

CUANTIFICACION DE ELEMENTOS TRAZA Y TIERRAS RARAS EN SUELO Y CULTIVOS DE ARVEJAS PARA ESTUDIOS DE PROCEDENCIA POR ICP-MS

Giusto, Y.¹, Cuello, P.¹, Hernández, C.¹, Inga, M.¹, Badini, R.¹, Avendaño, M.², Balbo, R.³, Prieto, G.⁴, Sandrinelli, R.⁵, Martínez, M. J.⁵

¹MinCyT - Córdoba. CEPROCOR. Unidad de Espectroquímica. Córdoba. Argentina.

²Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales. Córdoba. Argentina.

³Universidad Nacional de Córdoba. Facultad de Ciencias Agropecuarias. Mejoramiento Genético Vegetal. Córdoba. Argentina.

⁴INTA. AER Arroyo Seco. Santa Fe. Argentina.

⁵INTA. EEA Manfredi. Laboratorio de Calidad de Granos. Córdoba. Argentina.

ygiusto@ceprocor.uncor.edu

RESUMEN

En la búsqueda del reconocimiento de características de calidad, autenticidad y fuente de origen para alimentos de relevancia comercial de origen agronómico, se ha intensificado el desarrollo de programas de monitoreo y herramientas que posibiliten la diferenciación geográfica de procedencia, controles de calidad y, autenticidad y trazabilidad del producto. Se pretende profundizar investigaciones de la composición mineral de distintos ambientes donde se siembra el cultivo de arveja en Argentina y realizar evaluaciones de correlación con el grano. El análisis multielemental por técnicas como ICP-MS permitió mostrar el perfil de metales/oides en granos de arvejas y muestras de suelo seleccionados de manera exploratoria para iniciar la búsqueda de asociaciones geográficas. Fueron analizadas muestras de arvejas de las variedades comerciales: Viper, Facon, Yams, Meadow y de suelos correspondientes para cinco localidades de diferentes provincias argentinas. Se determinaron 44 elementos traza presentes.

Palabras clave: asociación geográfica, perfil mineral, espectroscopía atómica, agregado de valor.

INTRODUCCIÓN

Existe una marcada valorización de productos tradicionales que están relacionados a una región productiva específica que tiene como ventaja la asociación con la calidad, las características nutricionales y organolépticas. Estas cualidades hacen a la diferenciación del producto asegurando un aporte significativo a las economías regionales.

El interés creciente de los consumidores por productos de origen vegetal y nuevos hábitos de consumo como veganos o vegetarianos, están favoreciendo el empleo de legumbres, ya que son una excelente fuente de proteína, al ser un alimento libre de gluten, la harina de estos cultivos se puede aplicar para mejorar el valor nutricional en productos aptos para celíacos.

La incorporación de las mismas en la dieta diaria proporciona una fuente rica y variada en proteínas, calorías, minerales y vitaminas (Millar et al., 2019)

La arveja (*Pisum sativum L.*) es un cultivo invernal amigable con el medio ambiente que además favorece la economía regional. Estadísticas del Instituto Nacional de Semillas (INASE) destacaron el incremento en la producción de legumbres en Argentina, dentro de las

cuales las arvejas verdes continúan siendo las variedades más producidas, alcanzaron un total de 67.264 hectáreas, sembradas en el año 2020/21, un crecimiento notorio comparado con las 48.220 hectáreas de la campaña 2019/20.

Según datos del INASE, en 2021 los productores locales declararon el uso de 40 cultivares diferentes de arvejas. La variedad más utilizada actualmente en el país es la arveja verde Viper que comprende el 58,78 % de la superficie. En cuanto a las arvejas amarillas, la variedad que más se sembró fue la Yams con una participación del 7,62% sobre el total sembrado.

En relación a las provincias que más producción de arvejas concentran, están: Buenos Aires, Santa Fe y Entre Ríos que representan el 69,24%, 20,77% y 8,20%, respectivamente del total de hectáreas productivas.

Las características geográficas y climáticas de las áreas de superficie de cultivo implican diferencias en la composición química del suelo y el agua empleada en el riego que pueden incidir directamente en el perfil elemental del grano cultivado. De igual manera, muchos factores pueden ejercer influencia en la composición del grano obtenido en distintas cosechas, desde la fluctuación en las condiciones climáticas, el valor de pH,

las prácticas de manejo de cultivo, competencia entre elementos de características semejantes, por ejemplo, Cd y Zn, Ca y Mg, hasta los procesos fisiológicos de redistribución de elementos captados por las raíces hacia otras partes de la planta (Silva et al., 2021), a semejanza con otros cultivos, el contenido elemental total puede provenir de dos fuentes principales, una natural, la composición superficial del suelo, formada por la meteorización de la roca madre y otra antropogénica a partir del aporte de productos químicos empleados en la práctica de manejo, la contaminación atmosférica del entorno o la contribución de aditivos y efecto de la maquinaria en los diferentes procesos.

El perfil de elementos inorgánicos minoritarios y traza e isótopos estables en granos representan un conjunto de información valiosa para diferenciar el origen de un alimento ya que las características geoquímicas regionales de suelo y agua empleada para su riego tienen una asociación directa con la incorporación de elementos traza en la estructura de tejidos vegetales, ya sea para cubrir requisitos de crecimiento en la planta como por respuesta de acumulación debido a su presencia y biodisponibilidad. Así, se ha demostrado para trigo argentino, que variables como Ca, Mg, B, Co, Zn, Mo, $\delta^{13}\text{C}$ o relaciones K/Rb, $^{87}\text{Sr}/^{86}\text{Sr}$ han exhibido correlaciones significativas entre grano de trigo y la matriz agua/suelo correspondiente (Natalia & Podio, 2015).

Por lo anterior expuesto la realización de estudios de denominación de origen, representa una herramienta de interés cada vez más creciente tanto para los productores como los consumidores, porque permiten establecer una asociación directa entre el producto y su origen geográfico. De esta forma realizar análisis multielementales en muestras de suelo y granos de diferentes cultivos por técnicas espectroscópicas de alta sensibilidad como la espectrometría de masas con fuente de plasma (ICP-MS), puede permitir establecer relación directa entre la vegetación y la composición de los metales biodisponibles en el suelo en donde crecen los cultivos (Borrás et al., 2015). Cabe destacar que la calidad química de los alimentos está influenciada por factores intrínsecos como la variedad y condiciones del cultivo y factores ambientales como el clima y composición del suelo. Todas estas variables están asociadas al origen geográfico e influyen en la trazabilidad y autenticidad (Sayago et al., 2018). Contar con este tipo de información permite proteger a los cultivos regionales en caso de identificar algún atributo de interés para poder así proteger y diferenciar el producto.

En la actualidad existe información respecto al comportamiento de los macro y micro nutrientes y su dinámica de absorción en la planta (Prieto, 2021), no

obstante es posible aportar nueva información o información complementaria a la ya existente, sobre todo a nivel de elementos traza y ultra traza en arvejas cultivadas en Argentina y de la biodisponibilidad en los alimentos, ya que pueden transferirse a la cadena alimentaria e incrementar aún más los riesgos para la salud humana (Galhardi et al., 2020). Así, se planteó como objetivo explorar la composición química de elementos traza, entre ellos los lantánidos, tanto para suelo como para los granos de arveja, con la finalidad de relevar/clasificar los elementos que puedan demostrar la posibilidad de discriminación del lugar de procedencia.

La captación relativa o facilidad en la que los elementos químicos son tomados desde el suelo y acumulados en los tejidos de plantas se puede expresar con el uso del Coeficientes de transferencia Suelo-Planta Tf o BR, relación de bioacumulación (Alloway, 2005). Este coeficiente varía en órdenes de magnitud, desde los metales relativamente no disponibles ($\text{Tf} < 0,001$) a los más fácilmente acumulables ($\text{Tf} 1-10$) y se expresa como un cociente entre la concentración total de un elemento para el tejido de la planta y el suelo superficial, $\text{Tf} = \text{M Planta}/\text{M Suelo}$.

En general, los elementos traza con bajos Tf son más propensos a ser deficientes, mientras que los elementos con altos Tf serían más propensos a provocar un problema de toxicidad. Dentro de los elementos que carecen de capacidad de acumulación o que son escasamente disponibles se encuentran el Ba, Ti, Sc, Bi, Fe y Se mientras que el Sb, Be, Li, V, Cr, Ni y Mn entre otros, presentan ligera acumulación; el Co, As, Cu, Sr, Hg, Mo, Pb, Zn mediana acumulación y Rb, Cs, B y Cd pueden ser acumulables de manera intensiva.

El relevamiento de metodología para la determinación de metales biodisponibles en suelos de manera de simular la potencial migración de elementos nutrientes y potencialmente tóxicos conduce a una vasta amplitud de posibilidades de métodos extractivos secuenciales y de etapa única y el uso específico de un método depende en gran medida de las características inherentes a cada tipo de suelo. Algunos autores han señalado que los protocolos de extracción secuencial presentan ciertas dificultades, como la selectividad de los reactivos empleados, las condiciones experimentales bajo las que se pueden ejecutar, la escasez de materiales de referencia, la dificultad de validación de los distintos métodos y la evaluación de su precisión y reproducibilidad (López Julián, 2002). Dentro del conjunto de métodos de extracción de una sola etapa se distinguen los que emplean solventes de extracción inorgánicos (CaCl_2 0,01 M, NaNO_3 0,1 M y NH_4NO_3 1 M) de los orgánicos como ácido etilendiamino tetraacético (EDTA), el ácido acético o el ácido dietilentriamino pentaacético (DTPA) (Dean, 2007). En el presente

trabajo se optó por emplear la extracción con NH_4NO_3 1 M, metodología ya aplicada en suelos de cultivo para otros granos y alimentos, como estrategia para relevar elementos presentes, rango, niveles de concentración presentes en suelo que se incorporan en niveles cuantificables en los granos de arveja.

MATERIALES Y MÉTODOS

El muestreo de suelos y de arvejas se realizó en cinco provincias de Argentina para las siguientes localidades: Bordenave - Bs. As., INTA Galvez - Santa Fe, Cerrillos - Salta, Victoria - Entre Ríos, y Capilla de los Remedios - Córdoba. Las variedades de arvejas que fueron seleccionadas en este estudio fueron: Viper y Facon de color verde; Yams y Meadow de color amarillo, correspondientes a la campaña 2017. Las muestras analizadas son representativas de cada procedencia, y fueron tratadas por triplicado en el caso de suelo y por duplicado para arvejas.

Patrones y Reactivos

Se emplearon para los ensayos: agua ultrapura (18,2 M Ω cm⁻¹) producida mediante un sistema de purificación (Q-Pod element, Millipore Integral A10), HNO_3 calidad subboiled purificado con sistema de destilación (Milestone Sub Pur), H_2O_2 30% (v/v) Merck Suprapure® y Nitrato de amonio p.a. Cicarelli. Las soluciones patrón múltielementales y de patrones internos se prepararon mediante combinación y dilución adecuada de la solución Inorganic Ventures IV-60407 Custom Solution de 100 mg/L (30 elementos) e individuales necesarias. Como control de calidad independiente se utilizó Multi Analyte Custom Grade Solution IV-STOCK-1643 Inorganic Ventures.

Granos de Arvejas

Las muestras de granos fueron molidas hasta obtener una harina de cada una de las variedades en estudio, se colocaron en doble bolsa, de papel y tr laminada y luego se mantuvieron congeladas hasta el momento de su análisis. De manera previa al tratamiento de muestra, se secó una porción de muestra a 40 °C durante 48 h.

Para la digestión por vía húmeda asistida por microondas se pesaron aproximadamente 0,8 g de cada muestra de harina en recipiente de teflón junto con el agregado de 1 mL de peróxido de hidrógeno 30 % y 5 mL de ácido nítrico *subboiled*. La digestión se realizó en dos etapas, una predigestión sin presurizar el sistema para minimizar la ocurrencia de reacciones exotérmicas y una digestión cerrada con aumento gradual de la temperatura.

El tratamiento por vía húmeda es una alternativa para matrices complejas que previene de la pérdida de

analitos volátiles y que se realiza en recipientes de polímeros fluorados de bajo nivel de trazas. Posteriormente una vez que las muestras se enfriaron fueron transferidas a tubos de polipropileno y enrasadas por pesada con agua ultrapura hasta un volumen final de 20 mL. Se realizaron 7 blancos de tratamiento y ensayos de recuperación.

Suelos

El muestreo de los suelos se realizó entre surcos, *pool* de 3 piques, el mismo día de la siembra con un barreno de torsión a una profundidad de 0 – 20 cm; estas muestras fueron secadas en estufa durante 24 h a 40 °C hasta peso constante, disgregadas y homogeneizadas en mortero, tamizadas y conservadas en recipientes de plástico limpio hasta su posterior análisis. La fracción biodisponible en suelos para el análisis elemental se realizó de la siguiente manera: se pesaron en un tubo 10 g de las muestras de suelo a las cuales se adicionaron 25 mL de una solución de nitrato de amonio 1 M, estas se agitaron mecánicamente durante 2 horas, luego se filtraron con membrana de 0,45 μm y finalmente se acidificaron con HNO_3 . Este proceso se hizo por triplicado para cada una de las localidades estudiadas. Se realizaron 7 blancos de tratamiento y ensayos de recuperación.

Análisis multielemental

Los elementos traza y tierras raras en suelos y arvejas se determinaron utilizando un espectrómetro de masas de plasma de acoplamiento inductivo con detección por espectrometría de masas (ICP-MS) Agilent 7800. Se resumen brevemente las condiciones instrumentales (ver **Tabla 1**). Se utilizó Ge, In, y Re como estándar interno para todas las determinaciones y se trabajó en dos condiciones diferentes para 44 analitos:

- **A)** Modo convencional para los elementos: 7Li, 9Be, 11B, 45Sc, 89Y, 111Cd, 118Sn, 121Sb, 133Cs, 139La, 140Ce, 141Pr, 146Nd, 147Sm, 153Eu, 157Gd, 159Tb, 163Dy, 165Ho, 166Er, 169Tm, 172Yb, 175Lu, 200Hg, 205Tl, 208Pb, 209Bi, 232Th y 238U.
- **B)** Celda de colisión/reacción con gas He para: 51V, 52Cr, 55Mn, 56Fe, 59Co, 60Ni, 63Cu, 66Zn, 71Ga, 75As, 78Se, 85Rb, 88Sr, 95Mo y 137Ba.
- La relación de óxidos y las especies de doble carga se mantuvieron por debajo del 2 %, requisito necesario para demostrar la verificación de desempeño instrumental. Todas las muestras de arvejas y suelo se diluyeron 10 veces con una mezcla de (HNO_3 1% HCl 0,5%) para las mediciones por ICP-MS.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar el análisis de la varianza de los suelos en las cinco provincias estudiadas se observa que la provincia de Salta se caracteriza por presentar diferencias significativas en Sb, As, Cu, V y Mo mientras que en la provincia de Santa Fe la presencia de Mn es de relevancia. Es importante mencionar que algunos

lantánidos analizados no mostraron asociación a los suelos investigados, debiéndose probablemente a la necesidad de empleo de otras técnicas para concentrar los mismos.

Tabla 1. Resumen de condiciones instrumentales de medición por ICP-MS.

Sistema de introducción muestra	Cámara de rocío de cuarzo, doble paso, Scott.
Nebulizador	MicroMist, 1 mL/min
Potencia de RF	1550 W
Tiempo de integración	0,1 a 0,5 s/ el analito
Lecturas por réplica	7
Caudal de gas de colisión (He)	4 L/min
Cono <i>skimmer</i> y de muestreo	Níquel

El análisis de conglomerado mostró dos grupos semejantes a partir del perfil mineral entre localidades,

por una parte Santa Fe, Entre Ríos y Córdoba y en el otro grupo Salta y Buenos Aires (ver **Figura 1**).

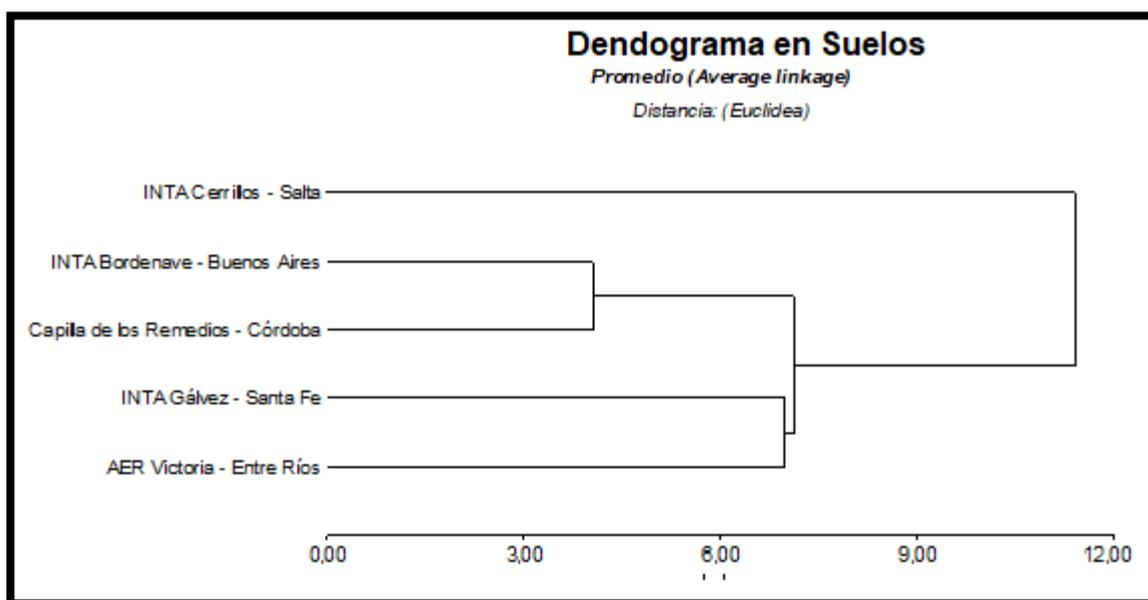


Figura 1. Dendrograma en Suelos.

En el análisis de componentes principales se puede observar que las localidades de Entre Ríos Santa Fe y Córdoba tienen un perfil elemental de minerales diferente a las localidades de Salta y Buenos Aires, que se observan a la izquierda del gráfico (v **Figura 2**).

Este análisis puede explicar el 61% de la variabilidad, a partir de la componente principal 1 y 2. Mediante la dispersión de las observaciones se encuentra similitud en el perfil elemental para Santa Fe y Entre Ríos y por otro lado entre Córdoba, Buenos Aires y Salta.

El perfil de elementos minerales en suelos se observa en **Figura 3 y 4**.

Arvejas

El análisis de la varianza para estudiar la influencia del ambiente en el cultivo demostró que para la provincia de Córdoba había diferencias significativas en Sm, Gd, Dy, para la provincia de Santa Fe en Zn y Rb y para Entre Ríos en As y Ba. Muy parecido al observado en el análisis de suelo expuesto anteriormente lo que es un indicador de como las arvejas utilizan los mismos nutrientes que están disponibles en el suelo. Se propone métodos químico métricos adicionales para confirmar dicha

relación y posible asociación. El Perfil mineral en arvejas

se puede ver en la **Tabla 2**.

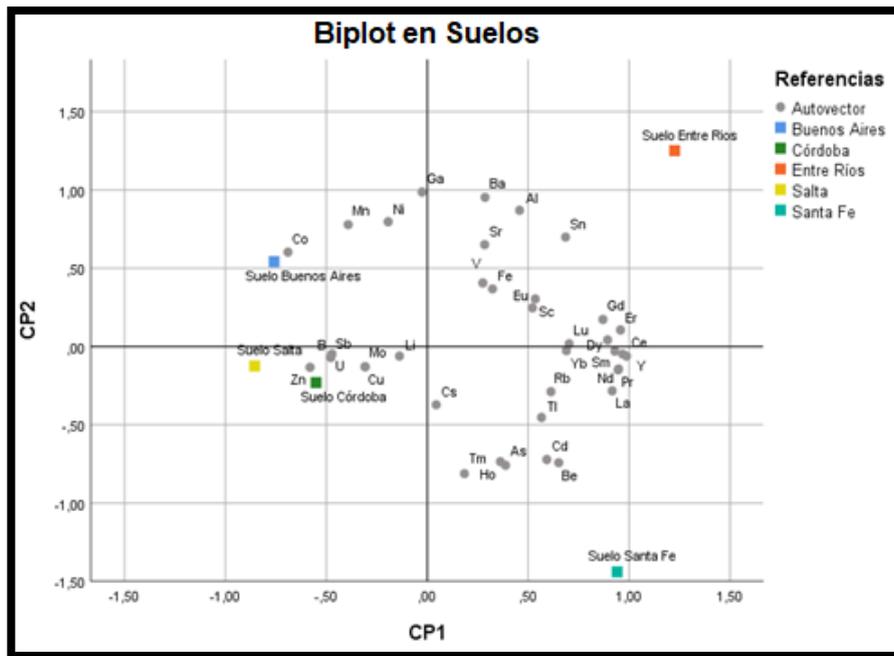


Figura 2. Biplot en Suelos.

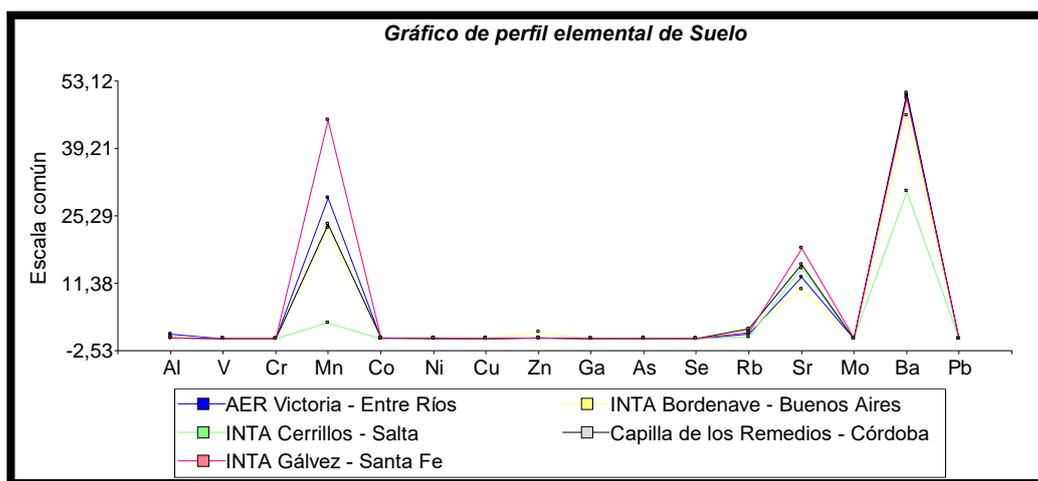


Figura 3. Perfil elemental de Suelo en mg/kg.

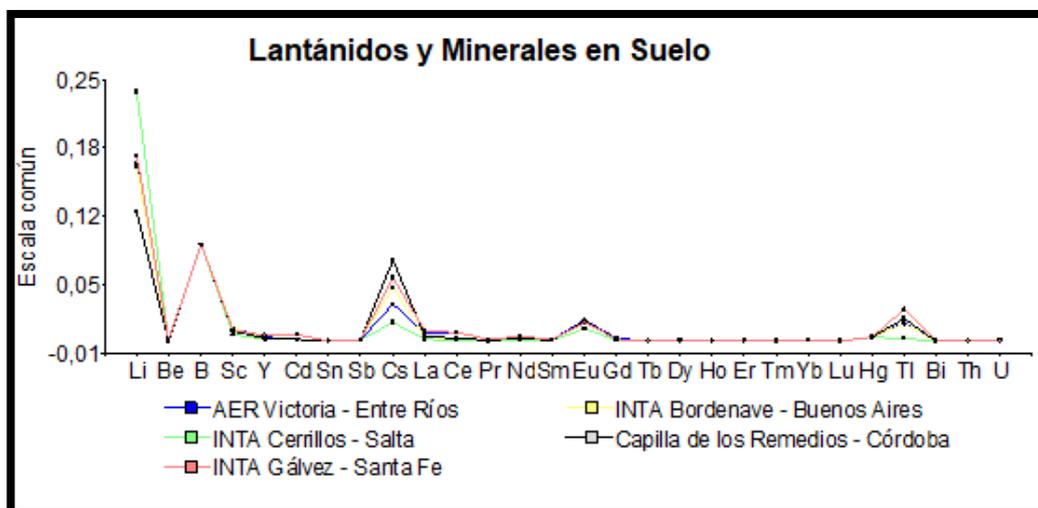


Figura 4. Lantánidos y Minerales en Suelo en mg/kg.

Tabla 2. Tabla con los promedios de minerales encontrados en arvejas en mg/kg.

Color	B	Mn	Fe	Ni	Cu	Zn	Rb	Ba
amarillas	9,719 ± 1,156	12,421 ± 3,041	55,602 ± 12,001	2,159 ± 1,96	8,187 ± 1,133	35,237 ± 12,426	3,305 ± 2,201	3,928 ± 1,323
verdes	10,400± 1,136	13,267 ± 3,462	57,719 ± 9,964	2,277 ± 2,008	8,925 ± 1,585	39,991 ± 11,512	3,519 ± 2,607	4,835 ± 2,141
LDM	0,158	0,023	2,263	0,045	0,091	0,158	0,007	0,011

El análisis de conglomerados en arvejas mostró dos grupos: El primero Salta, Buenos Aires y Córdoba y el segundo Santa Fe y Entre Ríos (**Figura 5**).

Los lantánidos al igual que en las muestras de suelos estudiadas mostraron muy poca diferencia significativa (**Figura 6**).

El análisis exploratorio de componentes principales en el eje cp1 explica el 70 % de la variabilidad y muestra asociaciones entre las arvejas que se cultivan en localidad por un lado de Santa Fe y Entre Ríos a la derecha del gráfico diferentes a las cultivadas en localidad de Córdoba y Buenos Aires. Mediante el eje de componentes principales cp2 podemos identificar a Salta en donde predominan Se y Mo (**Figura 7**).

Las muestras tienen diferencias en su perfil mineral principalmente atribuidas a la localidad y no asociada a la variedad o genotipo.

Se pueden destacar las siguientes asociaciones entre variedad y localidad que son de interés: Yams cultivo de arveja amarilla presentó diferencias significativas en la

localidad de Santa Fe para Cd, Cs, Cr y Rb y en la localidad de Entre Ríos para As. A su vez, la arveja amarilla variedad Meadow en la localidad de Santa Fe se caracteriza por el Cs y Rb.

En contraste a esto la variedad Viper color verde mostró en la localidad de Santa Fe: Cs, Ni y Rb, y en la localidad de Córdoba Gd, Dy y Se y en Entre Ríos As. A su vez la variedad verde Facon se destacó en la localidad Santa Fe en Cs, Zn y Rb, en la localidad de Córdoba en Se y en la de Entre Ríos por Eu e Yb.

CONCLUSIONES

Las arvejas amarillas mostraron diferencias en Sc. El resto del perfil elemental es muy parecido entre las cuatro variedades salvo diferencias como mencionamos antes asociadas al origen geográfico; los demás componentes son muy similares en todas las variedades que se estudiaron (ver **Tabla 2**).

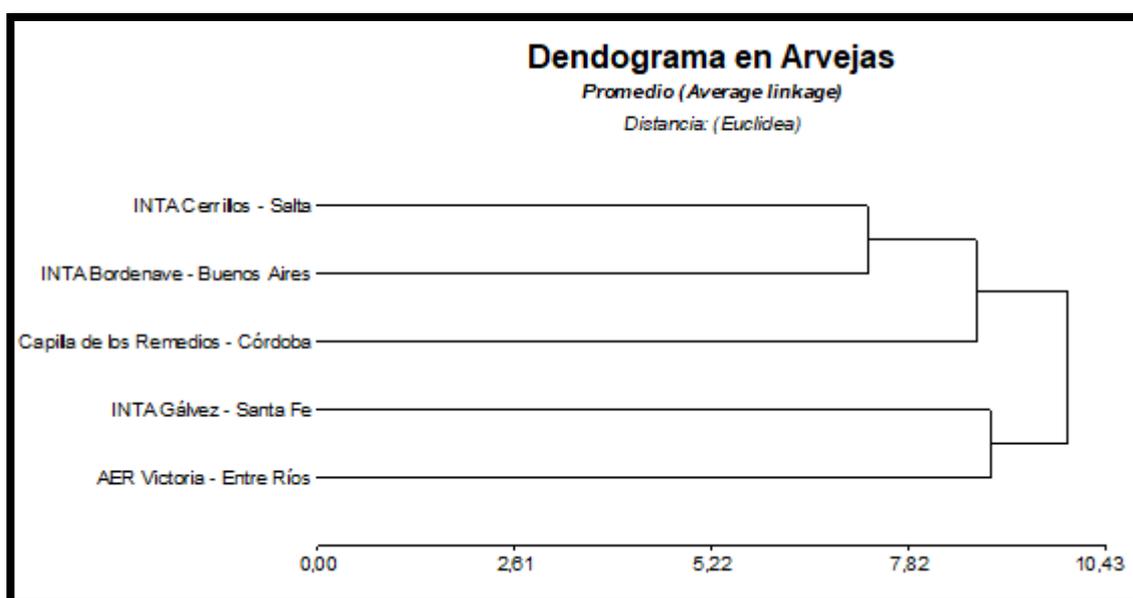


Figura 5. Dendrograma en Arvejas.

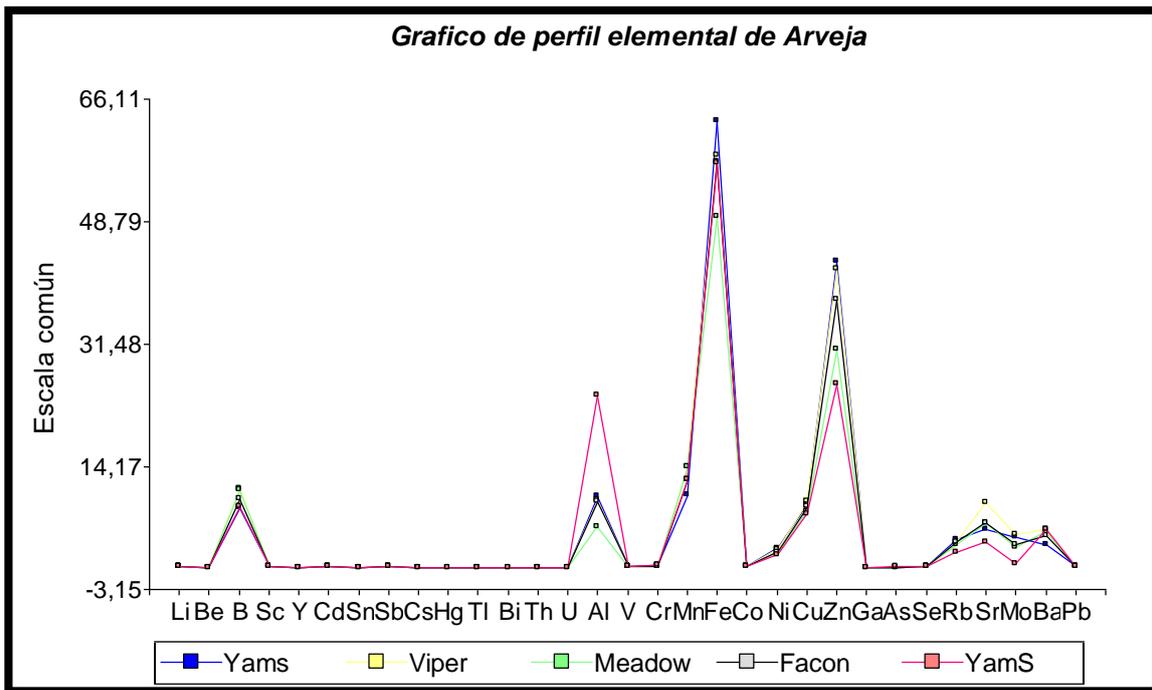


Figura 6. Perfil elemental de Arveja en mg/kg.

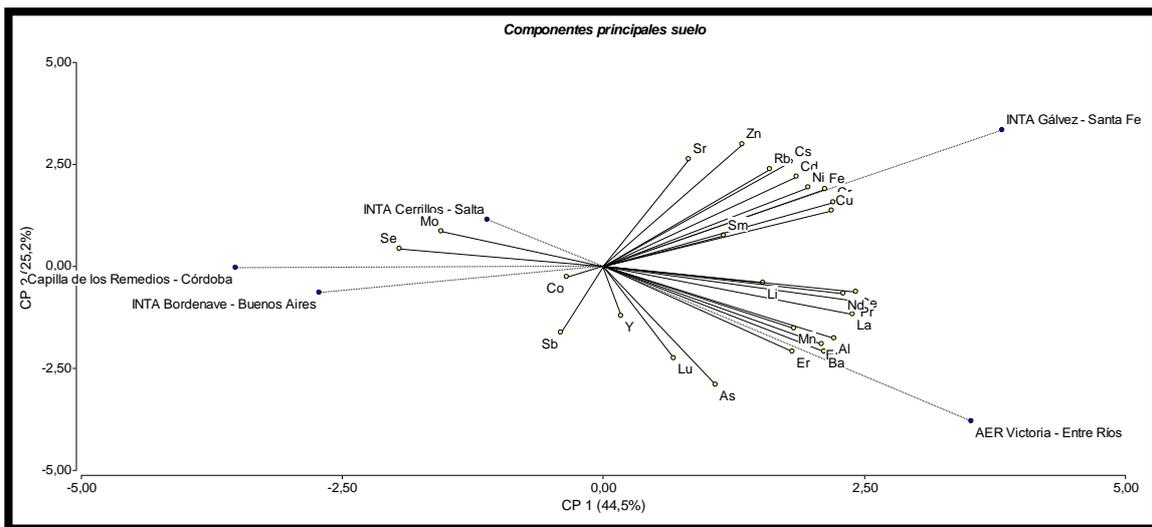


Figura 7. Componentes Principales Suelo.

Para el uso de lantánidos o elementos como Sr y Rb como marcadores de origen se requieren estudios futuros acerca de otras técnicas de pre concentración como uso de resinas de intercambio/columnas. O bien el empleo de diferentes métodos de extracción.

Análisis estadísticos de regresión por mínimos cuadrados (PLS) pueden ayudar a complementar mejor la información en relación a la interacción genotipo ambiente ya que permite combinación de componentes principales y análisis de regresión lineal.

El Rb es buen candidato a marcador de origen en la provincia de Santa Fe ya que se los identificó en las 4 variedades estudiadas en dicha localidad.

Las legumbres producida en Argentina son un producto que cumple con las condiciones de inocuidad y de calidad se convierten en un producto saludable y beneficioso para los consumidores ya que los metales tóxicos como As, Pb, Cd están por debajo de los niveles exigidos en el CAA.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo fue financiado por CEPROCOR - MinCyT Córdoba y Convocatoria PÍODO 2017, MinCyT Córdoba.

Se agradece en especial a María José Martínez y Gabriel Prieto por su colaboración.

BIBLIOGRAFIA

- Alloway, B. J. (2005). Bioavailability of elements in soils. *Essential of medical geology*.
- Borrás, E., Ferré, J., Boqué, R., Mestres, M., Aceña, L., & Busto, O. (2015). Data fusion methodologies for food and beverage authentication and quality assessment - A review. In *Analytica Chimica Acta* (Vol. 891, pp. 1–14). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.04.042>
- Dean, J. (2007). *Bioavailability, Bioaccessibility and Mobility of Environmental Contaminants*. *Analytical Techniques in the Sciences*.
- Galhardi, J. A., Leles, B. P., de Mello, J. W. V., & Wilkinson, K. J. (2020). Bioavailability of trace metals and rare earth elements (REE) from the tropical soils of a coal mining area. *Science of The Total Environment*, 717, 134484. <https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2019.134484>
- López Julián, P. L. M. C. (2002). Extracciones químicas secuenciales de metales pesados. *Aplicaciones en ciencias geológicas. Estudios geológicos. Estudios Geológicos*, 58, 133–134.
- Millar, K. A., Gallagher, E., Burke, R., McCarthy, S., & Barry-Ryan, C. (2019). Proximate composition and anti-nutritional factors of fava-bean (*Vicia faba*), green-pea and yellow-pea (*Pisum sativum*) flour. *Journal of Food Composition and Analysis*, 82. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2019.103233>
- Podio, N. S. (2015). Huella dactilar de trigo argentino: evaluación de la trazabilidad química y las características antioxidantes de trigo, harina y derivados.
- Prieto, G. M. (2021). Bases para el manejo nutricional del cultivo de la arveja (*Pisum sativum*, var *sativum*) en la Región Pampeana Norte. Tesis de Maestría, Universidad de Buenos Aires.
- Sayago, A., González-Domínguez, R., Beltrán, R., & Fernández-Recamales, Á. (2018). Combination of complementary data mining methods for geographical characterization of extra virgin olive oils based on mineral composition. *Food Chemistry*, 261, 42–50. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.019>
- Silva, B., Gonzaga, L. V., Maltez, H. F., Samochvalov, K. B., Fett, R., & Costa, A. C. O. (2021). Elemental profiling by ICP-MS as a tool for geographical discrimination: The case of bracatinga honeydew honey. *Journal of Food Composition and Analysis*, 96. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2020.103727>