

Técnicas de mineralización para la determinación de macronutrientes en muestras de raíz de zanahoria (*Daucus carota* L.)

M. R. BIANCHINI & G. A. EYHERABIDE

Area Química Inorgánica y Analítica. Unidad Integrada Fac. Cs. Agrarias - INTA EEA Balcarce.
C.C. 276 (7620) Balcarce. Argentina. E-mail: migartua@balcarce.inta.gov.ar

BIANCHINI, M. R. & G. A. EYHERABIDE. 1998. Técnicas de mineralización para la determinación de macronutrientes en muestras de raíz de zanahoria (*Daucus carota* L.). Rev. Fac. Agron., La Plata 103 (2): 191-195.

Con el objeto de determinar la metodología más adecuada para la mineralización de muestras de raíz de zanahoria (*Daucus carota* L.) se emplearon 5 técnicas por vía seca, que se compararon con el método estándar (vía húmeda). El ensayo se condujo bajo un diseño en bloques completos aleatorizados con 5 repeticiones. No se encontraron diferencias significativas en la evaluación de P y Ca, con respecto a los valores del método estándar, pero sí en la evaluación del contenido de K, calcinando a temperaturas inferiores a 550 °C, y en la determinación de Na a 600 °C. Se calcularon los coeficientes de correlación entre los elementos estudiados y el contenido de cenizas, encontrándose correlación altamente significativa en la mayoría de los casos. Los resultados obtenidos mostraron que las técnicas de mineralización probadas fueron efectivas para la determinación simultánea de los elementos minerales.

Palabras clave: zanahoria, contenido mineral, calcinación, digestión húmeda.

BIANCHINI, M. R. & G. A. EYHERABIDE. 1998. Ashing techniques in the determination of macronutrient contents in carrot root samples (*Daucus carota* L.). Rev. Fac. Agron., La Plata 103 (2): 191-195.

To choose a suitable method for the digestion of carrot root samples (*Daucus carota* L.) five dry ashing techniques were used and compared with the standard wet ashing method. The analysis of the data was based on a randomized complete block design, with five replications. No significant differences with the standard method for P and Ca determination were found but in K evaluation, employing the dry ashing technique at a temperature lower than 550 °C, and in Na evaluation at 600 °C significant differences were obtained. Correlation coefficients between the elements studied and ash content were assessed, and a significant correlation in most cases was found. The results obtained showed that ashing techniques employed were effective.

Key words: carrots, mineral content, dry ashing, wet ashing.

INTRODUCCIÓN

El conocimiento del contenido mineral de las plantas ha permitido establecer valores críticos que pueden afectar su desarrollo, producción y calidad (Underwood, 1962).

Las especies hortícolas, en particular, es-

tán sujetas a deficiencias minerales debido, en parte, a su rápido crecimiento, ciclo vegetativo corto e intensa producción (Haag & Ho- ma, 1969).

Para poder abordar el estudio de la composición mineral de especies hortícolas es necesario contar con una técnica adecuada

Recibido: 10/08/97. Aceptado: 26/05/98.

que permita la destrucción completa de la materia orgánica del tejido vegetal. Esta etapa puede efectivizarse mediante el empleo de dos técnicas: 1º) mineralización por vía húmeda; 2º) mineralización por vía seca. La primera tiene la desventaja de emplear reactivos cáusticos, peligrosos de manipular, que pueden contaminar las muestras y cuya ejecución requiere una atención constante (Gorsuch, 1959; Jackson *et al.*, 1981). La segunda no presenta los inconvenientes mencionados, permite el procesamiento simultáneo de muchas muestras con facilidad (Basson & Bohmer, 1972) y tiene alta precisión, salvo en la determinación de elementos volátiles (Adrian, 1973).

Aunque la metodología ha sido estudiada en detalle, no se pueden hacer generalizaciones en lo que respecta a la pérdida de elementos, lo que estaría íntimamente relacionado con el tipo de material biológico empleado (Gorsuch, 1959; Basson & Bohmer, 1972), el material de los crisoles empleados (Rowan *et al.*, 1982), y la temperatura y el tiempo de calcinación (Rowan *et al.*, 1982; Groove *et al.*, 1961).

Trabajando con distintos productos hortícolas a los que se les determinaron el contenido mineral, Prasad & Spiers (1978) comprobaron que los resultados obtenidos utilizando el método por vía seca eran similares a los logrados por vía húmeda.

El objetivo de este estudio fue elegir la metodología más adecuada para la mineralización de muestras de raíz de zanahoria (*Daucus carota L*) y evaluar el contenido de fósforo, sodio, potasio y calcio en seis cultivares difundidos en el sudeste bonaerense, en función de la época de cosecha.

MATERIALES Y MÉTODOS

La determinación del contenido de P, Na, K y Ca se efectuó sobre muestras de cultivares de zanahoria difundidos en el sudeste bo-

naerense. El material fue provisto por la Cátedra de Horticultura, de la Facultad de Ciencias Agrarias de Balcarce, UNMdP.

Se emplearon 5 técnicas de mineralización por vía seca y una por vía húmeda (Chen & Toribara, 1976) que se tomó como método estándar. El ensayo se condujo con un diseño en bloques completos aleatorizado con 5 repeticiones. Cada repetición se determinó por duplicado.

Los 5 métodos por vía seca propuestos involucraron diferentes temperaturas y tiempos de calcinación (Tabla 1) considerados, en general, adecuados para la destrucción de la materia orgánica sin pérdidas apreciables de elementos (Rowan *et al.*, 1982; Groove *et al.*, 1961; Nilson, 1987).

Para los tratamientos A, B, C, D y F se pesaron alrededor de 250 mg de muestra previamente secada y molida, que se colocaron en crisoles de porcelana. Éstos fueron llevados a la mufla, se elevó la temperatura gradualmente hasta llegar al valor requerido en cada método, y se dejaron el tiempo especificado en cada caso. Cada vez que se modificó la temperatura, se permitió la entrada de aire en la mufla. Los crisoles fueron retirados y colocados en un desecador y una vez que alcanzaron la temperatura ambiente, se pesaron y se determinó el contenido de cenizas. Éstas se trataron con 1 ml de ácido clorhídrico 4 F, se llevaron con agua destilada a un volumen final de 25 ml y se filtraron por papel

Tabla 1. Técnicas Empleadas en la Mineralización de las Muestras.

Ashing Techniques used.

Método	Tiempo de Calcinación (h)	Temperatura (°C)
A	5	500
B	10	500
C	5 + 5	400 - 500
D	5	600
F	5	550

de filtro S & S banda azul.

En el tratamiento E, se pesaron 100 mg de muestra seca y molida, y se digirieron con 2 ml de ácido nítrico al 65 % y 1 ml de ácido perclórico al 70 % . Una vez terminada la digestión, se llevaron a un volumen final de 100 ml con agua destilada.

En ambos casos las soluciones obtenidas fueron utilizadas en la determinación de P, Na, K y Ca. La determinación de P se efectuó por el método del azul de molibdeno, empleado por Tûsl (1972), usando un Fisher Electrophotometer II. Las determinaciones de Na y K se efectuaron por fotometría de llama, y la de Ca por absorción atómica, con un espectrofotómetro Jarrel Ash, usando la línea de 422,7 nm.

A la información obtenida se le practicó el análisis de la varianza. Las diferencias entre medias se detectaron mediante el test de Tukey.

Para estudiar la correlación entre los contenidos de los distintos elementos y el de cenizas, se utilizó el test de Spearman.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Utilizando el método D, mineralización a 600 °C durante 5 horas se encontró un conte-

nido de cenizas promedio significativamente menor ($P < 0,05$) respecto al tratamiento a 500 °C (método A), para el mismo tiempo de calcinación. En el resto de los tratamientos, en que se aumentó la temperatura o el tiempo de calentamiento respecto al método A, los contenidos encontrados fueron intermedios a los de los anteriormente citados. Esto coincide con Adams (1938, citado por Groove *et al.*, 1961), que estudiando temperaturas y tiempo requerido para remover todo el carbón de las cenizas de arvejas secas, encontró una reducción en el peso de las mismas al calcar entre 500 y 900 °C.

No se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) en la evaluación del contenido de fósforo entre las distintas técnicas empleadas. El valor más alto se encontró utilizando el método D, que coincidió con el menor contenido de cenizas. Se comprobó que hubo una correlación negativa ($P < 0,05$) entre el contenido de cenizas y el % de fósforo (Tabla 2).

Los valores encontrados en la evaluación del contenido de sodio por el método D fueron los más altos, y difirieron significativamente de los restantes ($P > 0,05$). Estos resultados son consistentes con la correlación negativa encontrada entre el contenido de cenizas y el % de sodio. Groove *et al.* (1961) encontraron que en algunas muestras biológicas, algo de car-

Tabla 2. Evaluación del contenido de cenizas totales, P, Na, K y Ca para las distintas técnicas empleadas. Ashes, P, Na, K and Ca values employing different techniques.

Tratamiento	% Cenizas	% P	% Na	% K	% Ca
A	16,74 a	0,224 a	0,31 a	3,94 a	0,32 a
B	14,19 ab	0,250 a	0,30 a	4,01 a	0,36 ab
C	10,72 ab	0,264 a	0,31 a	4,08 a	0,38 b
D	8,45 b	0,266 a	0,40 b	3,53 a	0,37 ab
E	—	0,228 a	0,25 a	3,29 a	0,34 ab
F	12,63 ab	0,247 a	0,29 a	3,57 a	0,35 ab

Valores, dentro de cada columna, seguidos de la misma letra, no difieren significativamente ($P > 0,05$)
 Values in the same column followed by the same letter are not statistically different ($P > 0.05$).

Tabla 3. Correlación entre el porcentaje de cenizas, Fósforo, Potasio, Calcio y Sodio.
Correlation between ashes, sodium, potassium, phosphorus and calcium percentage in carrot roots.

	% Cenizas	% Fósforo	% Potasio	% Calcio	% Sodio
% Cenizas	1				
% Fósforo	0,51 ** (50)	1			
% Potasio	0,13 NS (50)	0,51 ** (60)	1		
% Calcio	0,21 NS (50)	0,42 ** (60)	0,68 ** (60)	1	
% Sodio	0,36 ** (50)	0,54 ** (60)	0,59 (60)	0,64 ** (60)	1

Coefficientes de correlación r seguidos de ** significativos al nivel del 1 %. Los valores entre paréntesis indican el valor de N .

Correlation coefficients (r) followed by ** are significant at 1 % level. Numbers in brackets are N values.

bón estaba presente, aún después de 24 horas de calcinación a 550 °C. Probablemente calcinando a temperaturas menores a 600 °C no se logre la destrucción completa de la materia orgánica, quedando ocluidas en la matriz carbonosa cantidades variables de algunos elementos, o bien que tales condiciones no sean lo suficientemente enérgicas como para que estén en formas adecuadas para su posterior determinación.

El contenido de potasio obtenido por el método E fue significativamente menor ($P < 0,05$) al de los métodos A, B y C. Los bajos valores obtenidos por el método de mineralización por vía húmeda podrían atribuirse, según Prasad & Spiers (1978), a la precipitación de K como perclorato. La calcinación a mayor temperatura (D y F), mostró valores inferiores a los obtenidos por A, B y C, coincidiendo con los resultados reportados por Adams (1938, citado por Groove *et al.*, 1961) quien encontró pérdidas de óxido de potasio entre 500 y 900 °C. St John & Medglet (1941, citado por Groove *et al.*, 1961) observaron incrementos en la pérdida de potasio al aumentar la temperatura de 500 a 700 °C. Rowan *et al.* (1982),

estudiando la recuperación de K, encontraron que ésta disminuye cuando la temperatura supera los 550 °C.

Los porcentajes de calcio obtenidos empleando los métodos por vía seca no difirieron significativamente ($P > 0,05$) del método estándar. Los resultados encontrados mediante el método A difirieron significativamente ($P < 0,05$) de los correspondientes al método C (Tabla 1). Los valores más altos correspondieron a los métodos por vía seca, en donde la calcinación se efectuó a tiempos mayores a los utilizados en el método A.

Tanto para el análisis del contenido de P como para el de Ca, cualquiera de las técnicas de mineralización por vía seca ensayadas podrían emplearse, dado que no se encontraron diferencias significativas ($P > 0,05$) entre cualquiera de ellas y el método estándar E.

Para la determinación de K cualquiera de las técnicas por vía seca podría ser empleada, dado que no presentan diferencias significativas ($P > 0,05$) entre sí, y los porcentajes encontrados son superiores a los obtenidos por el método E, que probablemente estaría

subestimando el contenido de dicho elemento.

Adrian (1973) ensayó técnicas de destrucción de materia orgánica para la determinación de minerales en *Artemisia tridentata*, y encontró que los resultados obtenidos calcinando las muestras a 550 °C durante una noche fueron superiores a los obtenidos por vía húmeda.

Otra variable a tener en cuenta en el momento de elegir la metodología más adecuada para la mineralización, es la técnica que se utilizará para la cuantificación del elemento en cuestión. Adrian & Stevens (1977) comprobaron que la mineralización a 500 °C daba los mejores resultados en cuanto a la determinación de calcio por absorción atómica, con respecto a otras técnicas de destrucción de materia orgánica.

CONCLUSIONES

Todas las técnicas de mineralización por vía seca probadas resultaron igualmente efectivas para la evaluación conjunta del contenido de P, Na, K y Ca. Estas presentan como ventaja, frente a las de vía húmeda, requerir menor tiempo para su ejecución y permitir procesar muchas muestras simultáneamente.

BIBLIOGRAFÍA

- Adrian, W. J.** 1973. A comparison of a wet pressure digestion method with another commonly used wet and dry ashing methods. *Analyst*. Vol. 28, 213-216.
- Adrian, W.J. & L. Stevens Marilyn.** 1977. Effect of different sample preparation methods on the atomic-absorption spectrophotometric determination of calcium in plant material. *Analyst*, June. 1977, Vol. 102: 446-452.
- Basson, W.D. & R.G. Bohmer.** 1972. An investigation into more rapid procedures for preparing leaf-tissues samples for analyses. *Analyst*. 97: 482-489.
- Chen, P.S. Jr & T. Y. Toribara.** 1976. Microdetermination of P. *Clinical Chemistry*. Vol 24, N° 10, 1756-1759.
- Gorsuch, T. T.** 1959. Radiochemical Investigation on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials. *Analyst*. Vol. 84, 135-173.
- Groove, E. L., R. A. Jones & W. Mathews.** 1961. The loss of sodium and potassium during the dry ashing of animal tissue. *Analytical Biochemistry*. 2: 221-237.
- Haag, H.P & P. Homa.** 1969. Nutrição Mineral de Hortaliças.VIII. Deficiencias de macronutrientes en cenoura. *Anais de E.S.A. "Luiz de Queróiz"*. Vol XXVI : 131-136.
- Isaac, P. A. & W. C. Johnson.** 1975. Colaborative study of wet and dry ashing techniques for the elemental analysis of plant tissue by atomic absorption spectrophotometry. *Journal of the A.O.A.C.* Vol. 58 N°3.
- Jackson, K. W., L. Ebdon, D. C. Webb & A. G. Cox.** 1981. Determination of lead in vegetation by a rapid microsampling-cup atomic absorption procedure with solid sample introduction. *Analytica Chimica Acta*. 128: 67 - 74.
- Nilson, T.** 1987. Growth and chemical composition of carrots as influenced by the time of sowing and harvest. *Journal of Agricultural Science Cambridge*. 108, 459-468.
- Prasad, M. & M. Spiers.** 1978. Comparative study of ashing techniques for the digestion of Horticultural Plant Samples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* Vol. 26, N° 4, 824-827.
- Rowan, C. A., O. T. Zjlzek & E. J. Calabrese.** 1982. Dry ashing vegetables for the determination of sodium and potassium by atomic absorption spectrometry. *Analytical Chemistry*. 54: 149-151.
- Tûsl, J.** 1972. Spectrophotometric determination of phosphorus in biological samples after dry ashing without fixatives. *Analyst*. 97: 111-113.
- Underwood, E. J.** 1962. Trace elements in human and animal nutrition. Academic Press Inc. New York and London. 429 pp.