35}\text{Cl}^+$
^{65}Cu	31% (^{63}Cu 69%)	^{63}Cu ($^{40}\text{Ar}\text{-}^{23}\text{Na}^+$, $^{40}\text{Ca}\text{-}^{23}\text{Na}^+$)
^{64}Zn	49% (^{66}Zn 28% y ^{68}Zn 19%)	^{64}Zn ($^{32}\text{S}\text{-}^{16}\text{O}_2^+$)

Tabla 13. Tabla de isótopos escogidos, abundancia y posibles interferentes de elementos considerados tóxicos.

Isótopo escogido	Abundancia relativa	Posibles interferencias
${}^7\text{Li}$	93% (${}^6\text{Li}$ 6%)	
${}^{11}\text{B}$	80% (${}^{10}\text{B}$ 20%)	
${}^{69}\text{Ga}$	60% (${}^{71}\text{Ga}$ 40%)	Interferentes de Cl-O-O y S-O-O
${}^{107}\text{Ag}$	52% (${}^{109}\text{Ag}$ 48%)	Interferentes Zr-O
${}^{114}\text{Cd}$	29% (${}^{112}\text{Cd}$ 24%)	${}^{112}\text{Cd}$ (${}^{40}\text{Ar}_2$ - ${}^{16}\text{O}_2^+$ y ${}^{40}\text{Ca}_2$ - ${}^{16}\text{O}_2^+$)
${}^{115}\text{In}$	96% (${}^{113}\text{In}$ 4%)	
${}^{138}\text{Ba}$	71% (${}^{137}\text{Ba}$ 11%, ${}^{136}\text{Ba}$ 8%, ${}^{135}\text{Ba}$ 7% y ${}^{134}\text{Ba}$ 23%)	Interferentes de Ru-O
${}^{208}\text{Pb}$	52% (${}^{206}\text{Pb}$ 24% y ${}^{207}\text{Pb}$ 22%)	Interferentes de Pt-O e Ir-O
${}^{209}\text{Bi}$	100 %	Interferentes de Ir-O

Por otra parte, algunos elementos pueden ser escogidos para aplicar un método llamado KED (Kinetic Energy Discrimination), lo cual permite una diferenciación del isótopo de interés con el aducto, por la energía cinética que

estos adquieren dentro del detector de cuadrupolo descritos en la introducción de esta tesis.

Para este estudio, los elementos de la tabla periódica permitidos para realizar un análisis por KED son los siguientes isótopos: ^{24}Mg , ^{27}Al , ^{39}K , ^{52}Cr , ^{55}Mn , ^{59}Co y ^{107}Ag . Las intensidades de las señales son mayores para las medidas en el método estándar que las medidas con el método KED lo que dará una mayor precisión de las mediciones realizadas y una confiabilidad a los datos obtenidos.

En un comienzo y estudio preliminar, se planificó un método donde se realizaba una correlación estrecha entre diferentes cosechas de una misma familia de semillas en condiciones de crecimiento natural, la que no fue posible debido a diversos factores relacionados con la contingencia pandémica, sembrándose en condiciones de invernadero otra familia de semillas sin relación alguna a las semillas de la cosecha 2018 sembrada en Concepción y, además, se desestima el análisis multielemental del suelo por razones de tiempo y disponibilidad de recursos. De la misma forma se intentó realizar una analogía y análisis entre las semillas de las cosechas 2018 y 2020, en conjunto con harina comercial de alforfón.

Las condiciones de la siembra en invernadero fueron las siguientes:

Tabla 14. Condiciones de invernadero.

Condiciones de invernadero	
Radiación	12 horas
Temperatura	20°C
Humedad	70%

6.1 Determinación de elementos encontrados por debajo de los Límites de Detección y Cuantificación.

Los elementos por debajo de los límites de detección calculados como el litio, cobalto, galio, plata, cadmio e indio, al estar también bajo el límite de cuantificación su concentración no es posible de determinar, por lo que calcular el mínimo del consumo diario permitido (mg/día o mg/100g) no es posible como tampoco su cálculo de mg de elemento por kilogramo de muestra. Además, por ejemplo, para la consideración de la concentración de litio en suelos del sur de Chile es muy baja como para que pueda ser absorbido por la planta de trigo sarraceno o por cualquier planta por las condiciones húmedas del clima y su biodisponibilidad en el mismo suelo, mientras que para los otros metales mencionados las concentraciones naturales son ínfimas a nivel de partes por trillón (ng/kg) siendo considerados elementos ultra trazas.

6.2 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 10 µg/L.

Para los elementos como cromo, níquel, plomo y bismuto, elementos considerados trazas en muestras de alimento por su baja concentración, se logra obtener una concentración equivalente en mg/kg de muestra, con excepción de cromo en algunas muestras.

La tabla 15 corresponde a la conversión de la tabla 4 utilizando la fórmula de conversión de unidades que describe la Figura 22, para poder expresar la concentración en µg/L a µg/kg de muestra.

Tabla 15. Concentración de cromo, níquel, plomo y bismuto por kilogramo de muestra.

Elemento	Concentración (µg/kg)					
	S	H	CH	C	F	P
⁵² Cr	642 ± 356	868 ± 64	204 ± 131	<LOD	205 ± 151	<LOD
⁶⁰ Ni	1929 ± 600	1079 ± 370	1349 ± 197	1703 ± 112	1755 ± 64	1478 ± 158
²⁰⁸ Pb	545 ± 59	147 ± 164	333 ± 61	779 ± 7	290 ± 65	450 ± 56
²⁰⁹ Bi	18230 ± 184	1248 ± 100	1666 ± 29	1693 ± 28	1438 ± 78	1417 ± 19

Tabla 16. Límite de consumo diario de cromo, níquel, plomo y bismuto en µg/día.

Elemento	Concentración (µg/100g)						Límite diario de consumo (µg/día)
	S	H	CH	C	F	P	
⁵² Cr	64 ± 36	87 ± 6	20 ± 13	<LOD	21 ± 15	<LOD	200-300
⁶⁰ Ni	193 ± 60	108 ± 37	135 ± 20	170 ± 11	176 ± 6,4	148 ± 16	1800-2000
²⁰⁸ Pb	55 ± 6	15 ± 16	33 ± 6	78 ± 1	29 ± 7	45 ± 6	100

²⁰⁹ Bi	183 ± 18	124 ± 10	167 ± 3	169 ± 3	144 ± 8	142 ± 2	500
-------------------	----------	----------	---------	---------	---------	---------	-----

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

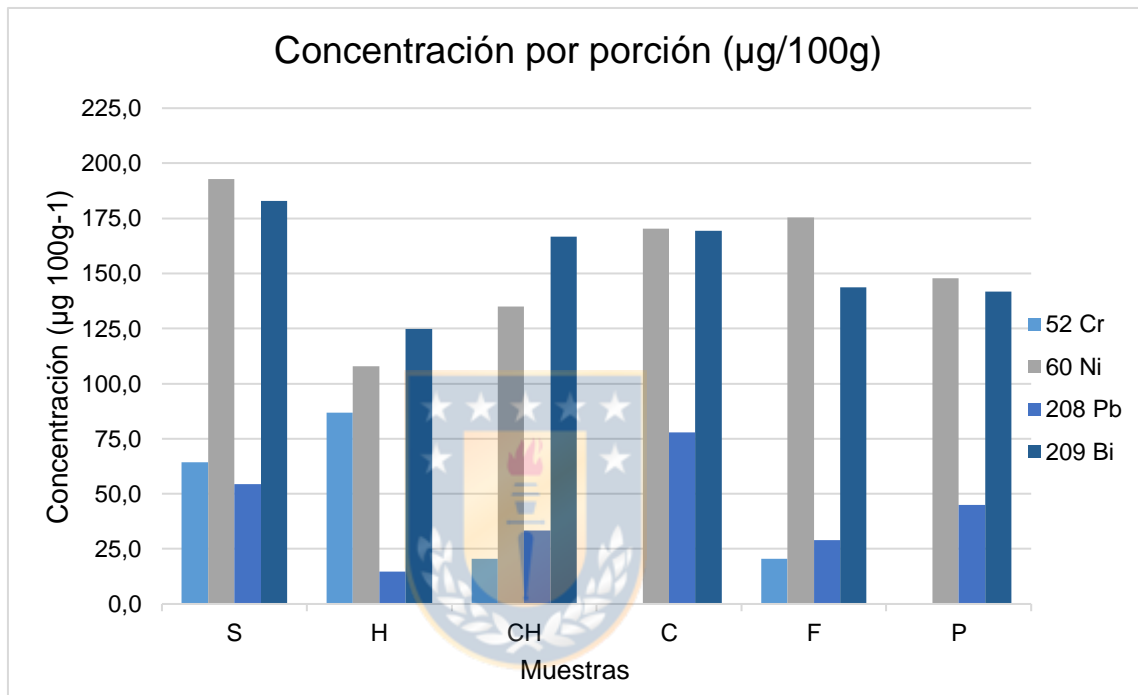


Figura 25. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo (µg/100g) para elementos encontrados entre 1 y 10 µg/L.

Como se observa en la tabla 15, los cuatro elementos, cromo, níquel, plomo y bismuto analizados y cuantificados en las muestras, sus concentraciones (expresadas en microgramos por porción (µg/100g)) están en el intervalo esperado y permitido para el límite de consumo diario, en este caso expresado en microgramos al día (µg/día).

En el caso específico de cromo, el alforfón contiene entre el 10 - 40% de los µg/día que sugiere el límite diario de ingesta, mientras que para níquel

contiene un 10% de los $\mu\text{g}/\text{día}$ permitidos. Para plomo es variable entre las matrices, pero para la harina comercial es alrededor de un 15% de los $\mu\text{g}/\text{día}$ sugerido. Finalmente, para el bismuto, la cantidad encontrada es alrededor de un 15-20% de los $\mu\text{g}/\text{día}$ aceptables.

Para del cromo en esta ocasión, la no cuantificación se debe a que cuando se realiza la corrección con el blanco, éstas quedan bajo los límites de cuantificación y detección, tal como lo indica la tabla 4 donde se expresa su concentración en $\mu\text{g}/\text{L}$.

6.3 Determinación de elementos encontrados entre 10 y 100 $\mu\text{g}/\text{L}$.

Al igual que para el apartado 6.2, las concentraciones obtenidas en partes por billón en la Tabla 6, se convirtieron a microgramos por kilogramo de muestra y luego a miligramos por kilogramo de muestra, obteniéndose lo descrito en la Tabla 16, así como para la Tabla 17 se expresa la concentración en microgramos por porción diaria para la posterior comparación con la ingesta diaria ($\text{mg}/\text{día}$ o mg/kg de peso).

Tabla 17. Concentración de boro, manganeso, cobre, estroncio y bario por kilogramo de muestra.

Elemento	Concentración (mg/kg)					
	S	H	CH	C	F	P
¹¹ B	16 ± 0,3	15 ± 0,5	10 ± 0,4	14 ± 0,6	6,3 ± 0,1	9,7 ± 0,1
⁵⁵ Mn	16 ± 3,5	12 ± 0,5	19 ± 0,5	26 ± 1,4	13 ± 1,2	12 ± 0,1
⁶⁵ Cu	14 ± 0,6	12 ± 0,9	16 ± 0,9	15 ± 0,7	14 ± 0,5	12 ± 0,1

⁸⁸ Sr	6,5 ± 0,6	3,3 ± 0,4	3,8 ± 0,5	8,3 *	2,5 ± 1,5	3,7 ± 0,4
¹³⁸ Ba	5,9 ± 0,7	3,9 ± 0,7	4,2 ± 0,9	3,9 ± 3,4	5,0 ± 1,1	2,6 ± 0,3

Tabla 18. Límite de consumo diario de boro, manganeso, cobre, estroncio y bario en mg/día.

Elemento	Concentración (mg/100g) porción diaria						Limite diario de consumo (mg/día)
	S	H	CH	C	F	P	
¹¹ B	1,64 ± 0,03	1,52 ± 0,05	1,02 ± 0,04	1,39 ± 0,06	0,63 ± 0,01	0,97 ± 0,01	15000-20000
⁵⁵ Mn	1,6 ± 0,4	1,2 ± 0,1	1,9 ± 0,1	2,6 ± 0,1	1,3 ± 0,1	1,24 ± 0,01	20-25
⁶⁵ Cu	1,4 ± 0,1	1,2 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,4 ± 0,1	1,23 ± 0,01	10
⁸⁸ Sr	0,65 ± 0,10	0,33 ± 0,04	0,38 ± 0,10	0,83 *	0,25 ± 0,20	0,37 ± 0,04	1800 mg/kg de peso
¹³⁸ Ba	0,59 ± 0,10	0,39 ± 0,10	0,42 ± 0,10	0,39 ± 0,30	0,450 ± 0,10	0,26 ± 0,03	800

*La concentración de Sr de la muestra C no tiene desviación estándar ya que uno de los valores obtenidos del duplicado estaba por debajo del límite de cuantificación y detección.

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

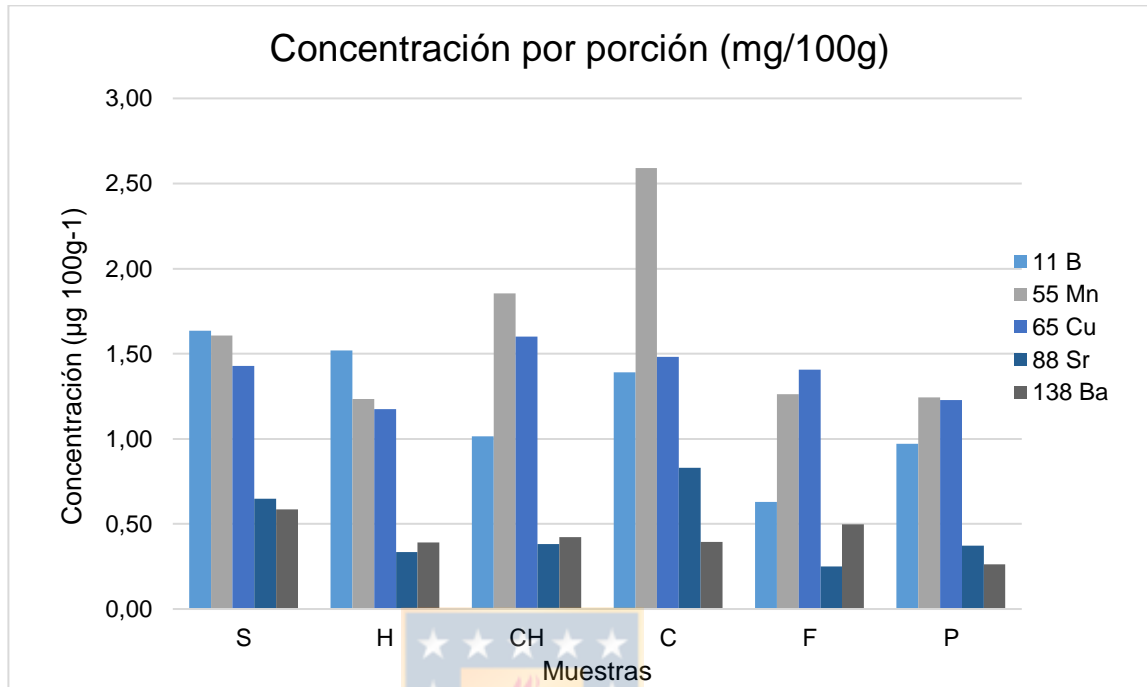


Figura 26. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo ($\mu\text{g}/100\text{g}$) para elementos encontrados entre 10 y 100 $\mu\text{g}/\text{L}$.

En este caso, las concentraciones obtenidas para estos cinco elementos se encuentran dentro de los límites de consumo diario permitidos según el Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos (NIH, 2020), teniendo una cantidad similar entre elementos, pero diferenciándose sólo en su máximo permitido de ingesta. Luego a bajas concentraciones metales de transición como el manganeso y el cobre con límites de consumo bajos, pero considerando que las muestras contienen cerca de un 10% de los mg/día permitido para el manganeso y un 20% de los mg/día de consumo de cobre, se considera una cantidad adecuada para estos elementos esenciales

6.4 Determinación de elementos encontrados entre 100 y 1000 µg/L.

En este rango sólo se encuentran dos elementos, que son muy importantes para el funcionamiento óptimo del organismo humano, como el hierro y el zinc, de los cuales para cereales es esperable un rango de 4-5 mg/100g y 1-2 mg/100g respectivamente, se obtuvo por conversión de la Tabla 8 lo siguiente.

Tabla 19. Concentración de hierro y zinc por kilogramo de muestra.

Elemento	Concentración (mg/kg)					
	S	H	CH	C	F	P
⁵⁴ Fe	47 ± 7	32 ± 0,5	25 ± 1	85 ± 7	25 ± 0,8	31 ± 0,9
⁶⁴ Zn	26 ± 3	34 ± 3	28 ± 4	ND	ND	ND

Tabla 20. Límite de consumo diario de hierro y zinc por mg/día.

Elemento	Concentración (mg/100g)						Límite diario de consumo (mg/día)
	S	H	CH	C	F	P	
⁵⁴ Fe	4,7 ± 0,7	3,2 ± 0,1	2,5 ± 0,1	8,5 ± 0,6	2,5 ± 0,1	3,1 ± 0,1	15
⁶⁴ Zn	2,6 ± 0,3	3,4 ± 0,3	2,9 ± 0,4	ND	ND	ND	50

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

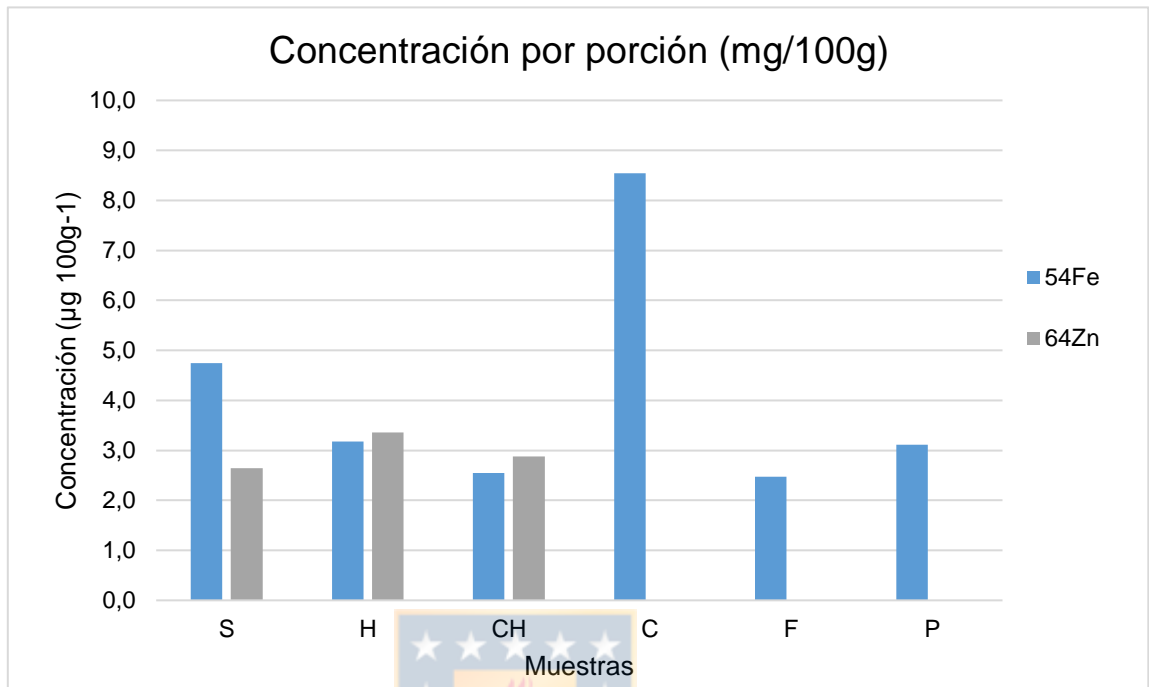


Figura 27. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo (mg/100g) para elementos encontrados entre 100 y 1000 µg/L.

Para el hierro se encuentra en una abundancia del 25-50% de los mg/día de la ingesta diaria permitida lo que es bastante positivo para este alimento y considerando que tiene una cantidad mayor al hierro en las legumbres (cerca de 1,5 mg/100 g). Mientras que para el zinc en algunas muestras la concentración hallada es cercana a lo que se espera en cereales e incluso mayor y es alrededor de un 5% de los mg/día del límite de consumo diario.

Los casos donde no se pudo determinar la concentración de zinc en las muestras C, F, P, sería debido a contaminación a la alta cantidad de zinc presente en blancos y muestras, lo que genera un error al calcular la concentración final dentro de la semilla.

6.5 Determinación de elementos encontrados entre 1 y 25 mg/L.

Dentro de los elementos de concentraciones altas como lo son los alcalinos y alcalinotérreos que son predominantes, resalta que el agua que se utiliza para el riego, uso potable o aguas lluvias presenta elementos como lo son el sodio, magnesio, potasio y calcio, las concentraciones encontradas corresponden a lo esperado para cereales y pseudocereales, donde el cálculo para el consumo diario por cada 100 gramos (porción recomendada de ingesta) está dentro de los límites del Instituto Nacional de Salud de los Estados Unidos (NIH, 2020).

Tabla 21. Concentración de sodio, magnesio, potasio y calcio por kilogramo de muestra.

Elemento	Concentración (g/kg)					
	S	H	CH	C	F	P
Na	1,91 ± 0,04	2,4 ± 0,1	1,1 ± 0,3	1,4 ± 0,3	0,98 ± 0,20	1,83 ± 0,04
Mg	2,6 ± 0,4	3,3 ± 0,2	3,5 ± 0,1	2,9 ± 0,4	0,6 ± 0,1	1,6 ± 0,3
K	6,1 ± 0,5	4,3 ± 0,4	5,5 ± 0,2	7,6 ± 0,4	3,8 ± 0,2	3,2 ± 1,1
Ca	2,72 ± 0,04	0,98 ± 0,30	2,1 ± 0,2	2,5 ± 0,4	1,4 ± 0,1	2,93 ± 0,04

Tabla 22. Límite de consumo diario de sodio, magnesio, potasio y calcio en mg/día.

Elemento	Concentración (mg/100 g) porción diaria						Limite diario de consumo (mg/día)
	S	H	CH	C	F	P	
Na	191 ± 4	239 ± 6	108 ± 30	136 ± 26	98 ± 24	183 ± 4	2300
Mg	262 ± 38	33 ± 22	347 ± 10	294 ± 38	64 ± 10	157 ± 30	420

K	612 ± 50	426 ± 36	553 ± 18	765 ± 38	382 ± 22	325 ± 105	3000
Ca	272 ± 4	98 ± 30	210 ± 18	246 ± 48	135 ± 12	293 ± 4	1000

S: Semilla cosecha 2018. H: Harina comercial. CH: Cosecha 2020 húmeda. C: Cosecha 2020 seca. F: Semilla tamizado fino. P: Semilla tamizado ultrasonido.

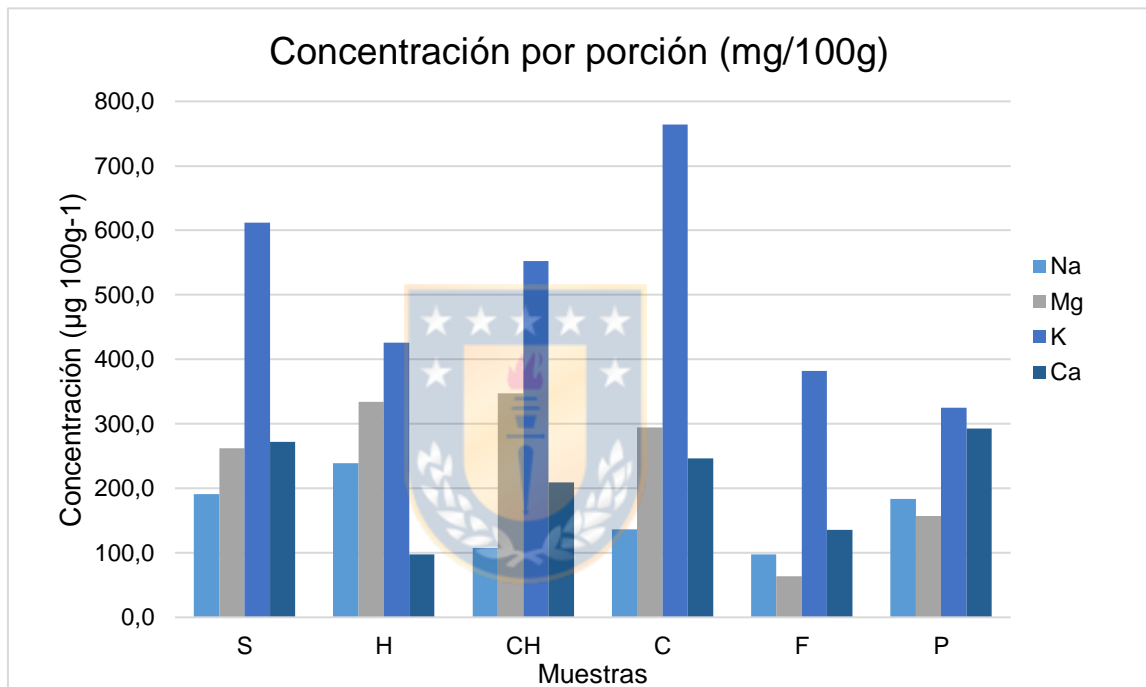


Figura 28. Gráfico de comparación de concentraciones de los elementos por porción de consumo (mg/100g) para elementos encontrados entre 1 y 25 mg/L.

Para el caso del sodio, por debajo del 10% mg/día recomendado como ingesta diaria, mientras que para el magnesio se encuentra una alta concentración, cerca del doble de lo normal para cereales (alrededor de 140 mg/100 g) pero aun así dentro de los límites de la ingesta diaria.

En el caso del potasio los valores varían entre el 10-20% de los mg/día en comparación a sus límites letales y para el caso del calcio, entre el 10-20% de los mg/día de lo permitido.

Dentro de un análisis general en una correlación entre los 3 tipos de muestra que son independientes entre sí, se observa una diferencia bastante significativa entre la harina comercial proveniente de Estados Unidos con respecto a las otras 2 muestras en sus distintos tratamientos que se obtuvieron de distintas ubicaciones en Chile. Aquí se podría interpretar que las variaciones de las concentraciones se deberían a la manipulación durante el tratamiento físico de la misma y las observaciones que apuntan a una contaminación en la línea de proceso como es lo normal y común en la producción de harinas de cereales ya que este tipo de empresas no se enfocan solamente a un tipo de producto, grano o cereal en particular.

Entre las diferencias entre muestras recolectadas en suelo nacional, la variación también puede venir dada por la ubicación geográfica del suelo ya que influyen factores como la temperatura, humedad o presión atmosférica en el desarrollo normal de cualquier planta o vegetal, retardando o acelerando su crecimiento, así como también otros factores asociados específicamente al tipo de suelo donde la movilidad de los nutrientes que son absorbidos por las raíces de la planta se verán afectados por el pH del suelo, donde la acidez o basicidad del mismo podrían interactuar con algunos metales en el suelo y no permitiéndose su adecuada absorción.

De acuerdo con esto, las características del suelo utilizado para sembrar las semillas son las señaladas en la siguiente tabla.

Tabla 23. Características del suelo utilizado para la siembra de semillas.

n	23
pH	6,32 ± 0,12
POR (mV) vs ENH	442 ± 33

La determinación del pH del suelo fue mediante método de disolución en agua Mill-Q con una proporción de 2:5 en masa, posterior agitación y reposo para medir con pH de electrodo de vidrio en el sobrenadante. Así mismo para la medición del potencial de óxido reducción, se mide con sonda de platino/calomel combinada al sobrenadante.

De esta información se obtiene que el suelo es levemente ácido y de características neutras ya que no es óxico y tampoco anóxico, de tipo trumao, es decir, un suelo derivado de cenizas volcánicas encontrados en la zona del sur de Chile de altos contenidos de materia orgánica y aluminio, este tipo de suelo tiene una alta porosidad lo que permite acumular grandes cantidades de agua pero esta se pierde por una la alta velocidad de infiltración debido al drenaje, provocando una alta pérdida de nutrientes y este caso la mayor parte de la adición expreso de los elementos de interés como describen Gacitúa, E y Martínez-Lagos, J. (2020 y Gerding, V. (2010).

Como anteriormente se mencionó, la fecha de la siembra de las semillas fue la segunda semana de noviembre de 2019, tras la germinación pasaron 3

semanas donde ocurrió la adición exprofeso y luego, se cosechó la primera semana de abril de 2020.

Otro posible factor que podría incidir en la variación en las concentraciones sería que la planta no necesariamente necesita absorber una gran cantidad de metales y otros elementos para su crecimiento natural estableciéndose un límite de absorción y su nutrición, lo que evitaría la acumulación de los metales y haría que la concentración multielemental de interés encontrada en la semilla se distribuya dentro de la estructura vegetal disminuyendo su concentración en las semillas.

Durante la absorción de los nutrientes por parte de la planta, podría haber ocurrido la formación de compuestos metálicos (hidróxidos o carbonatos) los cuales tienden a tener una movilidad menor en la planta quedando así una mayor concentración de estos elementos esenciales o tóxicos en las raíces y no llegando a semillas o flores, así como también, podría haber ocurrido una pérdida por oclusión de algunos elementos, los cuales quedarían atrapados dentro de la estructura cristalina de los hidróxidos o carbonatos, no dejando que sean absorbidos por parte de la planta, esto dependiendo del tipo de pH del suelo.

Por lo que, considerando las hipótesis y metodologías planteadas y los resultados obtenidos, se discute que independiente de que no sean muestras de semillas relacionadas entre sí, no se observó un aumento considerable de la concentración de los elementos tóxicos en las semillas con respecto a lo esperado de un aumento cercano a 100 $\mu\text{g/L}$ por cada elemento, quedando todos

dentro de la misma curva respecto a la muestra S (usada de referencia) por lo que la hipótesis 2 se considera validada de que la planta no logró absorber o absorbió una cantidad mínima de elementos que no afectan el desarrollo de la planta ni se considera tóxico su consumo según el límite diario de ingesta recomendado.

Para la hipótesis 1, no se ve este aumento de 100 µg/L en los elementos de concentraciones bajas, pero sí para el hierro encontrado en la muestra C, pero considerando lo ocurrido con el zinc en las muestras C que se obtuvieron valores bajo los límites de detección y cuantificación respectivos, es probable que fuese un error en la medición, como se observó después al momento de realizar la recuperación de los mismos elementos para la determinación de exactitud, por lo que se podría validar esta hipótesis sabiendo que las concentraciones de los elementos esenciales no dependen de la concentración presente en el suelo utilizado ni fueron afectados por la adición *exprofeso* del patrón multielemento.

Para esto, fue muy importante la obtención y cálculo de las figuras de mérito para este método, como se indican en las Tablas 3, 5, 7, 9 y 11, como muestras sus coeficientes de correlación y determinación (R^2), los valores obtenidos mayores a 0.9990 indican una linealidad que permite confiar en la precisión de los datos analizados, también para cada elemento en cada curva de calibrado se obtuvieron los límites de detección y cuantificación respectivos mediante la desviación estándar de los blancos respectivos.

Para la exactitud, se había planteado realizar el método de recuperación ya que no se encontró un material de referencia certificado disponible para alforfón o harina de alforfón en el mercado. Este método debía entregar en porcentaje de recuperación la capacidad de la muestra de retener los analitos seleccionados en este caso, hierro, zinc y cobre. Las dificultades experimentales asociadas a la calidad del agua utilizada para la determinación de los blancos no permitieron la adecuada determinación las concentraciones de los elementos elegidos tras la adición del patrón, las cuales fueron de 100 mg/kg de muestra para el cobre, 120 mg/kg para el zinc y 40 mg/kg para el hierro respectivamente arrojando todos valores por debajo del obtenido en los blancos. También debido a la condición del ácido nítrico utilizado (PA en vez de suprapur) las concentraciones de algunos elementos podrían haber aumentado en el momento de la digestión, no así con la calidad del peróxido de hidrógeno que sí correspondió a la calidad suprapur, por lo cual queda pendiente para un posterior trabajo relacionado a este tipo de muestras.

Para la reproducibilidad y repetibilidad del método para una demostrar que un método es confiable, en este caso dependerá de la disponibilidad de los recursos disponibles para las mediciones, ya que para este trabajo limitó la cantidad de gas plasmógeno que se utiliza por cada análisis, esto no permitiría realizar más de 2 veces por día las mediciones ya que consume cerca de 2 metros cúbicos de argón por tanda de muestras ya que cuenta en la actualidad con una baja disponibilidad en el mercado para su compra y consumo, siendo

preferible su uso para métodos ya normalizados, por esto mismo no se analizaron nuevamente los elementos para las muestras donde no se obtuvieron los figuras de mérito calculadas y la curva de calibrado solo se realizó una vez por medición.

Finalmente, la capacidad del ICP-MS para obtener valores de cuantificación para concentraciones del nivel de $\mu\text{g/L}$ y ng/L , entregan una muy buena sensibilidad para determinar simultáneamente varios isotopos de elementos o diversos isótopos de un mismo elemento para un análisis de especiación, como se describe en la introducción del método.

En consecuencia, en el proceso de digestión previa de la muestra, es necesario ya sea por microondas y en algunos casos la carbonización de la muestra antes de la digestión, con tal de minimizar al máximo la cantidad de sólidos en suspensión y materia orgánica, ya que podrían afectar las mediciones al obstruir el capilar del equipo.

7. CONCLUSIONES

De acuerdo a los datos obtenidos, se cumplen los objetivos de determinar las concentraciones de los elementos seleccionados mediante su disponibilidad en el patrón multielemental utilizado, estas se encuentran dentro de los rangos esperados para cereales y pseudocereales, así como también por debajo de los límites de consumo diario, evitando así concentraciones tóxicas para la ingesta en la dieta de las personas que puedan preferir el consumo del trigo sarraceno debido a que no contiene gluten o simplemente por llevar un estilo de vida más saludable, aunque haciendo un símil con el precio de la quinoa, se vuelve un poco menos accesible su adquisición para su consumo en forma de grano y/o harina.

Dadas las características del suelo (tipo volcánico) y los cambios efectuados en la metodología establecida debido a los problemas que surgieron en el camino, es posible determinar que las hipótesis planteadas son validadas con los resultados obtenidos, ya que no se encontró el aumento esperado en las concentraciones respecto a la adición de 100 µg/L de patrón multielemental al

suelo en la germinación de la planta, tanto como para los elementos esenciales como para los tóxicos cuantificados mediante esta técnica. Como alternativa y posible solución de este problema se sugiere utilizar otro tipo de suelo tipo arcilloso, para evaluar la posible absorción de algunos elementos.

La capacidad de la planta de alforfón para absorber algunos elementos presentes tanto como en el suelo donde se desarrolla y el agua de riego que se utiliza, va a depender de varios factores asociados al pH, el potencial de oxidación-reducción del suelo y agua utilizadas, la ubicación geográfica de la cosecha de los granos, los cuales también afectarán la movilidad de los elementos y su ubicación final dentro de la planta (raíces, tallo, hojas, semillas o flores). En este caso una de las razones sería que debido a las características del suelo (pH, ORP, porosidad y drenaje) éstas no permiten la homogenización de la adición exprofeso dentro del suelo y se drenan al fondo de las macetas utilizadas para la siembra en invernadero junto con el agua de riego disminuyendo su probabilidad y posibilidad de absorción de algunos elementos. La capacidad de análisis multielemental que permite la técnica de espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) en temas de rapidez de las mediciones, el bajo volumen de muestra que se necesita y la sensibilidad que entrega el equipo, lo hacen un excelente método para la determinación de elementos traza y ultra traza de varios elementos simultáneamente, permitiendo el análisis también de especiación de un solo elemento.

Para esta técnica es preferible no utilizar concentraciones altas por sobre un 1 mg/L, ya que serían necesarias múltiples diluciones en caso de medirlas por ICP-MS, o como alternativa ocupar otro método para concentraciones altas como la absorción atómica de llama (F-AAS) para elementos donde es conocida su presencia en grandes cantidades en muestras de alimentos como el sodio, magnesio, potasio y calcio.

En temas de producción, en comparación al trigo común, que tiene un aproximado de 50 qqm/ha (quintales métricos por hectárea), para el trigo sarraceno tiene una rendimiento de entre 20 y 30 qqm/ha en zonas del sur de Chile con climas más húmedos que fríos, pero considerando su valor en el mercado, basta para obtener ganancias mucho mayores que si se produjese trigo común, pero el riesgo del sector hacia el cual está enfocado (aproximadamente 3-5% de la población) provoca la incertidumbre en la inversión de este negocio.

8. PROYECCIONES

A modo de proyección para complementar este trabajo de investigación sobre las propiedades y capacidades de esta planta, comparar con otras técnicas de análisis como el análisis por activación neutrónica (NAA) o, buscar un material de referencia certificado lo más similar posible, ya que no se encontró disponible de manera comercial para este trabajo dentro de las grandes empresas. También se podría hacer una comparación entre laboratorios y operadores con la técnica de ICP-MS para la validación del método.

Finalmente, realizar los análisis de aguas de riego y de los suelos que no se pudieron realizar por temas de tiempo, para así confirmar la capacidad de retención de la adición exprofeso en el mismo.

Este trabajo ha tenido como finalidad generar un impacto en posteriores investigaciones relacionadas al análisis de suelos y el agua de riego para la siembra de alfalfón, así como también un análisis completo de la planta (raíces, tallos, hojas o flores) para determinar en qué sectores quedan retenidos los elementos.

Otras ideas también se pueden aplicar a hacer una correlación multielemental de semillas y miel cosechadas de una misma planta.



9. RECURSOS DISPONIBLES

9.1 Equipos y reactivos para tratamiento de muestra.

- Mortero de ágata.
- Tamiz ½”.
- Balanza analítica Sartorius Entris 124-1S.
- Balanza de precisión n°8 Mettler Toledo ML-204.
- Horno de Microondas Milestones RL ETHOS UP.
- Ácido Nítrico 69% PA Merck.
- Peróxido de Hidrógeno 30% Suprapur ® Merck.
- Agua ultrapura 0,057 uS/cm
- Filtros de jeringa 0,22 y 0,42 µm.
- Jeringas de 10 mL.

9.2 Equipos para cuantificación.

- Espectrómetro ICP-MS THERMO FISCHER iCAP.
- Espectrómetro F-AAS iCE 3300 THERMO SCIENTIFIC.

9.3 Reactivos

Proporcionados por Merck.

- Patrón multielemento 1000 ppm.

10. REFERENCIAS

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR). (2016). Public health statement: Barium and compounds. Atlanta, Georgia, U.S. Department of Health and Human Services.
- Ammann, A. (2007). Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS): a versatile tool. *Journal of mass spectrometry*, 42, 419-427.
- Aral, H., Vecchio-Sadus, A. (2008). Toxicity of lithium to humans and the environment-A literature review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 70(3), 349–356. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2008.02.026>.
- Banerjee R. (2003). Radical carbon skeleton rearrangements: catalysis by coenzyme B12-dependent mutases. *Chemical Reviews*, 103, 2083–2094.
- Barbu, H., Andreescu, C., Raluca Monica, C., Lorean, A., Podariu, A., Bechir, A. (2014). Effect of Strontium Ranelate on Maxillary Bone Density. *Revista de Chimie*, 66, 244.
- Belitz H. D., Grosch, W., Schieberle, P. (2009). *Food chemistry book*. 4th edition. (pp. 421). Springer.
- Benetou-Marantidou, A., Nakou, S., & Micheloyannis, J. (1988). Neurobehavioral Estimation of Children with Life-Long Increased Lead Exposure. *Archives*

of *Environmental Health: An International Journal*, 43(6), 392–395.

<https://doi.org/10.1080/00039896.1988.9935856>

Benini, S., Rypniewski, R., Wilson, K.S., Miletti, S., Ciurli, S. & Mangani, S. (1999).

A new proposal for urease mechanism based on the crystal structures of the native and inhibited enzyme from *Bacillus pasteurii*: why urea hydrolysis costs two nickels. *Structure*, 7, 205–216.

Bowen, H. J. M. (1979). *Environmental Chemistry of the Elements*, New York, U.S.A. (pp. 333). Academic Press.

Cabezas, J., Alonso, J., Pastor, J., Sastre-Conde, I., Lobo, M. (2004). Absorción y acumulación de metales pesados en tres especies vegetales en suelos enmendados con lodos de depuradora. *Environmental Biotechnology and Engineering*, 6–8.

Chitambar, C. R. (2010). Medical applications and toxicities of gallium compounds. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 7(5), 2337–2361.

Ciacci C., Ciclitira P., Hadjivassiliou M., Kaukinen K., Ludvigsson J. F., McGough N. (2015). The gluten-free diet and its current application in coeliac disease and dermatitis herpetiformis. *United European Gastroenterol Journal (Review)*. 3 (2): 121–35.2

- Coulter, L.; Lorenz, K. (1990). Quinoa-composition, nutritional value, food applications. *Lebensm*, 23, 203–207. *WissTechnol*
- Dass, C. (2007). *Fundamentals of contemporary mass spectrometry*. Wiley-Interscience.
- Deverel, S. J., Goldberg, S., & Fujii, R. (2011). Chemistry of trace elements in soils and groundwater. In *Agricultural Salinity Assessment and Management: Second Edition*. *American Society of Civil Engineers*.
<https://doi.org/10.1061/9780784411698.ch04>
- Domenico, P.; Reich, J.; Madonia, W.; Cunha, B.A. (1996). Resistance to bismuth among Gram-negative bacteria is dependent upon iron and its uptake. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 38, 1031–1040.
- Drake, P. L., & Hazelwood, K. J. (2005). Exposure-related health effects of silver and silver compounds: A review. *Annals of Occupational Hygiene*, 49(7), 575–585. <https://doi.org/10.1093/annhyg/mei019>
- Environmental Protection Agency (EPA) (1997). Background and Environmental Exposures to Boron in the United States. *Public Health*, 3, 11–20.
- Fang, X., Li, Y., Nie, J., Wang, C., Huang, K., Zhang, Y., Zhang, Y., She, H., Liu, X., Ruan, R., Yuan, X., & Yi, Z. (2018). Effects of nitrogen fertilizer and planting density on the leaf photosynthetic characteristics, agronomic traits

and grain yield in common buckwheat (*Fagopyrum esculentum* M.). *Field Crops Research*, 219, 160–168.

Folkers J. (1984). Perspectives from research on vitamins and hormones. *Journal of Chemical Education*, 61, 747–756.

Frieden, E. J. (1985). New perspectives on the essential trace elements. *Journal of Chemical Education*, 62 (11), 917–923.

Gacitúa, E., Martínez-Lagos, J. (2020). Informativo N° 227: Principales aspectos de los suelos utilizados para la producción agrícola en la Región de los Ríos. Instituto de Investigaciones Agropecuarias (INIA).

Gerding, V. (2010): Suelos de humedales y trumaos húmedos del sur de Chile. *Reunión de trabajo sobre plantaciones forestales en Chiloé*.

Gross, J. H. (2017). *Mass spectrometry*. 3rd edition, Springer.

Gorinstein, S.; Pawelzik, E.; Delgado-Licon, E.; Haruenkit, R.; Weisz, M.; Trakhtenberg, S. (2002). Characterization of pseudocereal and cereal proteins by protein and amino acid analyses. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 82, 886–891.

Harmuth-Hoene, A.-E., Bogner, A. E., Kornemann, U., Diehl, J. F. (1987). The influence of germination on the nutritional value of wheat, mung beans and

chickpeas. *Zeitschrift Für Lebensmittel-Untersuchung Und -Forschung*, 185(5), 386–393.

Houk, R. S., & Praphairaksit, N. (2001). Dissociation of polyatomic ions in the inductively coupled plasma. *Spectrochim. Acta Part B-Atomic Spectroscopy*.

Inglett G.E., Chen D.J., Berhow M., Lee S. (2011): Antioxidant activity of commercial buckwheat flours and their free and bound phenolic compositions. *Food Chemistry*, 125, 923–929.

Kaim, W., Schwederski, B. & Klein, A. (2013). *Bioinorganic chemistry: Inorganic elements in the chemistry of life*. Wiley.

Kitaguchi T., Ogra Y., Iwashita Y., Suzuki K. (2008). Speciation of selenium in selenium-enriched seeds, buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Moench) and quinoa (*Chenopodium quinoa* Willdenow). *European Food Research and Technology*. 227, 1455-1460.

Kollath, W. (2001). *Die Ordnung unserer Nahrung*: mit 17 Tabellen. Haug.

Kot F.S. (2009). Boron sources, speciation and its potential impact on health. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, 8, 3-28.

Kubba, A., Kubba, R., Batrani, M., Pal, T. (2013). Argryria an unrecognized cause of cutaneous pigmentation in Indian patients: A case series and review of

the literature. In *Indian Journal of Dermatology, Venereology and Leprology*, 79, 805–811. <https://doi.org/10.4103/0378-6323.120735>.

Lamacchia C, Camarca A, Picascia S, Di Luccia A, Gianfrani C. (2014). Cereal-based gluten-free food: how to reconcile nutritional and technological properties of wheat proteins with safety for celiac disease patients. *Nutrients*, 6(2): 575-90.

Lin L. Y., Peng C. C., Yang Y. L., Peng R. Y. (2008): Optimization of bioactive compounds in buckwheat sprouts and their effect on blood cholesterol in hamsters. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56, 1216–1223.

Manimegalai, G., Shantha Kumar, S., & Sharma, C. (2011). Pesticide mineralization in water using silver nanoparticles. *International Journal of Chemical Sciences*, 9(3), 1463–1471.

May T., Wiedmeyer, R. (1998). A Table of Polyatomic Interferences in ICP-MS. *Atomic Spectroscopy*, 19, 150-155.

Meier-Ploeger, A. (1990). The importance of sprouts and seeds in whole-food nutrition. *Ernährung/Nutrition*, 14, 317–323.

Mestek O., Polák J., Kolpík R., Komínova J., Santrucek J., Kodíček M., Kvasnicka F. (2007). Analysis of element species fractions in buckwheat and

amaranth flours by SEC/ICP-MS and MALDI-MS. *European Food Research and Technology*, 225, 895-904.

Milestone ETHOS UP application note for acid digestion. Method SK-FOOD-044:
Sunflower seeds.

Milestone ETHOS UP application note for acid digestion. Method SK-FOOD-052:
Barley.

National Institutes of Health (2020). *Office of Dietary Supplements. Fact sheets for Boron, Calcium, Copper, Chromium, Iron, Potassium, Magnesium, Manganese and Zinc.*

Nordberg, G. F. (2009). Historical perspectives on cadmium toxicology. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238, 192–200:

Ohnishi, O. (1998). Search for the wild ancestor of buckwheat III. The wild ancestor of cultivated common buckwheat, and of tatar buckwheat. *Economic Botany*. 52 (2), 123–133.

Penagini, F., Dilillo, D., Meneghin, F., Mameli, C., Fabiano, V., & Zuccotti, G. V. (2013). Gluten-free diet in children: An approach to a nutritionally adequate and balanced diet. *Nutrients*, 5(11), 4553–4565.

Peng, L. Xin, Huang, Y. Fei, Liu, Y., Zhang, Z. Feng, Lu, L. Yang, & Zhao, G. (2014). Evaluation of essential and toxic element concentrations in

buckwheat by experimental and chemometric approaches. *Journal of Integrative Agriculture*, 13(8), 1691–1698.

Polmear I. J. (1993) Chemistry of Aluminum, Gallium, Indium and Thallium. Downs A. J. (Ed.), *The elements*. (pp 81–110). Chapman and Hall, London.

Pors Nielsen S (2004). The biological role of strontium. *Bone*, 35, 583-588. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2004.04.026>.

Price, T. V. (1988). Seed Sprout Production for Human Consumption. A Review. *Canadian Institute of Food Science and Technology Journal*, 21(1), 57–65.

Roat-Malone, R. (2002). *Bioinorganic chemistry*, Wiley-Interscience.

Ruiz, C., Bressani, R. (1990). Effect of Germination on the Chemical Composition and Nutritive Value of Amaranth Grain. *Cereal Chemistry*, 67(6), 519–522.

Sánchez, A. (2016). El estroncio en el tratamiento de la osteoporosis. *Actualizaciones En Osteología*, 12(1), 7–10.

Stewart, I. I., Olesik, J. W. (1998a). Steady state acid effects in ICP-MS. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 12, 1313–1320.

Stewart, I. I., Olesik, J. W. (1998b). The effect of nitric acid concentration and nebulizer gas flow rates on aerosol properties and transport rates in

inductively coupled plasma sample introduction. *Journal of Analytical Atomic Spectrometry*, 13(11), 1249–1256.

Toraya, T. (2003). Radical catalysis in coenzyme B12-dependent. *Chemical Reviews*, 103, 2095–2127.

Tangen A., Lund W. (1999). A multivariate study of the acid effect and the selection of internal standards for inductively coupled plasma mass spectrometry. *Spectrochim. Acta Part B-Atomic Spectroscopy*. 54, 1831.

U.S. Geological Survey. (2021). *Mineral Commodity Summaries: Silver*. <https://www.usgs.gov/centers/nmic/silver-statistics-and-information>.

Vignais P. M., Billoud B. (2007). Occurrence, classification and biological function of hydrogenases: an overview. *Chemical Reviews*, 107, 4206–4272:

Vincent, J. B. (2010). Chromium: celebrating 50 years as an essential element. *Dalton Transactions*, 39, 3787–3794:

Vincent, J. (2012). *Isomerization (eliminating) reactions, The Bioinorganic Chemistry of Chromium*. New York, Wiley Interscience.

Yao Y., Shan F., Bian J.S., Chen F., Wang M.F., Ren G.X. (2008): d-chiro-Inositol-enriched tartary buckwheat bran extract lowers the blood glucose level in KK-Aymice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56. 10027–10031.



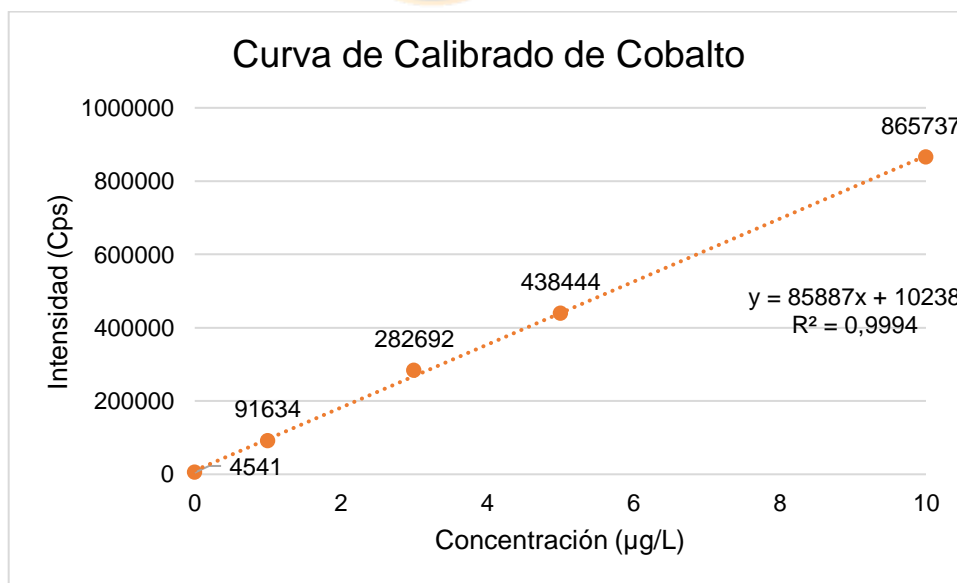
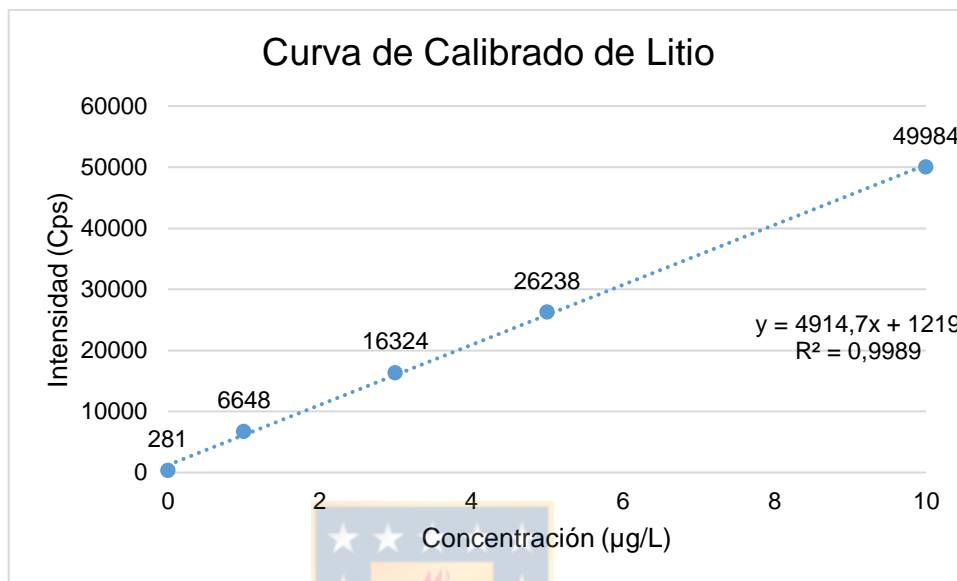
11. ANEXOS

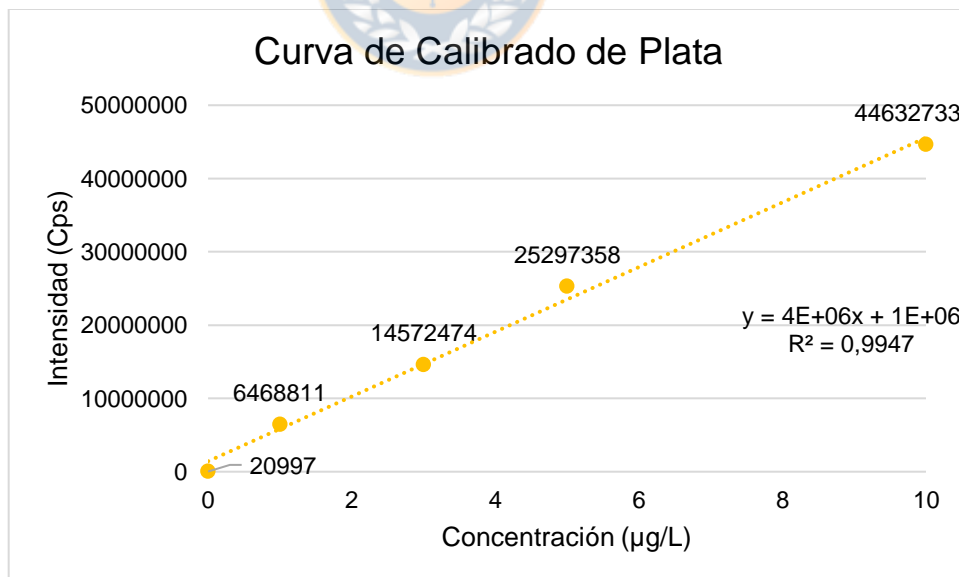
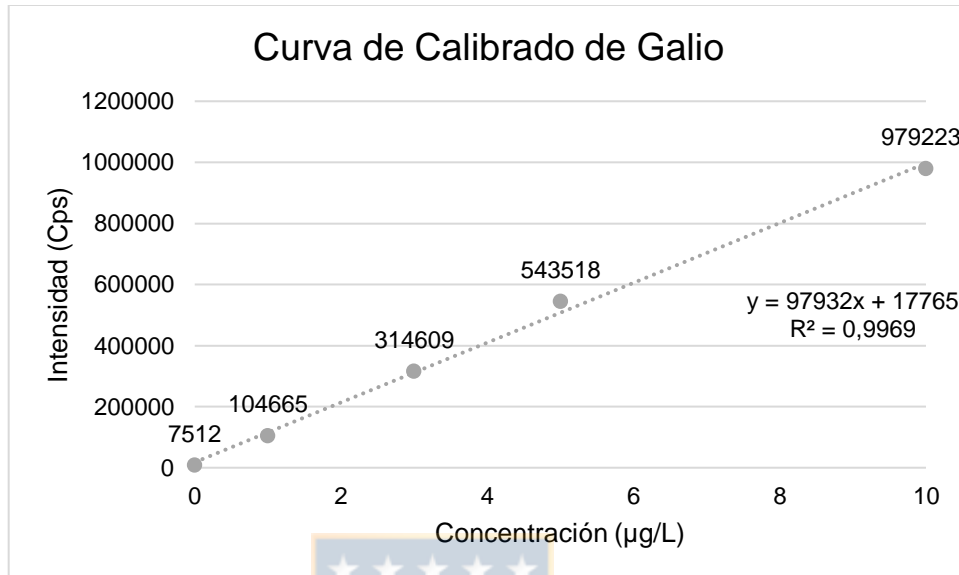
1. Curvas de calibrado, intensidades y regresión lineal de elementos considerados bajo los límites de detección y cuantificación.

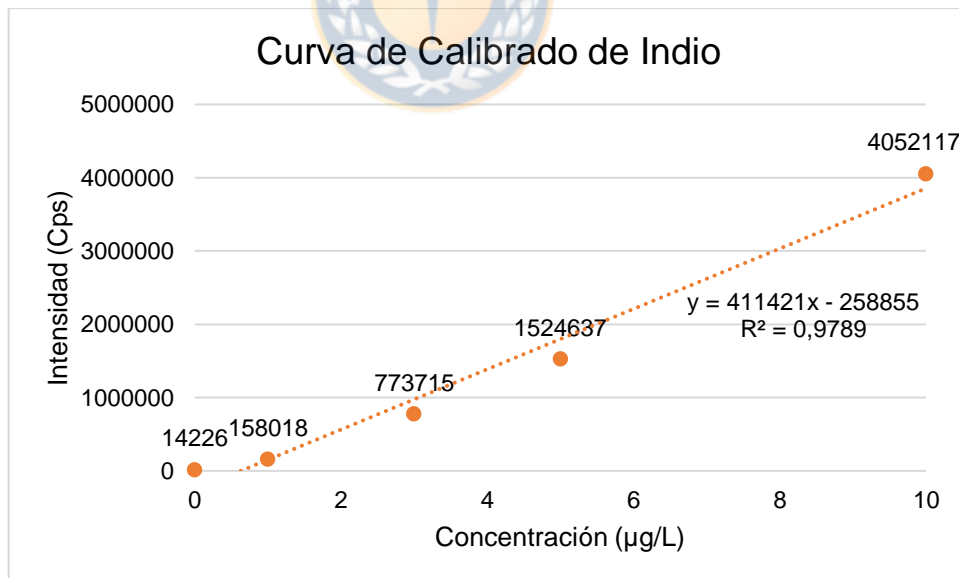
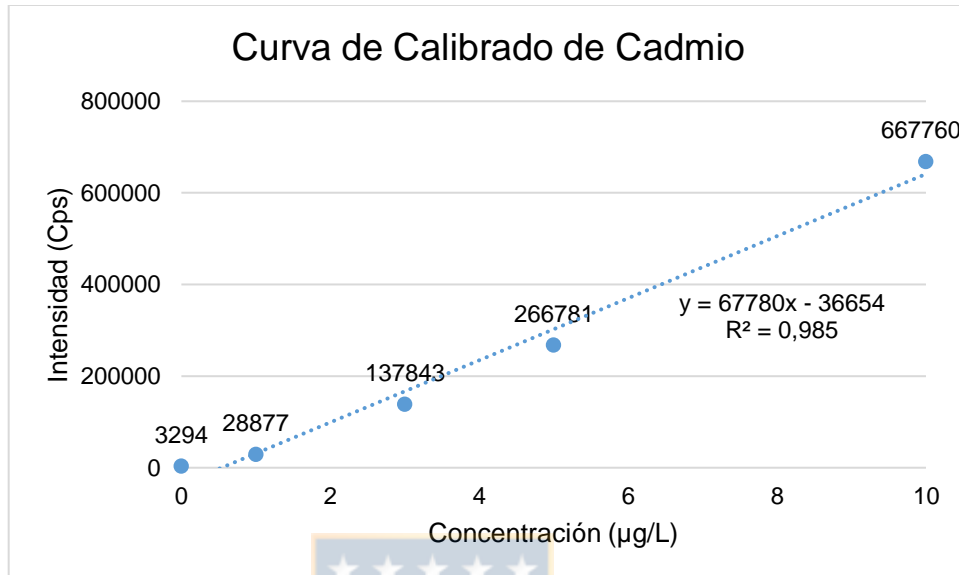
Las unidades de las intensidades corresponden a Cps (cuentas por segundo).

Elemento	BCO (Cps)	STD1 (1 µg/L) (Cps)	STD2 (3 µg/L) (Cps)	STD3 (5 µg/L) (Cps)	STD4 (10 µg/L) (Cps)
⁷ Li	281	6648	16324	26238	49984
⁵⁹ Co	4541	91634	282692	438444	865737
⁶⁹ Ga	7512	104665	314609	543518	979223
¹⁰⁷ Ag	20997	6468811	14572474	25297358	44632733
¹¹⁴ Cd	3294	28877	137843	266781	667760
¹¹⁵ In	14226	158018	773715	1524637	4052117

m (Pendiente) (Cps*L/µg)	b (Intercepto) (Cps)	R ² (Coeficiente de Determinación)
4915	1219	0,99893
85887	10238	0,99939
97932	17765	0,99692
4414480	1423451	0,99472
67780	-36654	0,98498
411421	-258855	0,97892







b) Control de blancos de muestra y cálculo de límites de detección y cuantificación.

Los datos corresponden a las intensidades (Cps, cuentas por segundo).

	⁷ Li (Cps)	⁵⁹ Co (Cps)	⁶⁹ Ga (Cps)	¹⁰⁷ Ag (Cps)	¹¹⁴ Cd (Cps)	¹¹⁵ In (Cps)
1	270,0	4150,7	7642,4	20206,6	3350,4	13631,0
2	280,0	4520,8	7792,5	21378,6	2910,3	13533,1
3	290,0	3990,7	6651,8	19505,5	3763,4	13221,3
4	340,0	4540,8	7652,4	21067,9	3260,4	14555,3
5	270,0	4971,0	7822,5	21017,9	3653,4	14235,7
6	280,0	4570,9	8502,9	24594,6	2850,2	14487,1
7	240,0	4710,9	7562,4	21188,1	3644,3	14619,8
8	320,0	4310,8	6631,9	21158,5	2808,3	14868,8
9	210,0	4500,8	7642,4	19014,6	3273,2	14255,3
10	310,0	5151,1	7222,2	20837,8	3430,2	14851,5

PROM (Cps)	281,0	4541,9	7512,3	20997,0	3294,4	14225,9
σ (Cps)	37,8	349,1	558,9	1489,3	345,7	575,5

m (Cps*L/μg)	4914,7	85887,2	97931,7	4414479,9	67780,3	411420,5
-----------------	--------	---------	---------	-----------	---------	----------

LOD (μg/L)	0,023	0,012	0,017	0,001	0,015	0,004
LOQ (μg/L)	0,077	0,041	0,057	0,003	0,051	0,014

m: pendiente de la ecuación de la regresión lineal

LOD: $3 \sigma / m$

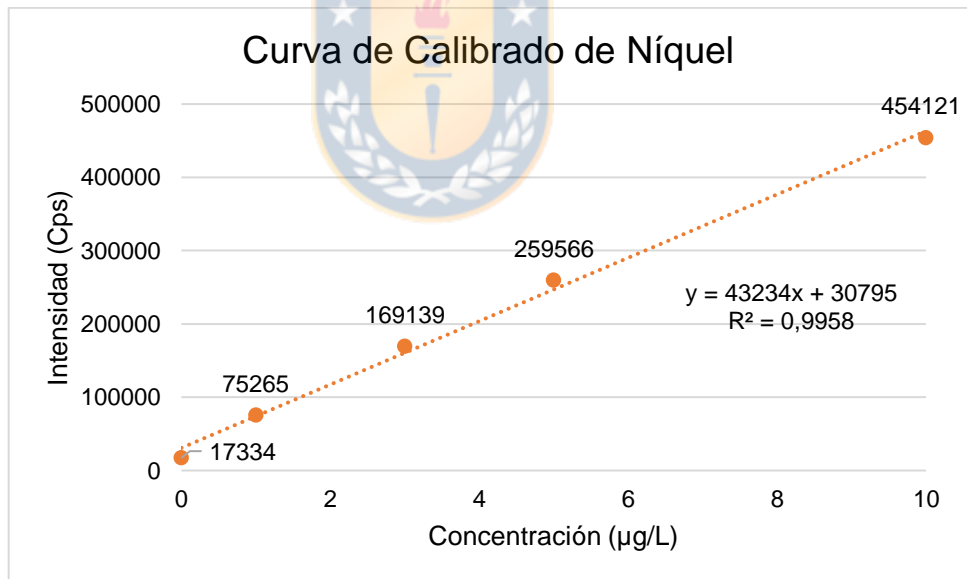
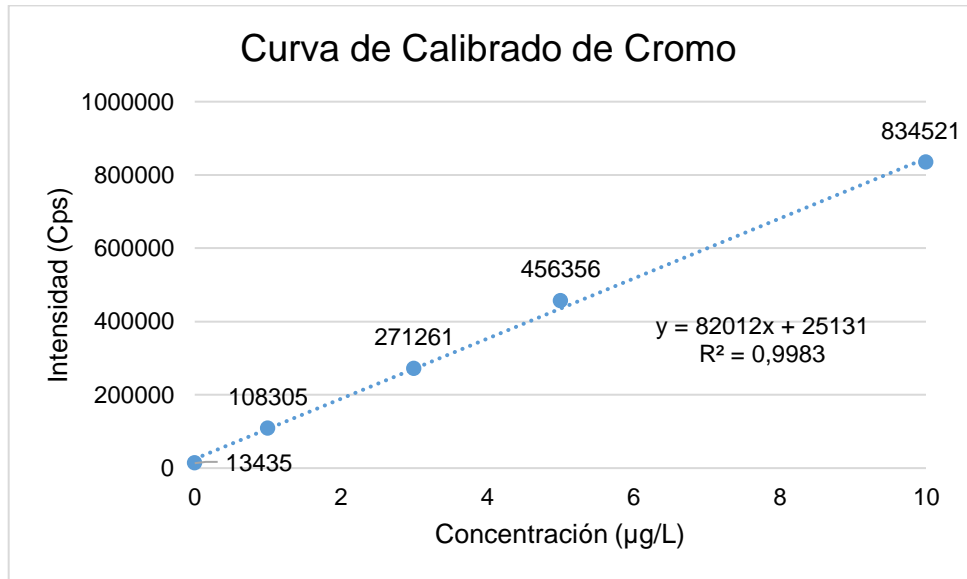
LOQ: $10 \sigma / m$

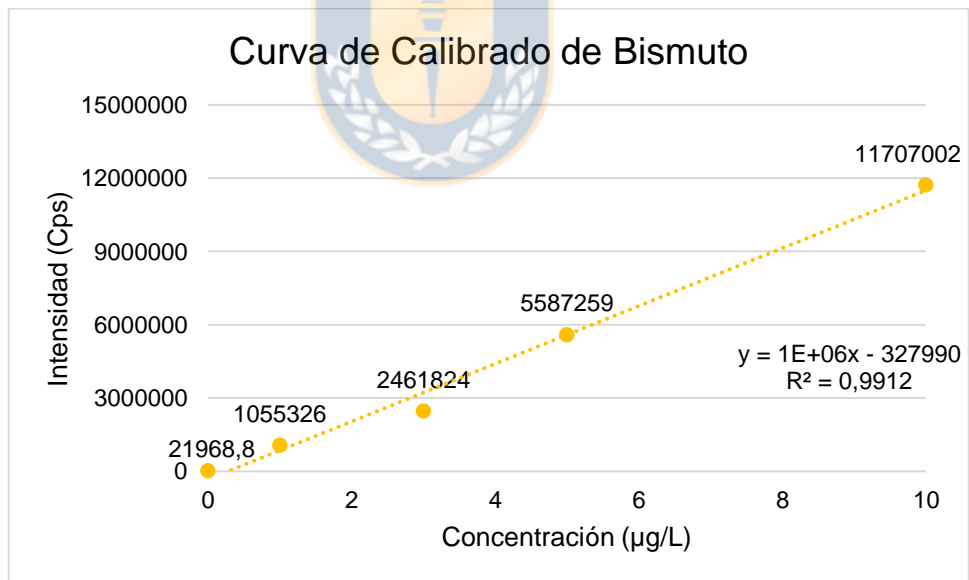
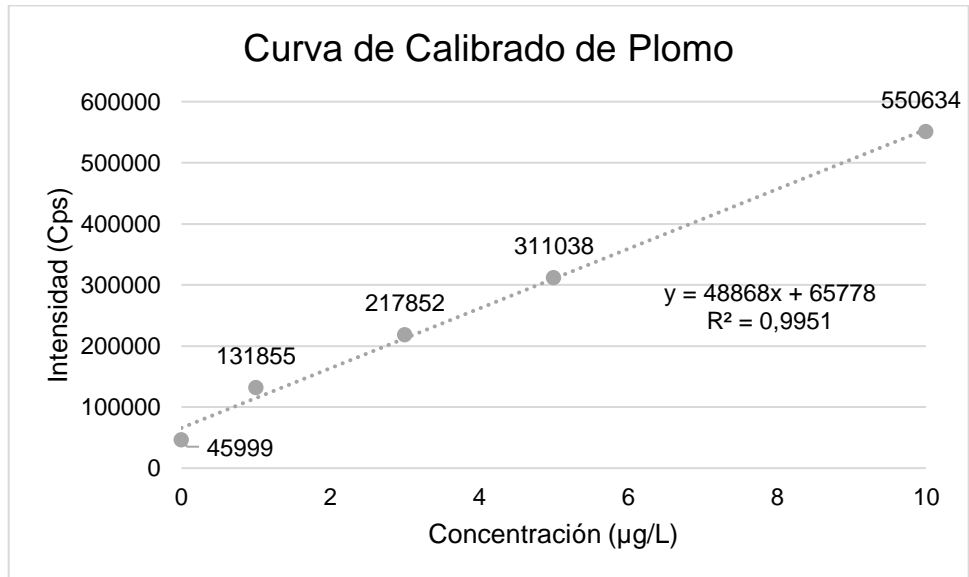
2. Curvas de calibrado, intensidades y regresión lineal de elementos con concentración entre 1 y 10 $\mu\text{g/L}$.

Las unidades de las intensidades corresponden a Cps (cuentas por segundo).

Elemento	BCO (Cps)	STD1 (1 $\mu\text{g/L}$) (Cps)	STD2 (3 $\mu\text{g/L}$) (Cps)	STD3 (5 $\mu\text{g/L}$) (Cps)	STD4 (10 $\mu\text{g/L}$) (Cps)
^{52}Cr	13435	108305	271261	456356	834521
^{60}Ni	17334	75265	169139	259566	454121
^{208}Pb	45999	131855	217852	311038	550634
^{209}Bi	21968,8	1055326	2461824	5587259	11707002

m (Pendiente) (Cps*L/ μg)	b (Intercepto) (Cps)	R ² (Coeficiente de Determinación)
82012	25131	0,99834
43234	30795	0,99578
48868	65778	0,99514
1182807	-327990	0,99119





Los datos corresponden a las intensidades (Cps, cuentas por segundo).

	⁵² Cr (Cps)	⁶⁰ Ni (Cps)	²⁰⁸ Pb (Cps)	²⁰⁹ Bi (Cps)
1	12826,8	16811,6	50567,9	22129,9
2	13767,8	20370,6	50205,3	21989,7
3	13057,1	15690,2	53796,5	21959,0
4	13817,7	16981,7	42386,3	20206,6
5	14378,4	18463,9	44331,5	22370,5
6	13888,0	17632,6	39926,8	23673,1
7	13367,3	16721,5	51579,8	21208,9
8	12126,1	16341,0	38794,1	23593,4
9	14198,3	17632,7	41814,9	20497,2
10	12926,8	16691,3	46585,4	22059,7

PROM (Cps)	13435,4	17333,7	45998,9	21968,8
σ (Cps)	701,1	1314,4	5301,8	1134,7

m (Cps*L/ μ g)	82011,8	43234,2	48867,9	1182806,8
-----------------------	---------	---------	---------	-----------

LOD (μ g/L)	0,026	0,091	0,325	0,003
LOQ (μ g/L)	0,085	0,304	1,085	0,010

m: pendiente de la ecuación de la regresión lineal

LOD: $3 \sigma / m$

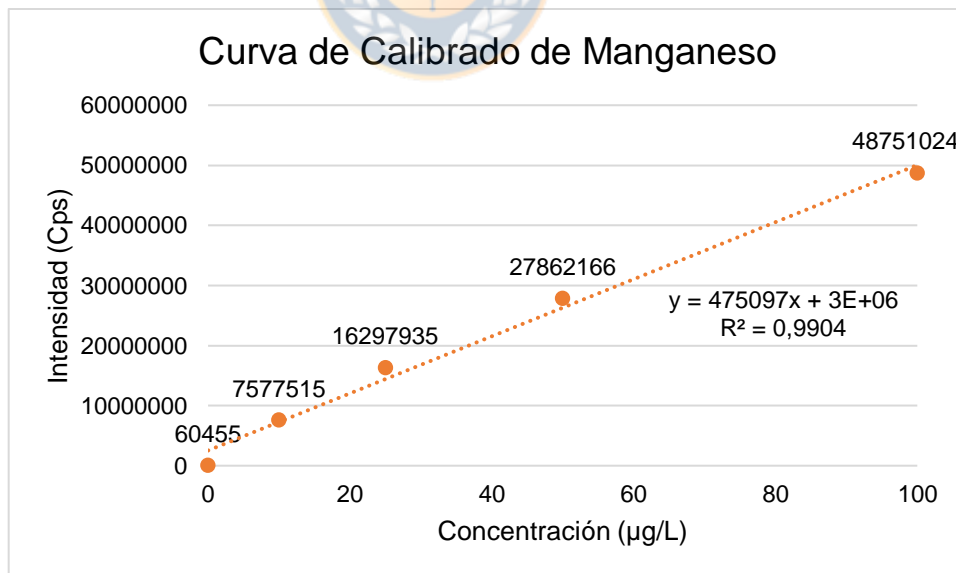
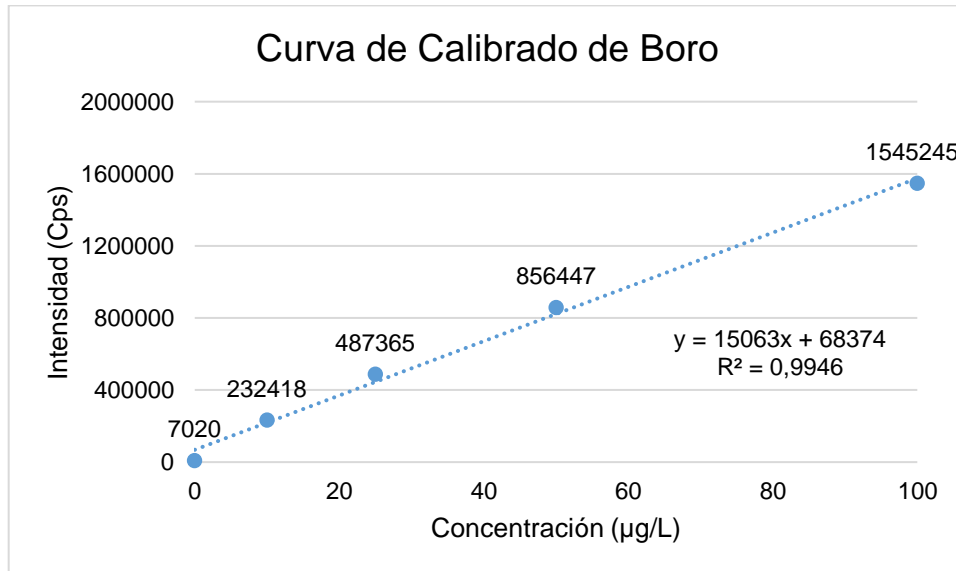
LOQ: $10 \sigma / m$

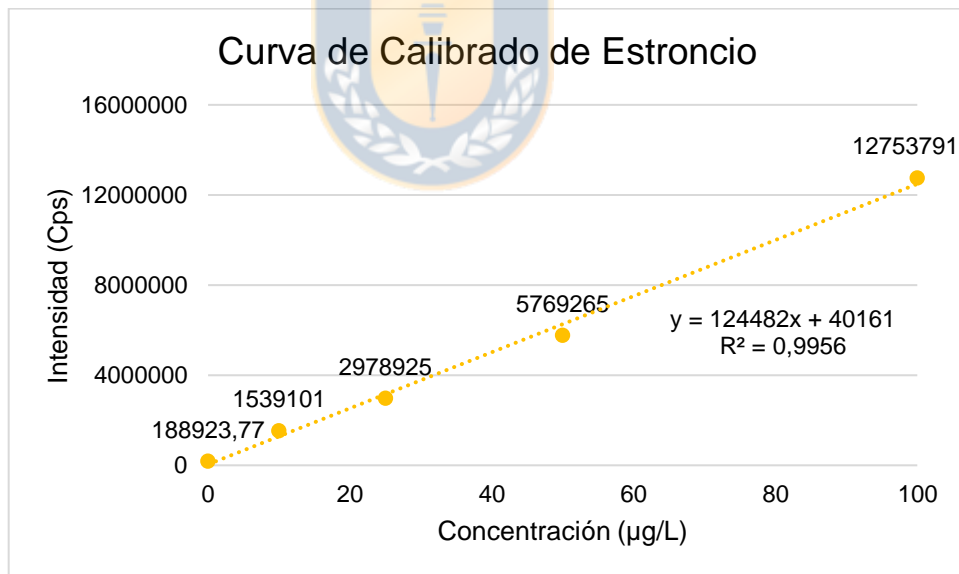
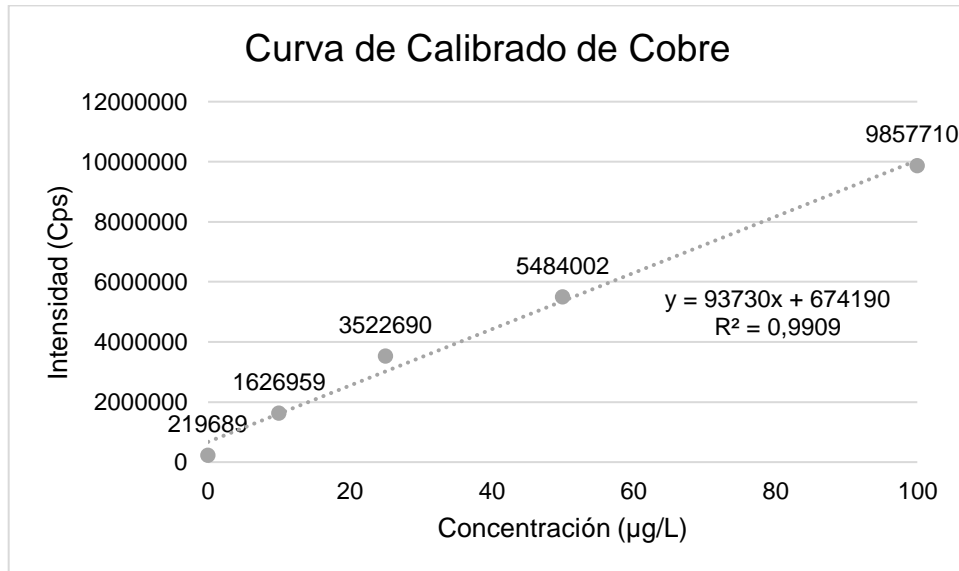
3. Curvas de calibrado, intensidades y regresión lineal de elementos con concentración entre 10 y 100 µg/L.

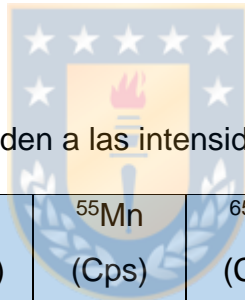
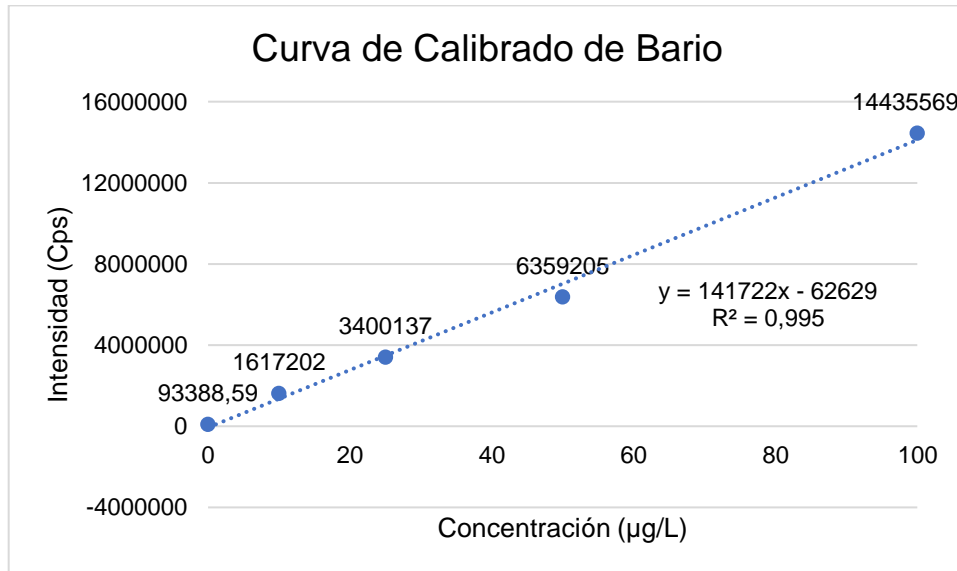
Las unidades de las intensidades corresponden a Cps (cuentas por segundo).

Elemento	BCO (Cps)	STD1 (10 µg/L) (Cps)	STD2 (25 µg/L) (Cps)	STD3 (50 µg/L) (Cps)	STD4 (100 µg/L) (Cps)
¹¹ B	7020	232418	487365	856447	1545245
⁵⁵ Mn	60455	7577515	16297935	27862166	48751024
⁶⁵ Cu	219689	1626959	3522690	5484002	9857710
⁸⁸ Sr	188923,77	1539101	2978925	5769265	12753791
¹³⁸ Ba	93388,59	1617202	3400137	6359205	14435569

m (Pendiente) (Cps*L/µg)	b (Intercepto) (Cps)	R ² (Coeficiente de Determinación)
15063	68374	0,99462
475097	2531237	0,99043
93730	674190	0,99093
124482	40161	0,99565
141722	-62629	0,99497







Los datos corresponden a las intensidades (Cps, cuentas por segundo).

	¹¹ B (Cps)	⁵⁵ Mn (Cps)	⁶⁵ Cu (Cps)	⁸⁸ Sr (Cps)	¹³⁸ Ba (Cps)
1	7042,0	60748,1	212565,7	189697,6	91698,6
2	6791,9	59561,9	209230,7	182305,7	97741,9
3	6962,0	61008,7	230122,7	193491,3	91696,9
4	7612,4	60466,2	220882,0	196329,0	89703,1
5	7392,2	58818,3	227375,3	191014,9	95628,9
6	7292,2	58898,8	210710,0	189445,6	97842,6
7	7182,2	60486,5	225139,7	186604,3	92867,5
8	6801,9	61692,6	213788,0	187196,8	93631,8
9	6281,6	62275,2	220789,0	179801,0	93047,8
10	6841,9	60597,2	226286,1	193351,5	90026,8

PROM (Cps)	7020,0	60455,4	219688,9	188923,8	93388,6
σ (Cps)	375,7	1113,4	7596,5	5120,1	2884,0

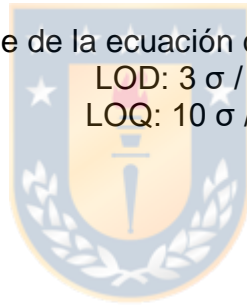
m (Cps*L/ μ g)	15062,8	475096,8	93730,3	124482,2	141722,4
-----------------------	---------	----------	---------	----------	----------

LOD (μ g/L)	0,075	0,007	0,243	0,123	0,061
LOQ (μ g/L)	0,249	0,023	0,810	0,411	0,203

m: pendiente de la ecuación de la regresión lineal

LOD: $3 \sigma / m$

LOQ: $10 \sigma / m$

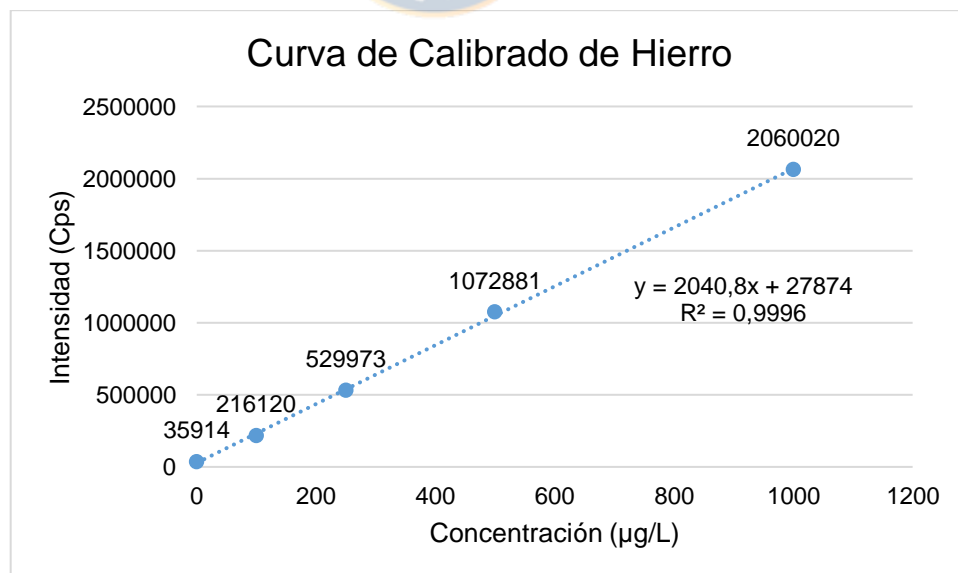


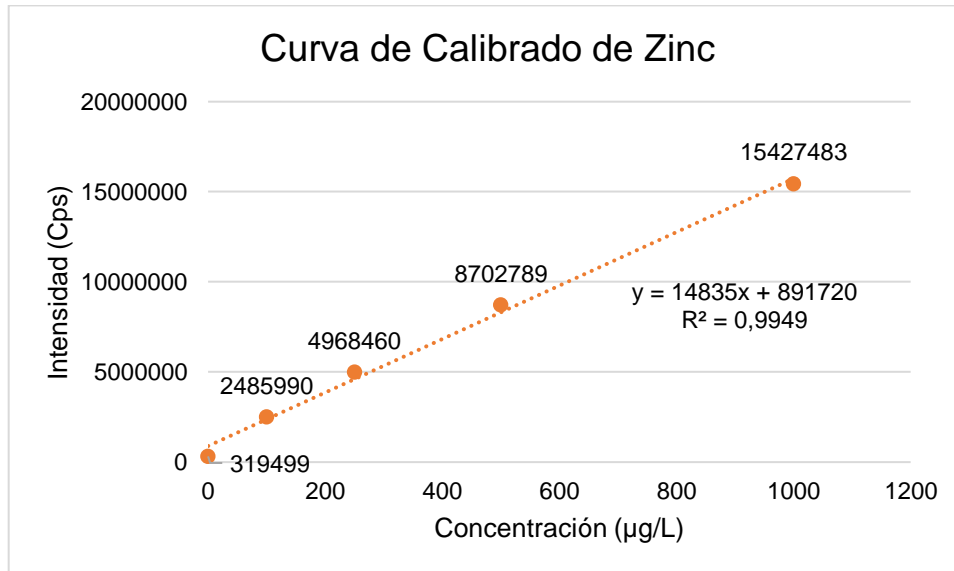
4. Curvas de calibrado, intensidades y regresión lineal de elementos con concentración entre 100 y 1000 µg/L.

Las unidades de las intensidades corresponden a Cps (cuentas por segundo).

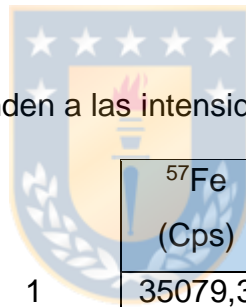
Elemento	BCO (Cps)	STD1 (100 µg/L) (Cps)	STD2 (250 µg/L) (Cps)	STD3 (500 µg/L) (Cps)	STD4 (1000 µg/L) (Cps)
⁵⁴ Fe	35914	216120	529973	1072881	2060020
⁶⁴ Zn	319499	2485990	4968460	8702789	15427483

m (Pendiente) (Cps*L/µg)	b (Intercepto) (Cps)	R ² (Coeficiente de Determinación)
2041	27874	0,99960
14835	891720	0,99490





Los datos corresponden a las intensidades (Cps, cuentas por segundo).



	⁵⁷ Fe (Cps)	⁶⁴ Zn (Cps)
1	35079,3	325330,3
2	35189,6	315061,8
3	35871,5	314157
4	36663,9	313507,3
5	36493,3	313855,1
6	35640,9	303733,7
7	36443,4	328792,5
8	35891,6	338036,4
9	35711	328139,6
10	36152,4	314372,6

PROM (Cps)		
	35913,69	319498,6

σ (Cps)	534,8537	10162,42
----------------	----------	----------

m (Cps*L/ μ g)	2040,8	14835,5
-----------------------	--------	---------

LOD (μ g/L)	0,786	2,055
---------------------	-------	-------

LOQ (μ g/L)	2,621	6,850
---------------------	-------	-------

m: pendiente de la ecuación de la regresión lineal

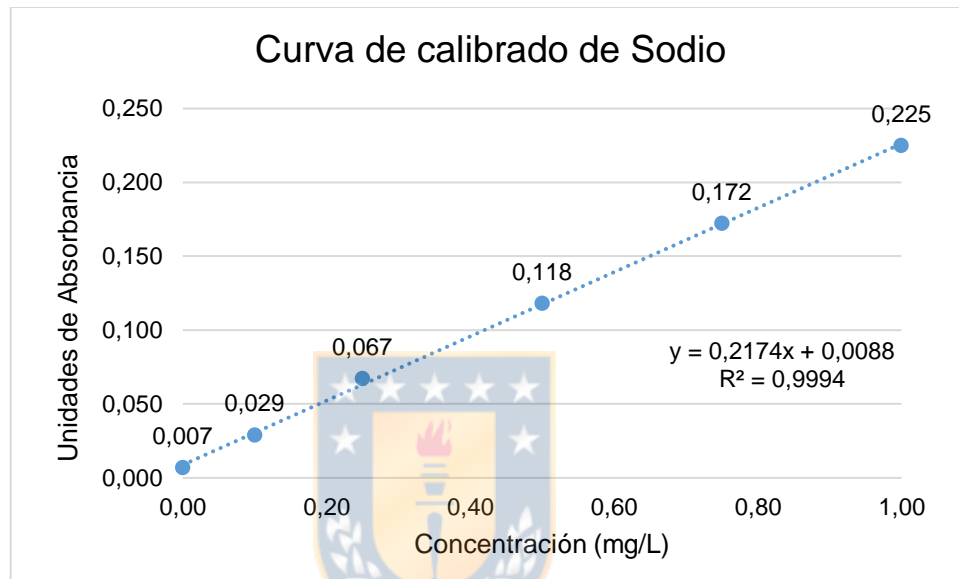
LOD: $3 \sigma / m$

LOQ: $10 \sigma / m$



5. Curvas de calibrado y absorbancias de elementos con concentración por sobre 1 mg/L.

a) Sodio (Na) $\lambda = 589,0 \text{ nm}$ Llama: Aire/Acetileno Mechero: 5 cm.



ID	Dilución	Absorbancia	mg/L	(mg/L) *fd	(mg/L) *fd* fc
S1	20	0,098	0,4103	8,206	9,494
S2	20	0,099	0,4149	8,298	9,600
S3	20	0,101	0,4241	8,482	9,813
H1	20	0,120	0,5100	10,200	11,801
H2	20	0,124	0,5311	10,622	12,289
H3	20	0,120	0,5112	10,224	11,829
CH1	10	0,100	0,4207	4,207	4,867
CH2	10	0,088	0,3637	3,637	4,208
CH3	10	0,140	0,6061	6,061	7,012
C1	10	0,120	0,5109	5,109	5,911

C2	10	0,154	0,6693	6,693	7,744
F1	10	0,126	0,5405	5,405	6,253
F2	10	0,084	0,3479	3,479	4,025
F3	10	0,094	0,3934	3,934	4,551
P1	10	0,184	0,8088	8,088	9,357
P2	10	0,180	0,7875	7,875	9,111

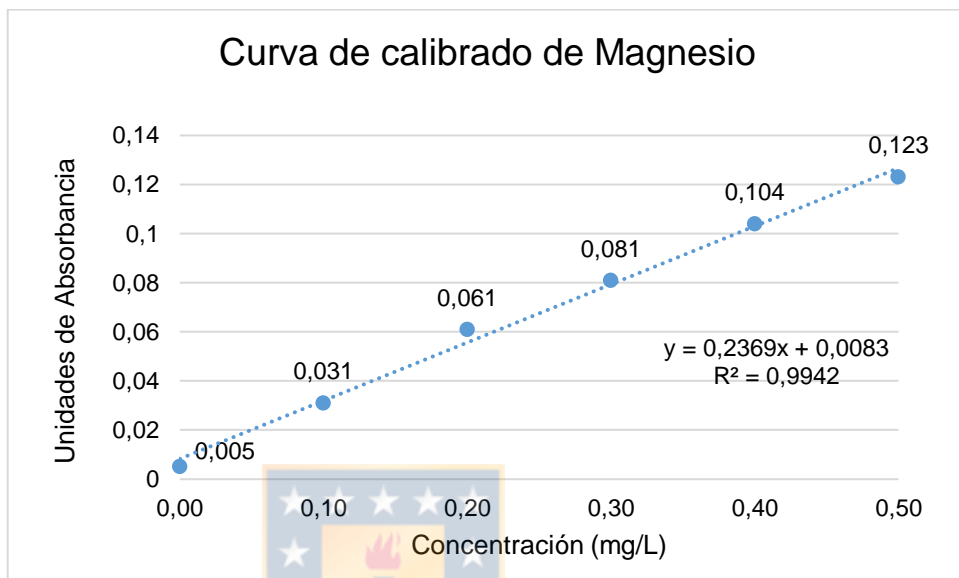
S1 + Sup	20	0,112	0,4747	9,494	11,033
-------------	----	-------	--------	-------	--------

Para el cálculo del factor de corrección (fc) asociado a la concentración final de Sodio viene dado a que se utiliza en esta técnica un supresor que consiste en la adición de una disolución de 1000 ppm de potasio.

$$fc = \frac{\text{Concentración S1 + Supresor}}{\text{Concentración S1}}$$

$$fc = \frac{0,4747}{0,4241} = 1.1570$$

b) Magnesio (Mg) $\lambda = 285.2 \text{ nm}$ Llama: Aire/Acetileno Mechero: 5 cm.

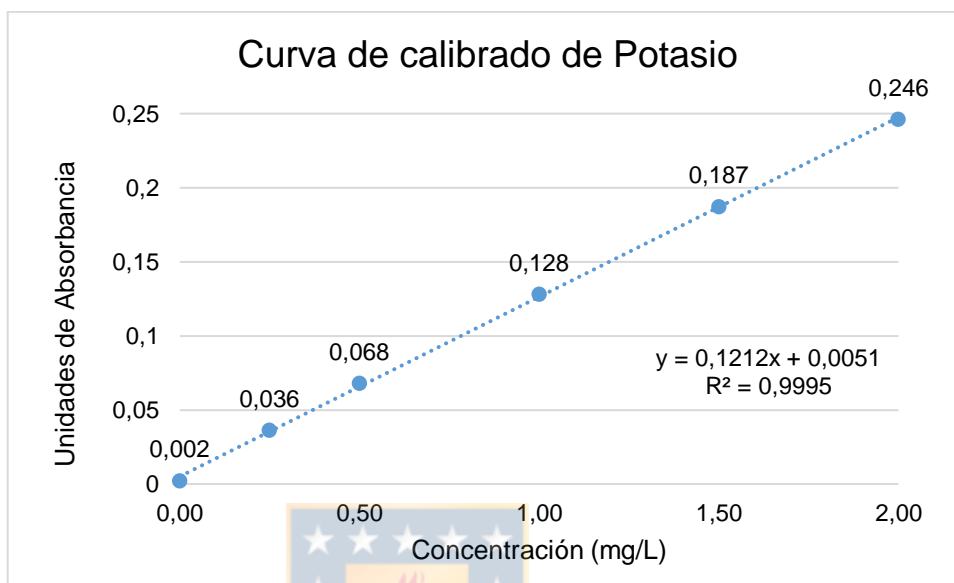


ID	Dilución	Absorbancia	mg/L	(mg/L) *fd
S1	50	0,109	0,4188	10,940
S2	50	0,126	0,4893	14,465
S3	50	0,119	0,4818	14,090
H1	50	0,085	0,3174	15,870
H2	50	0,093	0,3589	17,945
H3	50	0,089	0,3337	16,685
CH1	50	0,093	0,3510	17,550
CH2	50	0,089	0,3366	16,830
CH3	50	0,094	0,3556	17,780
C1	50	0,073	0,2666	13,330
C2	50	0,085	0,3196	15,980
F1	10	0,097	0,3732	3,732
F2	10	0,079	0,2991	2,991

F3	10	0,075	0,2818	2,818
P1	50	0,041	0,1364	6,820
P2	50	0,051	0,1777	8,885



c) Potasio (K) $\lambda = 766.5 \text{ nm}$ Llama: Aire/Acetileno Mechero: 5 cm.



ID	Dilución	Absorbancia	mg/L	(mg/L) *fd	(mg/L) *fd* fc
S1	50	0,063	0,4815	24,075	27,978
S2	50	0,071	0,5486	27,430	31,876
S3	50	0,073	0,5608	28,040	32,585
H1	50	0,047	0,3453	17,265	20,064
H2	50	0,054	0,4035	20,173	23,443
H3	50	0,048	0,3555	17,775	20,656
CH1	50	0,063	0,4825	24,125	28,036
CH2	50	0,061	0,4591	22,955	26,676
CH3	50	0,064	0,4898	24,490	28,460
C1	50	0,087	0,6805	34,025	39,540
C2	50	0,082	0,6353	31,765	36,914
F1	10	0,112	0,8823	8,823	20,253
F2	10	0,089	0,6971	6,971	18,101

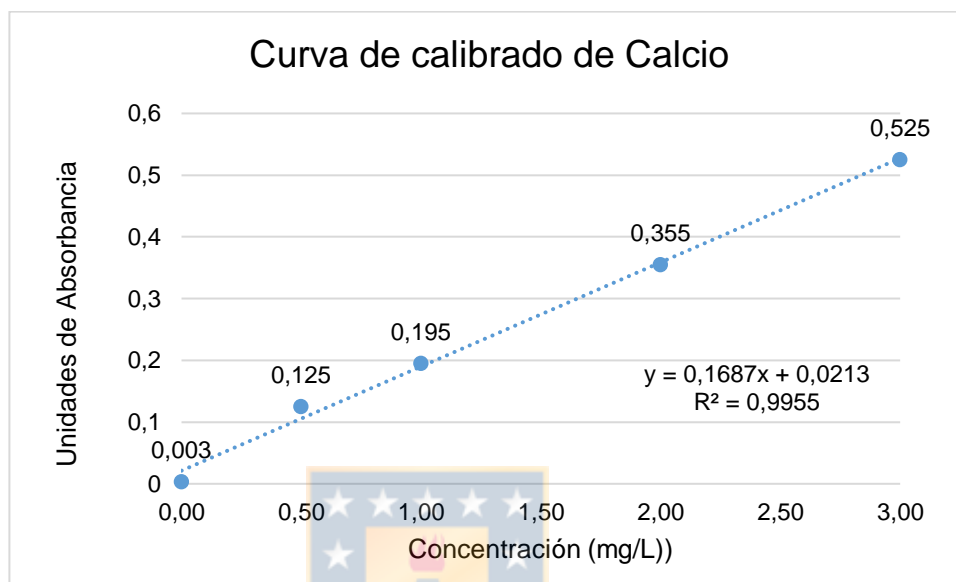
F3	10	0,102	0,8028	8,028	19,329
P1	50	0,031	0,2168	10,840	12,597
P2	50	0,047	0,3457	17,285	20,087
CH1 + sup	50	0,073	0,5607	28,035	32,579

Para el cálculo del factor de corrección (fc) asociado a la concentración final de Potasio viene dado a que se utiliza en esta técnica un supresor que consiste en la adición de una disolución de 1000 ppm de Sodio.

$$fc = \frac{\text{Concentración CH1 + Supresor}}{\text{Concentración CH}}$$

$$fc = \frac{0.5607}{0.4825} = 1.1621$$

d) Calcio (Ca) $\lambda = 422.6 \text{ nm}$ Llama: Aire/Acetileno Mechero: 5 cm.



ID	Dilución	Absorbancia	mg/L	(mg/L) *fd	(mg/L) *fd* fc
S1	10	0,177	0,910	9,100	13,794
S2	10	0,152	0,764	7,639	14,937
S3	10	0,140	0,694	6,937	13,566
H1	10	0,055	0,197	1,970	3,851
H2	10	0,073	0,302	3,022	5,908
H3	10	0,076	0,322	3,220	6,297
CH1	10	0,107	0,501	5,009	9,794
CH2	10	0,122	0,589	5,885	11,508
CH3	10	0,110	0,518	5,184	10,137
C1	10	0,116	0,553	5,535	10,823
C2	10	0,142	0,705	7,054	13,794
F1	10	0,082	0,355	3,548	6,937
F2	10	0,086	0,378	3,781	7,394

F3	10	0,075	0,314	3,139	6,137
P1	10	0,149	0,746	7,463	14,594
P2	10	0,151	0,758	7,580	14,823
P1+sup	10	0,271	1,459	14,594	28,537

Para el cálculo del factor de corrección (fc) asociado a la concentración final de Sodio viene dado a que se utiliza en esta técnica un supresor que consiste en la adición de una disolución de 1000 ppm de potasio.

$$fc = \frac{\text{Concentración P1 + Supresor}}{\text{Concentración P1}}$$

$$fc = \frac{1.459}{0.746} = 1.9554$$

