

ANÁLISIS ELEMENTAL EN LOS ANILLOS DEL TRONCO DE ROBLE (*Quercus  
Humboldtii Bonpl*) UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE PLASMA INDUCIDA  
POR LASER (LIBS) Y ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)

DIANA CAROLINA ZARATE ACEVEDO  
BRIGITTE VANESSA BERNAL MOJICA

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
2013

ANÁLISIS ELEMENTAL EN LOS ANILLOS DEL TRONCO DE ROBLE (*Quercus  
Humboldtii Bonpl*) UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE PLASMA INDUCIDA  
POR LASER (LIBS) Y ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)

DIANA CAROLINA ZARATE ACEVEDO  
BRIGITTE VANESSA BERNAL MOJICA

Proyecto de Grado en Modalidad de Trabajo de Investigación como Requisito para  
Optar al Título de Químicos

Director  
ENRIQUE MEJIA OSPINO  
Químico Ph.D

UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER  
FACULTAD DE CIENCIAS  
ESCUELA DE QUÍMICA  
BUCARAMANGA  
2013

## DEDICATORIA

A Dios por permitirme alcanzar esta meta.

A mi querida madre y tía gracias por creer, confiar en mí y brindarme su apoyo incondicional.

*“ Elvia y Evelia Acevedo Serrano ”*

***Diana Carolina Zarate Acevedo***

Esta tesis está dedicada especialmente a Rosalba Mojica Marquez mi inseparable y amada madre a quien le debo mucho más que la realización de esta tesis.

***Brigitte Bernal Mojica***

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi madre y tía por ser el pilar fundamental en mi vida, por todo su amor, esfuerzo, dedicación, apoyo y sacrificio, por hacer posible cada uno de mis logros y metas. A mis hermanos Genny, Edgar y a mi cuñado German por su apoyo incondicional, amor y ejemplo, me han dado la fortaleza para seguir siempre adelante.

A mis amigos y compañeros de estudio Elizabeth, Viviana y Yeison por acompañarme y compartir juntos momentos inolvidables.

**Diana Carolina Zarate Acevedo**

El desarrollo de esta tesis no hubiera sido posible sin la guía y desinteresada ayuda de las siguientes personas: PhD. Enrique Mejía Ospino por querer hacer lo mejor para mí. El Ing. Jeberth Andrehy Bautista Bueno por estar ahí cuando lo necesite. El Dr. Rodrigo Torres Sáez, por su ayuda incondicional y excelente disposición. A mis amigas inseparables del LEAM por todos los gratos momentos que han compartido junto a mí; por último y no menos importante a mi familia a todos y cada uno de ellos son lo mejor y más importante en mi vida, los amo.

**Brigitte Vanessa Bernal Mojica**

Ademas agradecemos a nuestro director de proyecto el profesor Enrique Mejia Ospino por ser nuestro guia durante la realizacion de este trabajo, por su apoyo y dedicación. Al profesor Rafael Cabanzo por sus enseñanzas y su gran disposición en la realización de este trabajo. Al profesor Cesar Marín, de la Escuela de Biología de la Universidad Industrial de Santander por la donación de la muestra

de estudio y por la colaboración prestada. Gracias al Laboratorio de espectroscopia atómica molecular y la laboratorio de Instrumentación Química de la Universidad Industrial de Santander por prestarnos los equipos utilizados en el proyecto.

Agradecemos muy especialmente a la profesora Diana Padilla de la universidad Industrial de Santander por su ayuda, dedicación y enseñanzas para la finalización de este trabajo.

## RESUMEN

**TÍTULO: ANÁLISIS ELEMENTAL EN LOS ANILLOS DEL TRONCO DE ROBLE (*Quercus Humboldtii Bonpl*) UTILIZANDO ESPECTROSCOPIA DE PLASMA INDUCIDA POR LÁSER (LIBS) Y ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS) \*.**

**Autores:** Diana Carolina Zarate Acevedo\*\* Brigitt Vanesa Bernal Mojica\*\*

**Palabras claves:** LIBS, Análisis, Madera, Roble, AAS.

Se ha realizado un análisis multielemental cualitativo y cuantitativo de una muestra de roble (*Quercus Humboldtii Bonpl*), utilizando las técnicas de Espectroscopia de Plasma Inducido por Láser (Laser Induced- Breakdown Spectroscopy, LIBS) y Espectroscopia de Absorción Atómica (Atomic Absorption Spectroscopy, AAS). Donde fue estudiada la distribución y composición elemental sobre los anillos o zonas crecimiento a lo largo del radio del tronco del árbol; utilizando LIBS, se identificó a nivel superficial sobre la muestra elementos como: C, Mg, Si, Al, Ca, Zn, Fe, Na, Li, K, Sr, O, y N. Por medio de AAS fueron cuantificaron los elementos mayoritarios como: Mg, Ca, Fe, Al, K, Li, Zn, Si, Sr y Na. Con esta información, se estableció una distribución espacial sobre el radio de crecimiento del roble, a nivel cualitativo y cuantitativo; en donde se observó la influencia de las condiciones históricas de crecimiento en la distribución no homogénea y aparentemente aleatoria de los elementos en la muestra de madera. finalmente, fueron elaboradas curvas de calibración libs de los elementos analizados en las muestras de tejido vegetal utilizando las concentraciones obtenidas por AAS. Este trabajo permite destacar las ventajas de la utilización de LIBS como una técnica de análisis *in situ* en tiempo real, no invasiva.

---

\* Proyecto de grado.

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director Enrique MejiaOspino.

## ABSTRACT

**TITLE: ELEMENTAL ANALYSIS OF THE RINGS THE TRUNK OF OAK (*Quercus Humboldtii Bonpl*) SPECTROSCOPY USING LASER INDUCED PLASMA (LIBS) AND ATOMIC ABSORPTION SPECTROSCOPY (AAS).**

**Authors:** Diana Carolina Zarate Acevedo\*\* Brigitte Vanesa Bernal Mojica\*\*

**KEYWORDS:** LIBS, Analysis, Wood, Oak, AAS .

We performed a qualitative and quantitative elemental analysis of a sample of oak (*Quercus Humboldtii Bonpl* ) using techniques Induced Plasma Spectroscopy Laser (Laser - Induced Breakdown Spectroscopy, LIBS ) and Atomic Absorption Spectroscopy (Atomic Absorption Spectroscopy AAS ) . Where was studied distribution and elemental composition on the rings or zones growth along the radius of the tree trunk , using LIBS elements as identified at surface on the sample : C , Mg , Si, Al, Ca , Zn, Fe , Na, Li , K , Sr , O, and N. through AAS were quantified major elements such as Mg , Ca , Fe, Al, K , Li , Zn , Si, Sr and Na . Where the historical influence of growth conditions on the inhomogeneous distribution and seemingly random elements was observed in the sample ; With this information, a spatial distribution on growth within oak, a qualitative and quantitative level established timber . finally libs were prepared calibration curves analyzed elements in plant tissue samples using the concentrations obtained by AAS . This work allows us to highlight the advantages of using LIBS as a technique of in situ real-time analysis , noninvasive .

---

\* Proyecto de grado.

\*\* Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Director Enrique MejiaOspino.

## CONTENIDO

INTRODUCCIÓN .....	17
1. MARCO TEÓRICO .....	21
1.1. MADERA, CONCEPTOS GENERALES .....	21
1.2. ESPECTROSCOPIA DE PLASMA INDUCIDO POR LÁSER ( LIBS).....	24
1.2.1. ABLACIÓN LÁSER .....	26
1.2.2. EVOLUCIÓN TEMPORAL DEL PLASMA.....	27
1.2.3. MONTAJE LIBS .....	29
1.2.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS).....	29
2. ESTADO DEL ARTE .....	32
3. METODOLOGÍA .....	38
3.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA .....	38
3.2. ARREGLO EXPERIMENTAL PARA LIBS .....	40
3.3. ADECUACIÓN DEL PORTA-MUESTRA .....	42
3.4. METODOLOGÍA PARA AAS .....	42
3.4.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA. ....	42
4. RESULTADOS Y ANÁLISIS .....	45
4.1. ANÁLISIS CUALITATIVO .....	45
CONCLUSIONES .....	59
RECOMENDACIONES.....	61
BIBLIOGRAFÍA.....	62

## LISTA DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Parámetros instrumentales montaje LIBS .....	41
<b>Tabla 2.</b> Parámetros de análisis por AAS .....	43
<b>Tabla 3.</b> Líneas espectrales de todos los elementos hallados. ....	49

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Estructura básica de los troncos de los árboles. ( Gracia C <i>et al.</i> , 2011)	21
<b>Figura 2.</b> Esquema de la división celular del cámbium (Gracia C. <i>et al.</i> , 2011) ....	22
<b>Figura 3.</b> a). Imagen microscópica del corte trasversal de una madera, donde se distingue la madera temprana (color naranja) de la madera tardía (color blanco). b). Madera de poro en los anillos en una muestra de madera (Gracia C <i>et al.</i> , 2011).....	23
<b>Figura 4.</b> Vasos y poros conductores en las angiospermas (Gracia C <i>et al.</i> , 2011). .....	24
<b>Figura 5.</b> Etapas del proceso de ablación láser (Singh y thakur <i>et al.</i> , 2007). .....	27
<b>Figura 6.</b> Evolución temporal de la radiación del plasma. (Miziolek <i>et al.</i> , 2006). .	28
<b>Figura 7.</b> Montaje básico para sistemas LIBS. (Russo <i>et al.</i> , 2002) (Michael y Chave, 2007) .....	29
<b>Figura 8.</b> Esquema general AAS (Skoog <i>et al.</i> , 1992).....	30
<b>Figura 11.</b> Publicaciones LIBS de 1960 - 2014. Fuente: (Courtesy of M. Sabsabi) .....	34
<b>Figura 10.</b> Sección de muestra tomada de roble.....	39
<b>Figura 11.</b> Montaje Experimental LIBS (LEAM).....	40
<b>Figura 12.</b> Porta-muestra. ....	42
<b>Figura 13.</b> Soluciones obtenidas después de la digestión. ....	43
<b>Figura 14.</b> Curva de calibración para Mg, Fe y Ca respectivamente.....	44
<b>Figura 15.</b> Espectro LIBS en la región de 240 a 300nm.....	45
<b>Figura 16.</b> Espectro LIBS para en la región de 270 a 330nm .....	46
<b>Figura 17.</b> Espectro LIBS en la región de 270 a 370nm.....	46
<b>Figura 18.</b> Espectro LIBS en la región de 340 a 450nm.....	47
<b>Figura 19.</b> Espectro LIBS en la región de 480 a 600nm.....	47
<b>Figura 20.</b> Espectro LIBS en la región de 550 a 615nm.....	48
<b>Figura 21.</b> Espectro LIBS en la región de 740 a 790nm.....	48

<b>Figura 22.</b> Espectros LIBS en función de la posición radial en la región de 240 a 320nm.....	52
<b>Figura 23.</b> Espectros LIBS en función de la posición radial en la región de 390 a 450nm.....	53
<b>Figura 24.</b> Intensidad (a.u) vs Posición (cm), por LIBS para Ca, Mg y Fe. ....	53
<b>Figura 25.</b> Concentración (mg kg <sup>-1</sup> ) vs posición (cm) por AAS.....	54
<b>Figura 26.</b> Curva de calibración LIBS para el Magnesio. ....	56
<b>Figura 27.</b> Curva de calibración LIBS para el Calcio.....	57
<b>Figura 28.</b> Curva de calibración LIBS para el Hierro. ....	57

## LISTA DE ABREVIATURAS Y ACRÓNIMOS

LIBS	<i>Espectroscopia de plasma inducido por Láser.</i>
AAS	<i>Espectroscopia de Absorción Atómica.</i>
Cm	Centímetro (Unidad de medida)
K	kelvin (Unidad de medida de la temperatura)
LÁSER	<i>Light Amplication by Stimulated Emission of Radiation</i> (Amplificación de luz mediante emisión inducida de radiación)
LEAM	Laboratorio de Espectroscopía Atómica y molecular
mg/kg	unidad de concentración
mg/L	unidad de concentración
mL	mili-litro (Unidad de volumen)
Mm	milímetro (unidad de medida)
Nd:YAG	Granate de itrio-aluminio dopado con iones de neodimio
nm	nano-metro (Unidad de medida)
ns	nano-segundos(Unidad de medida del tiempo)

ppm	Partes por millón (unidad de concentración)
Q-switch	Conmutación en modo Q para generación de pulsos láser energéticos
$t_b$	<i>Gate pulse width</i> (Tiempo de registro de apertura o integración)
$t_d$	<i>Gate pulse delay</i> (Tiempo de retraso o retardo)
UIS	Universidad Industrial de Santander
W/cm <sup>2</sup>	Unidad densidad de potencia (energía por unidad de tiempo)
$\lambda$	Longitud de onda
$\mu\text{m}$	micrómetro (Unidad de medida)
$\mu\text{s}$	micro-segundos (Unidad de medida del tiempo)

## INTRODUCCIÓN

Desde los inicios de la ciencia, uno de los más importantes logros ha sido el acceso al conocimiento de lo que para el ser humano es imperceptible. Gracias a la ciencia, hoy es posible entender muchos de los procesos físicos y químicos a los que se someten las diferentes formas de vida que co-existen con el hombre, y es posible revertir y controlar los efectos de agentes externos a los que se enfrentan. El interés por la exploración del mundo vegetal ha llevado a hallazgos importantes sobre la forma de reproducción de algunas especies, formas de conservación, causas de extinción y edad de especies botánicas antiguas (Martín, M.Z. *et al.*, 2007).

En las últimas décadas, se ha venido acrecentando el número de investigaciones orientadas especialmente hacia el estudio del desarrollo, análisis y conservación de las especies de origen vegetal de las reservas forestales; motivado inicialmente por la comunidad científica y extendido a los diversos grupos de interés que componen la sociedad, con el ánimo de convertirse en un tema de interés público. Dicho interés obedece al proceso de concientización sobre la importancia de las llamadas reservas forestales, las cuales constituyen una fuente inagotable de oxígeno puro, ayudan la regulación de la contaminación del aire, ya que sirven como filtro de polvo, cenizas y otros contaminantes como el dióxido de carbono (Russell, Cutler, Walters, 2005); se ha demostrado que son las principales aportantes en la regulación hídrica, impidiendo el impacto directo de la lluvia contra el suelo y evitando su erosión (Ann For, 1996); adicionalmente, dependiendo del tipo de especie, tamaño y zona de crecimiento del árbol, se ha comprobado que pueden reducir la temperatura ambiental y generar resguardo a diversidad de especies (Colombia Forestal *et al* 2006).

Por medio de diversos tipos de análisis, se ha determinado que las características de la madera varían con respecto a su ubicación, clima, fertilidad del suelo, altura sobre el nivel del mar y que cada tipo de madera posee una estructura interna y una composición que las identifica. De acuerdo con Vignote Peña et al, estas diferencias entre una u otra, obedecen a dos tipos de efectos: los naturales relacionados con la aparición de nudos o ápices vegetativos que le dan un atractivo a la madera; y los no naturales, como los provocados por hongos, bacterias u organismos xilófagos que producen enfermedades en el tronco disminuyendo la calidad y valor comercial de las mismas. De manera que el conocimiento de la estructura interna y composición del tronco, contribuye a la detección y prevención de enfermedades forestales, para lo cual se requiere la realización de monitoreos periódicos durante su crecimiento y desarrollo.

Para monitorear la calidad de la madera es necesario determinar la composición elemental de la misma; se pueden determinar los cambios presentes en su estructura; además, de información sobre la composición y distribución elemental asociada a las etapas y ambiente en el que se desarrolló determinado árbol. Para llevar a cabo dichos análisis, tradicionalmente, se utiliza la espectroscopia de absorción atómica (AAS); no obstante, ésta técnica implica una serie de pre-tratamientos a la muestra, tales como la digestión ácida, que hace necesario el uso de reactivos y el consumo de tiempo, lo cual la convierte en poco práctica para el análisis de grandes extensiones; cuando se requiere información de manera rápida o se desea hacer un mapa químico sobre la madera (Mizolek *et al.*, 2006 ).

Una alternativa a dicha técnica química es la espectroscopia de plasma inducida por láser (siglas en inglés LIBS). Este procedimiento permite realizar un análisis multi-elemental, de carácter no destructivo, con tiempos cortos de muestreo y mayor capacidad de análisis. Adicionalmente, LIBS no requiere ningún tipo de pre-tratamiento de la muestra y puede llevarse a cabo *in situ*, a diferencia de AAS,

por lo cual se recomienda para realizar análisis de grandes extensiones, con resultados en tiempo real (Miziolek *et al.*, 2006), (Plata D *et al.*, 2010).

La motivación inicial del presente trabajo de grado surge a partir las necesidades de la industria maderera, ya que debido al surgimiento de nuevas enfermedades causadas por hongos y bacterias que afectan el crecimiento del árbol, la contaminación del suelo, el ambiente se hace necesario la implementación de técnicas analíticas más rápidas y eficaces para análisis elemental sobre la madera, que permita evaluar su utilización a nivel industrial.

Este trabajo de grado desea contribuir al sector en la investigación de análisis químicos, mediante el estudio elemental sobre una muestra de madera del tronco de roble (*Quercus Humboldtii Bonpl*) por medio de AAS y LIBS. El procedimiento empleado incluye la identificación de los elementos sobre el radio de crecimiento mediante LIBS y la posterior cuantificación de estos, utilizando AAS. Se pretende establecer una relación entre la intensidad de la señal LIBS y la concentración estimada por AAS, de este modo, mostrar que LIBS puede ser utilizada como una técnica de monitorización y control de la composición de la madera (Roger y Pettersen *et al.*, 2006).

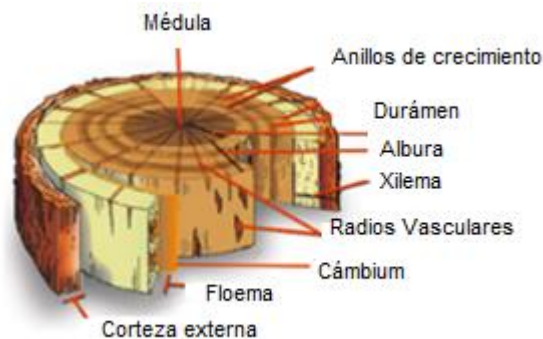
La investigación de la muestra de madera de roble, está distribuida en cuatro secciones. En el primer capítulo, incluye un breve resumen sobre trabajos de LIBS aplicado a muestras vegetales y maderas, para tener los antecedentes bibliográficos del trabajo. La primera etapa, consistió en la implementación de la técnica LIBS para el análisis de madera, se establecieron los parámetros de trabajo LIBS y se determinó cualitativamente la composición elemental de la muestra a lo largo del eje de crecimiento. En la segunda etapa se utilizó AAS para cuantificar la composición elemental de la muestra. Esto permitió establecer una relación entre la concentración observada por AAS y la intensidad LIBS de cada elemento, permitiendo la elaboración de curvas de calibración LIBS sin patrones.

Con este estudio, se determinó la presencia y concentración de: C, Mg, Si, Al, Ca, Fe, N, Na, Li, K, Sr, Zn y O, siendo algunos componentes mayoritarios de la madera, y Si, Li, Na, Sr, Al, considerados como contaminantes del medio. Se observa que la concentración de los elementos (AAS y LIBS), varía a lo largo de la muestra de una forma aleatoria, indicando cambios durante las diversas etapas de crecimiento del árbol, que podrían estar asociadas a cambios en los parámetros estructurales, ambientales y por factores antropogénicos (Martín, M.Z. *et al.*, 2007).

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1. MADERA, CONCEPTOS GENERALES

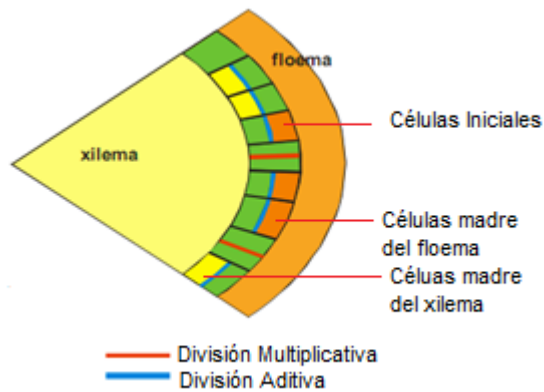
La madera es un material de origen vegetal, clasificado como un recurso natural que se obtiene del tronco de los árboles, es empleada industrialmente gracias a su estructura y composición. La estructura vegetal consta de una corteza externa e interna, cámbium, albura, durámen y médula vegetal (Figura 1). La corteza externa se encarga de darle protección al árbol; mientras que la corteza interna o floema, se compone por células vivas. La albura o xilema es la parte del tronco por donde circula la savia bruta desde las raíces hasta las hojas, se considera como la madera joven respecto al centro del árbol y limita con el cámbium provisto por células embrionarias encargadas de la formación de los anillos, permitiendo que el árbol sea más grueso. La albura muerta se convierte en el durámen que esta constituido por células de desecho y es considerado como madera muerta y rígida. La médula es una pequeña zona oscura formada de células vivas encargadas de transportar los nutrientes esenciales a todo el árbol.



**Figura 1.** Estructura básica de los troncos de los árboles. ( Gracia C *et al.*, 2011)

La generación de los anillos ocurre tras una división celular como se observa en la figura 2. En donde las células del xilema se dividen utilizando dos tipos de

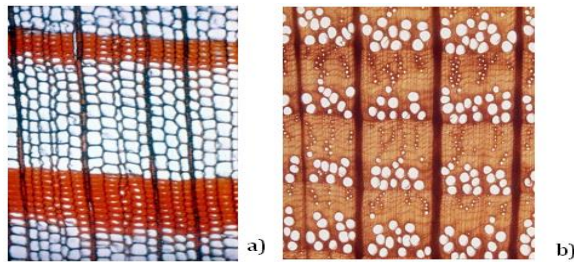
patrones: el primer patrón es la división celular multiplicativa (Franjas rojas), lo que permite que las células iniciales del cámbium se reproduzcan generando el crecimiento en el mismo; el segundo patrón es la división celular aditiva (Líneas azules), en esta división de cada dos de las células producidas por el cámbium una se convierte en célula madre del xilema o del floema y la otra se conserva como célula inicial. Estas células crecen más de diámetro que de altura, generando poros con diámetro aproximado entre 20-100  $\mu\text{m}$ , que son conductos verticales formados por varias células muertas empalmadas que transportan nutrientes a través de las paredes xilema. (Gracia C *et al.*, 2011)



**Figura 2.** Esquema de la división celular del cámbium (Gracia C. *et al.*, 2011)

La actividad periódica del cámbium, que en las regiones templadas es un fenómeno relacionado con las estaciones, da lugar a crecimiento en grosor de los anillos, tanto del xilema como del floema (en el floema el incremento no es fácilmente discernible). Si una capa de crecimiento representa una estación de crecimiento, esta recibe el nombre de anillo anual. Los cambios súbitos en el agua y otros factores ambientales pueden provocar la producción de más de un anillo en un año, estos anillos se denominan anillos falsos anuales. De esta forma, contando los anillos de crecimiento se puede estimar la edad de un árbol viejo, pero la estimación puede ser poco precisa si se incluyen los falsos anillos anuales (Peter y Raven *et al.*, 1992).

La madera es considerada como una superficie no homogénea, como ya se comentó, debido a que cada anillo presenta porosidades de diferentes diámetros causados por los cambios de estaciones climáticas, por tal motivo cada anillo tiene un fracción de madera temprana o de primavera, formada por traqueidas de mayor tamaño (color naranja en la figura 3. a ) y otra llamada madera tardía o de verano, donde se finaliza la formación del anillo, esta generalmente es causada por una limitación hídrica severa. En la figura 3 se pueden observar una microfotografía de los poros (Gracia C et al., 2011).



**Figura 3.** a). Imagen microscópica del corte transversal de una madera, donde se distingue la madera temprana (color naranja) de la madera tardía (color blanco). b). Madera de poro en los anillos en una muestra de madera (Gracia C *et al.*, 2011).

En la madera de roble (*Quercus Humboldtii Bonpl*), los poros están compuestos por agrupaciones de células formadas en la madera de primavera, en el resto del anillo (maderas tardías) hay menos porosidad. Sin embargo se encuentran fibras conformadas por los elementos que le confieren dureza y rigidez. Cuanto mayor es la proporción de la madera tardía, mayor es la dureza y densidad de la madera, este proceso es el resultado de la división celular en el cámbium, el cual define el grosor de cada anillo. Figura 4. (Gracia C *et al.*, 2011



**Figura 4.** Vasos y poros conductores en las angiospermas (Gracia C *et al.*, 2011).

Sin embargo, la composición química de la madera del roble no se puede definir con precisión, debido a que el contenido de lignina varía dependiendo del tipo de nutrientes absorbidos por la raíz, la ubicación geográfica, el clima y las condiciones del suelo (A. Uhl, Loebe K. *et al.*, 2001). Trazas de elementos se encuentran presentes en el interior de la madera, elementos como el calcio principal componente de las paredes celulares, nitrógeno, fósforo y magnesio son constituyentes de proteínas, aminoácidos y otros constituyentes de las células dispersas a lo largo de las matrices biológicas de la madera (Martin, M.Z. *et al.*, 2007).

## **1.2. ESPECTROSCOPIA DE PLASMA INDUCIDO POR LÁSER (LIBS)**

La espectroscopia de plasma inducida por láser (LIBS), permite realizar análisis elemental de muestras en cualquier estado de agregación, utilizando pulsos de láser como fuente de excitación. El haz láser impacta sobre la superficie, la energía del láser es transformada en calor, aumentando la temperatura de la zona de la muestra donde incide el haz; esto produce una rápida fusión o evaporación de la misma y crea una onda expansiva que, combinada con la interacción del láser, genera un plasma que provoca la extracción de una pequeña cantidad de material; éste proceso es conocido como ablación (Sturn, V. *et al.*, 2004). El plasma es considerado como un sistema heterogéneo en el que no hay

condiciones de equilibrio total (Ortiz, op.cit.p. 14). No obstante, es posible que en ciertas regiones del plasma las distribuciones de las propiedades se encuentren en equilibrio. Esta condición permite modelar el plasma asumiendo condiciones de equilibrio termodinámico (Ortiz, op.cit.p. 14).

El plasma emite radiación durante todo el tiempo. En los primeros instantes (hasta~ 10  $\mu$ s) la radiación del continuo es predominante, ésta radiación proviene de la interacción de los electrones libres con el campo electromagnético (*Efecto Bremsstrahlung*), producto de la recombinación de iones y electrones en procesos de excitación y por interacciones con el gas circundante (Eberhard y Werner *et al.*, 2004); posteriormente, se observa la emisión iónica, la de los átomos neutros y finalmente, las emisiones moleculares que corresponden a los procesos de recombinación con el entorno rodeante y el enfriamiento del plasma (Miziolek *et al.*, 2006). El estudio espectroscópico de esta radiación permite determinar diferentes parámetros del plasma y de la muestra, siendo esto considerado LIBS. Este proceso se puede resumir en: el proceso de ablación láser y el estudio espectroscópico de la radiación emitida durante el proceso de ablación, a continuación se explican brevemente.

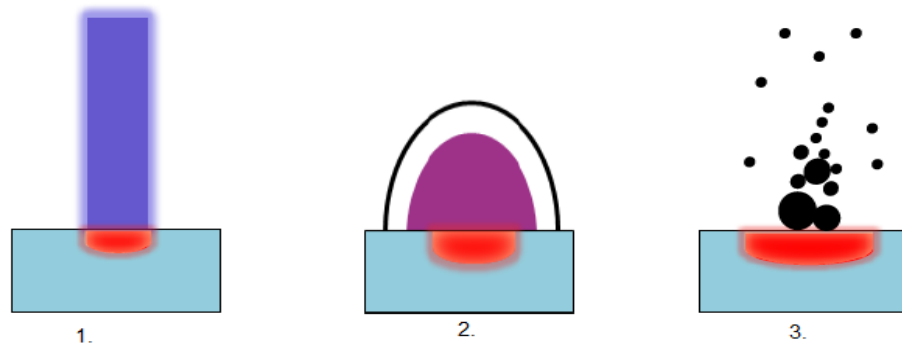
LIBS ha sido aplicada para la caracterización cualitativa y cuantitativa de materiales en productos y procesos en las más diversas áreas; es utilizada en algunas aplicaciones como una técnica alternativa o complementaria (E.K.L.St-Onge *et al.*, 2006) ( Mowery, M.D. *et al.*, 2002) (Samek, O. *et al.*, 2001) (Neuhauser *et al.*, 1999) (Yamaguchi *et al.*, 2005) y en otros casos como la técnica principal (Bustamante *et al.*, 2002) (Dockery *et al.*, 2003) (Arafat, A. *et al.*, 2013). Entre las ventajas de LIBS, se pueden mencionar su facilidad de uso, la versatilidad de análisis en prácticamente cualquier tipo de muestra y ambientes, no requiere procesos de pretratamiento de la muestra, la capacidad de muestreo y análisis multielemental altamente localizado es posible a gran velocidad e incluso en tiempo real, tiene una muy buena resolución espacial y en profundidad;. Todo

esto hace de LIBS una técnica analítica interesante cuando se requiere rapidez y facilidad de aplicación (Alvira, F. *et al.*, 2010) (Gibaek, k. *et a.*, 2013)

### 1.2.1. ABLACIÓN LÁSER

Se denomina ablación, al proceso mediante el cual, utilizando un haz láser como fuente de excitación y de extracción, se arranca material de la superficie de una muestra. Los procesos físicos involucrados son bastante complejos, los mecanismos de interacción y las propiedades del plasma dependerán en gran parte de los parámetros del láser: la potencia del láser, tipo de material, longitud de onda del láser, tamaño del spot y la duración del pulso, así como también las propiedades de la muestra cómo, el estado de agregación, temperatura, rugosidad, etc. Para pulsos láser del orden de nanosegundos y longitudes de onda en el rango Vis-IR (densidades de potencia  $< 10^8$  W/cm<sup>2</sup>), el mecanismo dominante es la vaporización térmica, donde la temperatura de la superficie del sólido se incrementa y ocurre la transición de sólido a líquido, de líquido a vapor y de vapor a plasma. Para pulsos láser de femtosegundos con densidad de potencia superior a  $10^{13}$  W/cm<sup>2</sup>, el principal mecanismo de ruptura de enlaces se da por explosión de Coulomb. (Singh y thakur *et al.*, 2007).

En la figura 5, se esquematiza, muy simplificado, el proceso de ablación. En la primera etapa ocurre la interacción del haz con la muestra; como se mencionó anteriormente, en la segunda etapa ocurre la expansión del plasma; que se rige por las propiedades iniciales del plasma y el medio de expansión. Las propiedades del plasma que afectan la expansión son la densidad electrónica y la temperatura. Finalmente, ocurre la condensación y formación de partículas y agregados ( las nano partículas se forman a partir de la condensación del vapor en un tiempo de  $10^{-4}$ - $10^{-3}$  s), ésta inicia cuando la pluma alcanza la temperatura de ebullición del material ( $\approx 3000$ K), enfriándose por la interacción con el medio circundante, hasta la temperatura de condensación del material  $< 2000$ K (Singh y thakur *et al.*, 2007).



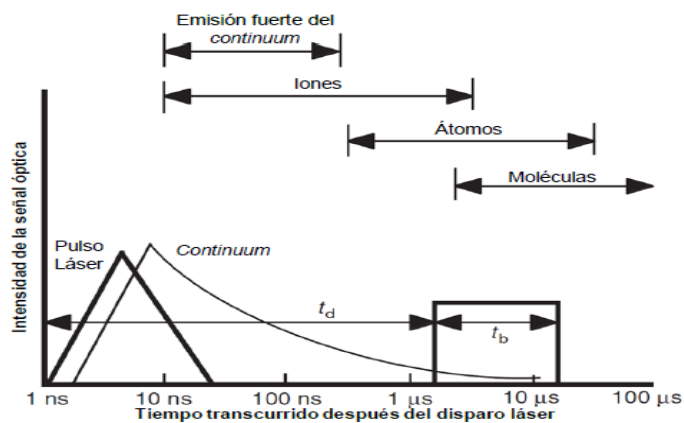
**Figura 5.** Etapas del proceso de ablación láser (Singh y thakur *et al.*, 2007).

### 1.2.2. EVOLUCIÓN TEMPORAL DEL PLASMA

Como ya se explicó, el proceso de ablación genera un plasma que emite radiación durante todo su tiempo de vida; la radiación electromagnética está formada por las múltiples líneas y bandas de emisión a longitudes de onda características de cada especie presente en el plasma; el análisis de las líneas espectrales permite obtener información de los parámetros del plasma y de la muestra es posible determinar la composición atómica fundamental (Uhl, A. Loebe, K. *et al.*, 2001).

Debido a que el láser es una fuente pulsada, el plasma generado tiene duración finita; el espectro resultante evoluciona rápidamente en el tiempo. Un esquema temporal de un plasma generado por láser se ilustra en la Figura 6. Inicialmente, la emisión está dominada por un continuo, que es causado por la de recombinación de los iones y electrones libres (*Efecto Bremsstrahlung*). Posteriormente, se observa también la emisión de las especies iónicas generadas tanto como por la interacción del láser con la materia como por los efectos de colisiones en la pluma. Cuando estas especies se des-excitan o recombinan, se detectan emisiones de las especies atómicas, que es cuando ha cesado la interacción de la pluma con el haz. Finalmente, se observan las emisiones de las especies moleculares generadas por las interacciones de la pluma con el medio circundante.

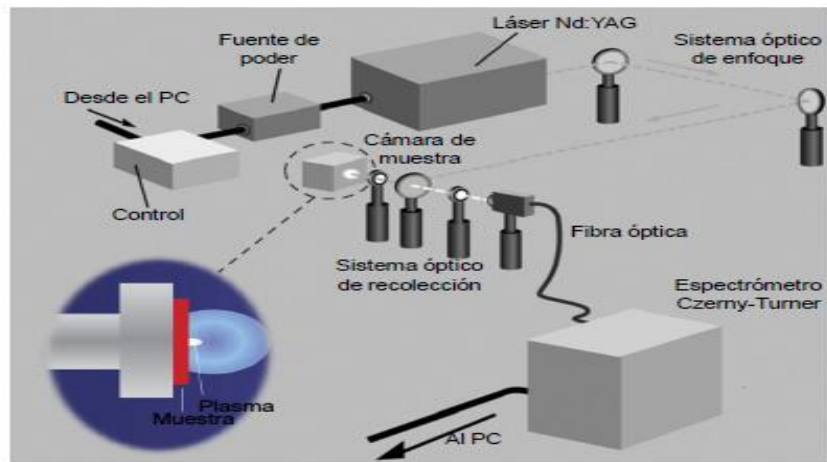
Si la radiación se integra durante todo el tiempo de vida del plasma, no es posible discernir las emisiones correspondientes a las diferentes especies presentes a diferentes tiempos de emisión, y puede enmascarar la emisión proveniente de las emisiones más débiles de la pluma. Por esta razón, los espectros LIBS son colectados resueltos en el tiempo, iniciando la colección un cierto tiempo (Tiempo de retardo, Delay  $t_d$ ) después del inicio de la interacción láser-materia, de tal manera que ha disminuido de manera significativa la emisión del continuo, pero la emisión de las especies de interés todavía están presentes. Los parámetros importantes para la detección resuelta en el tiempo, son el tiempo de retardo  $t_d$ , (Delay) definido como el tiempo entre el inicio de la formación del plasma y la observación y detección de luz emitida; y el tiempo de integración (Gate)  $t_b$ , que se define como el periodo durante el cual se recoge la información. Normalmente, se ajusta la observación del plasma un tiempo  $t_d$  después del pulso láser y durante un tiempo  $t_b$ , de tal manera que las emisiones de las especies de interés sean altas, permitiendo el estudio de las diversas especies integrantes del plasma (Miziolek *et al.*, 2006).



**Figura 6.** Evolución temporal de la radiación del plasma. (Miziolek *et al.*, 2006).

### 1.2.3. MONTAJE LIBS

El instrumental básico para un sistema LIBS consta de un láser, un arreglo óptico de enfoque y colección óptica, la muestra a analizar y un sistema de detección y registro. (Figura 7)

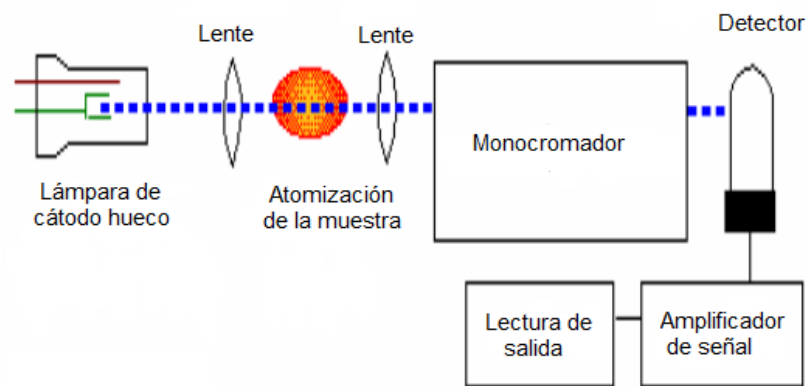


**Figura 7.** Montaje básico para sistemas LIBS. (Russo et al., 2002) (Michael y Chave, 2007)

### 1.2.4. ESPECTROSCOPIA DE ABSORCIÓN ATÓMICA (AAS)

La espectroscopia de absorción atómica (AAS) es un método de análisis elemental, utilizado para la detección y cuantificación de elementos químicos, particularmente elementos metálicos. La técnica de AAS se basa en método analítico rápido y sencillo, útil especialmente para un pequeño número de elementos en un gran número de muestras, con exactitud del orden de ppm. Para el análisis elemental, los compuestos se deben fraccionar en los átomos que los constituyen, esto se realiza por pulverización en una llama plana a alta temperatura. El proceso es sencillo, se hace incidir un haz de una longitud de onda, específica para cada elemento, producido por una lámpara de cátodo hueco, a lo largo del eje longitudinal de la llama, el haz está enfocado sobre un detector. Simultáneamente, la solución de la muestra es aspirada hacia el interior

de la llama, y dispersada, formando una niebla de gotas muy finas que se evaporan en la llama dando inicialmente una sal seca, que se convierte en vapor, la cual se disocia, por lo menos en parte, en átomos del elemento que se desea determinar. El haz interactúa con los átomos del elemento que son excitados en la llama, y es dirigido hacia un espectrofotómetro, donde por diferencia en la intensidad de señales es posible cuantificar el elemento presente en la solución. En la figura 8 se describe el montaje para AAS. (Cardenas y Yeffer *et al.*, 2005).



**Figura 8.** Esquema general AAS (Skoog *et al.*, 1992).

La AAS es una técnica que permite la determinación de un elemento, en una solución dada, sin tener que separarlo de otros. Sin embargo, existen efectos conocidos como interferencias, causados por procesos físicos o químicos, que pueden alterar los resultados. Las interferencias físicas son causadas por la viscosidad, la tensión superficial o la presión de vapor de las soluciones; estos factores disminuyen la velocidad de aspiración generando que una fracción menor de la muestra llegue a la llama. Por otra parte, las interferencias químicas pueden ocurrir por una disociación incompleta o por reacciones espontáneas de los átomos libres o radicales presentes en el medio ambiente.

La sensibilidad de la técnica de absorción atómica varía ampliamente de unos elementos a otros, estando del orden de las ppm para la mayor parte de

elementos. Para la cuantificación de cada elemento es necesario construir curvas de calibración, utilizando patrones con concentraciones conocidas, aprovechando la relación de forma lineal, en cierto rango, de la concentración y la absorbancia. Dicha relación permite conocer la concentración del elemento presente en la muestra (Cardenas y Yeffer *et al.*, 2005). En la determinación de concentraciones al nivel de trazas es necesario concentrar la solución a analizar antes de que pueda ser determinado dicho elemento.

## 2. ESTADO DEL ARTE

Las investigaciones basadas en la técnica LIBS se inician con el desarrollo del primer láser pulsado de rubí (Maiman, T.H. *et al.*, 1960), siendo inicialmente usado para estudios en física óptica. Entre los primeros trabajos utilizando láseres continuos, se puede mencionar el estudio de muestras gaseosas, sólidas y líquidas desarrollado por (Maker *et al.*, 1964) (Debras *et al.*, 1963), (Maiman, T.H. *et al.*, 1960), respectivamente.

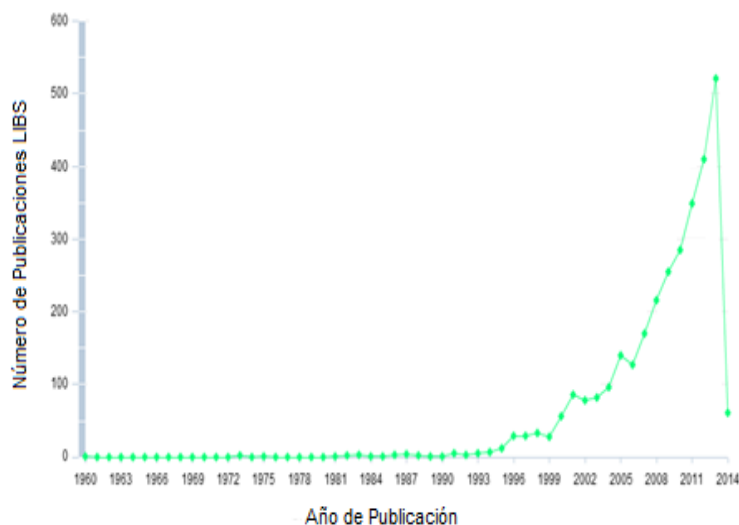
Como se comentó previamente, LIBS se basa en procesos de ablación cuyas ventajas y desventajas han sido discutidas. Los primeros estudios de interacción láser materia, se remontan a la década de los 70 (Walters, C.T. *et al.*, 1978), con el desarrollo de láseres pulsados en modo Q-switch se promovió el uso de esta técnica durante los siguientes años (Runge, E.F. *et al.*, 1964), (Geusig, J.E. *et al.*, 1964), (Scott, R.H. *et al.*, 1970), a tal punto que en la actualidad sigue siendo de gran importancia y amplia utilización (Radziemski, 1994; Song, 1997; Rusak, 1998, Hou y Jones, 2000, Mao *et al.*, 1995, Russo). No sólo se ha estudiado el proceso de interacción láser materia, también se han planteado modelos para describir el comportamiento de la pluma (Harith *et al.*, 1990).

En LIBS se ha llevado a cabo avances instrumentales, que han permitido en la actualidad contar con equipos compactos y comerciales para la investigación (Wallis *et al.*, 2000). A partir del desarrollo de sistemas portátiles, y sumado al avance de mejores sistemas de detección, ha sido posible ampliar el uso de la técnica en áreas donde se requiere realizar análisis *in situ* (Bernan *et al.*, 1993, Vadillo *et al.*, 1996; Bauer *et al.*, 1998). Otro adelanto en LIBS ha sido el uso de láser en diferentes modos de pulsado: Q-switch (Runge, E.F. *et al.*, 1964), pulso simple (Cremers, D.A. *et al.*, 1984) (Felske, A. *et al.*, 1972) y multipulso (Cabalin, L.M. *et al.*, 2010, Kamamoto, K.M. *et al.*, 1996), que permiten cambiar el modo de

excitación o entrega de energía a la muestra, implicando cambios en los resultados. Igualmente, fue perfeccionado el análisis remoto, conduciendo el haz por la fibra óptica (Cremers *et al.*, 1995, Lacarte, J.A. *et al.*, 2011), con sonda bajo el agua (Laserna, J. Giraldo, S. *et al.*, 2013), e incluso a nivel espacial (Alviz, 2009) (Wiens *et al.*, 2002). A partir de la década de los noventa (Figura 11) se observa un aumento en el número de publicaciones de estudios e investigaciones referenciando la utilización de LIBS como método de análisis elemental en diversos tipos de muestras.

Los factores que influyen en la sensibilidad y precisión de la técnica, han sido probados en investigaciones anteriores con sofisticadas técnicas estadísticas que se aplican para extraer señales, factores de confiabilidad, e incluso se han establecido métodos estadísticos que permiten utilizarlo en análisis cuantitativo sin el uso de estándares. (Gornushkin *et al.*, 1999; Uhl, A. Loebe, K. *et al.*, 2001; Winerforner, Castillo *et al.*, 1998).

A partir de la década de los noventa se observa un aumento en el número de publicaciones de estudios e investigaciones referenciando la utilización de LIBS como método de análisis elemental en diversos tipos de muestras. Lo anterior se evidencia en la Figura 11, destacando un aumento significativo de las mismas a partir de 1995.



**Figura 11.** Publicaciones LIBS de 1960 - 2014. Fuente: (Courtesy of M. Sabsabi)

Se ha demostrado a través del tiempo la capacidad de LIBS para realizar análisis elemental cualitativo y cuantitativo en un amplio rango de condiciones de análisis y de muestras: superficie sólidas (Blacic *et al.*, 1992; Kane *et al.*, 1992; Jaimes M *et al.*, 2005; Sabsabi *et al.*, 2000), líquidas (Villabona J *et al.*, 2006), gaseosas (Windom B.C. *et al.*, 2006), aerosoles (Poulain y Alexander, 1995), estudios en polímeros (Sattmann *et al.*, 1998); en diversos tipos de atmósfera y a ultra alto vacío (Theim *et al.*, 1994); para análisis a nivel industrial nuclear (Davies *et al.*, 1996); mapeo de superficies (Radziemski, 1994; Song, 1997; Rusak, 1998; Hou, Jones, 2000); análisis geológicos (Grant *et al.*, 1991; Zhang *et al.*, 1995); en diagnóstico, conservación y limpieza de obras de arte (Marquardt *et al.*, 1996, Anglos *et al.*, 1997, Georgiou *et al.*, 1998); y como se comentó antes, en la exploración espacial (Knight *et al.*, 2000, Wiens *et al.* 2002). No obstante, las nuevas áreas de estudio van hasta la seguridad industrial, ambiental y nacional y aplicaciones biológicas (F.C. De Lucia *et al.*, 2009). Entre las aplicaciones biológicas se pueden mencionar estudios de dientes humanos, huesos y tejidos de diversos tipos, utilizando la región ultravioleta del espectro (Pallikaris *et al.*, 1998, Samek *et al.*, 1999). A nivel ambiental se evidencia su aplicación en el estudio de

suelos (Eppler *et al.*, 1996), aplicaciones ambientales (Palleschi *et al.*, 1994); la detección de metales pesados (Theriault y Col, 1998) y contaminantes (Palleschi *et al.*, 1994); igualmente sobre muestras de polen, esporas y bacterias (M. Baudalet *et al.*, 2006); en el caso de tejidos y muestras ambientales, se ha aplicado LIBS con muestras procedentes de productos vegetales, árboles y maderas.

Entre las técnicas comúnmente utilizadas para los análisis de tejido vegetal se destaca la *espectroscopia de absorción atómica* (por sus siglas inglés, AAS), cuyos resultados son exactos y confiables y por tanto pueden ser utilizados como patrón comparativo con otras técnicas (Mtunzi, F. *et al.*, 2012). Sin embargo, AAS presenta algunas limitaciones tales como la necesidad de preparación de la muestra para que se adapte al equipo, aun cuando su uso se restringe a determinados escenarios. Teniendo en cuenta estos antecedentes, LIBS se presenta como una técnica alternativa y eficaz en el análisis elemental de especímenes botánicos. Como ya se comentó, las técnicas usadas para el análisis y caracterización en muestras vegetales suelen ser tediosas y pueden ocasionar pérdida y desnaturalización de la muestra, así como el uso de reactivos nocivos y contaminantes. LIBS permite recolectar información sobre la distribución espacial de la superficie a analizar, permitiendo trazar la evolución temporal de la concentración y acumulación de compuestos en áreas específicas de la muestra (Mizolek *et al* 2006). Por otra parte, la utilización de LIBS en el análisis elemental de muestras orgánicas y biológicas de tipo vegetal, proporciona ventajas significativas comparadas con otras técnicas espectroscópicas, incluso al combinarlas (Heuser D. *et al.*, 2004).

Entre las diversas aplicaciones de LIBS para análisis de material vegetal, es posible mencionar la clasificación de los aceites vegetales, por medio del análisis de la composición elemental de ácidos grasos saturados, haciendo uso de las bandas elementales del C. (Mebess *et al.*, 2013). El uso de LIBS para análisis de

material vegetal y plantas de composición desconocida, demostró que con muy poca preparación de la muestra, por ejemplo, trituración de las hojas hasta fase polvo, se obtienen resultados analíticos cuantitativos coincidentes con las técnicas habituales como ICP-MS (Mizolek *et al.*, 2006). Del mismo modo, se ha reportado el uso de LIBS junto con LA-ICP-MS, para el estudio de la distribución de Pb y Mg en las hojas de lechuga (*Latuca sativa*) (Kaiser *et al.*, 2007). Igualmente, se ha empleado para determinar la distribución y concentración de Ag y Cu en la estructura de las venas de las hojas y en plantas de girasol (*Helianthus annuus L*); se encontraron altos contenidos de Ag cerca a la raíz y una distribución uniforme de Cu dentro del tallo. (Kriskova *et al.*, 2008). Otros estudios realizados por medio de LIBS y LA-ICP-AES, identificaron la distribución de Pb, Mg y Cu en hojas de girasol, con una resolución lateral de 200µm y a su vez compararon los resultados con AAS y cromatografía de capa fina, concluyeron que LIBS es una técnica de análisis multi-elemental que permite realizar un mapeo general del área de la muestra, y obtener resultados similares a las técnicas convencionales, minimizando tiempo y esfuerzos en la preparación de la muestra ( Kaiser *et al.*, 2009).

Otros estudios utilizan LIBS para realizar análisis en hojas de manzana, melocotón, espinacas, tomate, agujas de pino y musgo; se detectó y cuantificó la presencia de elementos como: Al, Ca, Cu, Fe, Mg, Mn, P, y Zn en un rango de concentraciones de 0.1 a 25 ppm (Mizolek *et al.*, 2006). Igualmente, se ha utilizado fs-LIBS y ns-LIBS para la determinación y mapeo espacial *in situ* de calcio y la distribución de éste en la periferia de las células de la hojas y el tallo de plantas (Assion *et al.*, 2003). LIBS también se ha utilizado para el estudio de la distribución espacial de hierro en hojas de maíz seco y fresco (*cornus stolonifera*), concluyendo técnica permite hacer un mapa de la distribución de Fe sobre la planta, con una alta resolución espacial, sin causar daño en las células vegetales (Samek *et al.*, 2006). En esta misma línea de investigación, se encuentra un estudio interesante sobre el uso de LIBS para la determinación *in situ* de Si en

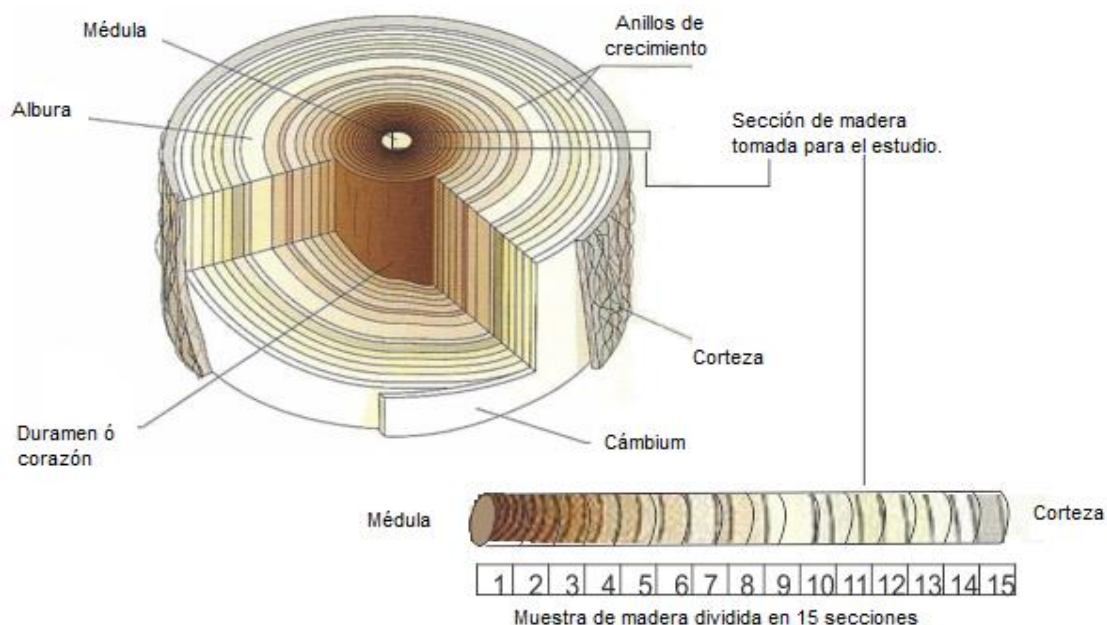
hojas, vainas y tallos de hierba de Bermuda (*Cynodon dactylon*), se determinó que las concentraciones de Si aumentan en las láminas de las hojas y disminuye en las vainas, este resultado fue corroborado con el número de densidad de fitolitos depositados en las muestras (Chauhan *et al.*, 2011). De igual modo, LIBS ha sido empleada para la determinación y cuantificación de Ca, Mg, K, P, Cu, Mn y Zn en pastillas de hojas de 17 variedades de plantas de caña de azúcar, dando resultados similares a los obtenidos con ICP-AES. ( Marcos de Silva *et al.*, 2013). En maderas pueden mencionarse los estudios realizados utilizando LIBS para identificar agentes nocivos causados por la manejo de fungicidas e insecticidas, a través de la caracterización de los elementos presentes en dichas sustancias como: Cu, Cr, B, As, Pb, Hg (Uhl, A. Loebe, K. Kreuchwing, L, *et al.*, 2001); así mismo se han realizado estudios en combinación con otras técnicas para la detección de elementos tóxicos en residuos de madera como: Cr, Ar, Cu y Pb. (Mizolek *et al.*, 2006). También, se ha usado LIBS para realizar análisis cuantitativos en muestras tratadas con conservantes inorgánicos que contenían Cu, Cr, B, As, Pb, Hg (A. Uhl *et al.*, 2001); y para realizar la clasificación de muestras de madera tratadas con CCA (Chomate Cooper Arsenate) (Gething *et al.*, 2009), (Moskal *et al.*, 2002), (Gabriele *et al.*, 2004). Los análisis sobre muestras de madera demostraron que LIBS en combinación con métodos multivariados basados en PCA y PLS se podrían utilizar para analizar la composición química de los anillos de crecimiento anuales de árboles y correlacionarlos con los parámetros externos, como el cambio en el clima, los bosques y los trastornos relacionados con las actividades humanas (Martin *et al.*, 2007).

### 3. METODOLOGÍA

#### 3.1 SELECCIÓN DE LA MUESTRA

Se analizó la composición elemental de un tronco roble (*Quercus Humboldtii Bonpl*), ubicado en el municipio de Arcabuco (Boyacá). El tronco tiene un diámetro de 69cm, una altura de 15m y una edad estimada de 150 años. Del tronco de este árbol se tomó un cilindro de muestra de 15cm de largo y de 5mm de diámetro. (Figura 10)

El estudio se llevó a cabo analizando secciones transversales en la muestra de roble; la concentración elemental se midió a lo largo del radio del tronco dejando la concentración en función de la posición radial sobre el tronco del árbol, tomando una serie de anillos concéntricos de 1cm de radio. Estas estructuras están asociadas a intervalos de crecimiento de aproximadamente 10 años (A.Uhl, *et al.*, 2001). Se tomaron zonas de crecimiento en intervalos fijos debido a que para la muestra no se pudo determinar ni diferenciar claramente cada anillo del tronco, y menos que cada anillo corresponda a un periodo de crecimiento definido. En general, el crecimiento de los anillos y la estructura de la madera permiten considerar como la parte más antigua del árbol la zona central de la médula (muestra 1) y la parte exterior cerca a la corteza como la zona más nueva (muestra 15).



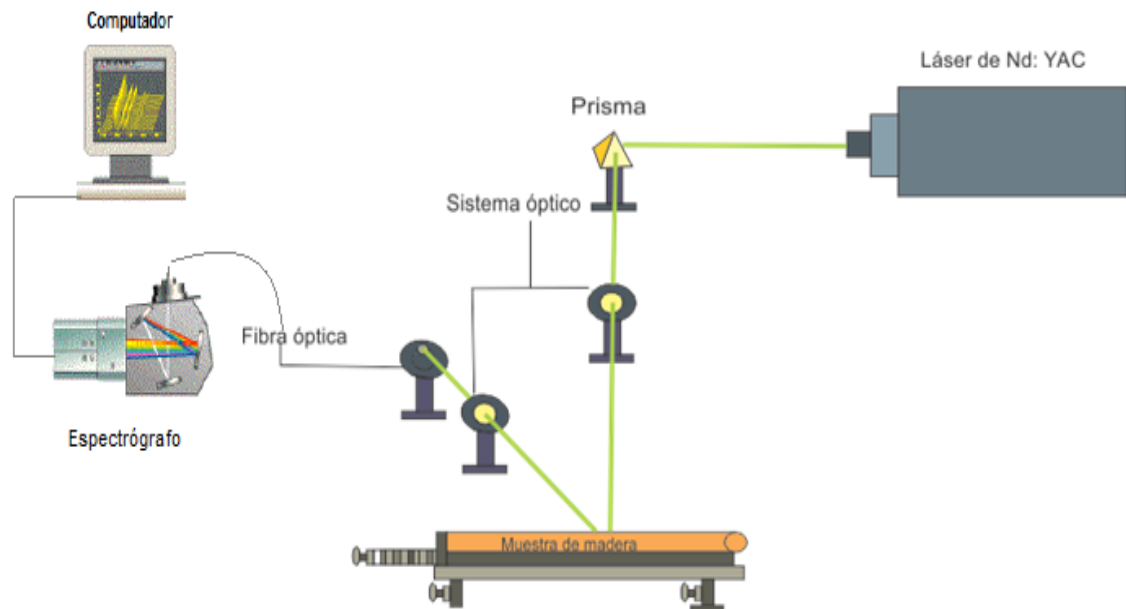
**Figura 10.** Sección de muestra tomada de roble.

Para el análisis LIBS, se asumió que el tronco estaba constituido por 15 zonas (se estimó un total de 10 anillos por centímetros), uniformes y de igual tamaño, de 1 cm de longitud, desde la zona más interna del tronco hacia la corteza. En cada zona, se evaluó un punto. El espectro obtenido para cada zona, corresponde a una acumulación de 10 pulsos láser, separados 1 mm entre ellos. Cada una de las regiones espectrales estudiadas, se denominan ventanas espectrales.

Inicialmente, se utilizó LIBS para un análisis cualitativo de la muestra; una vez identificados los elementos de interés se procedió a un análisis cuantitativo con AAS, el protocolo de trabajo del análisis cuantitativo se explica en la siguiente sección.

### 3.2. ARREGLO EXPERIMENTAL PARA LIBS

El montaje experimental se muestra en la figura 11. Consta de un láser de Nd:YAG operando en el segundo armónico (532 nm), en modo Q-switch, en single shot, un sistema óptico de guiado del haz láser y colección de señal del plasma, un porta-muestra y un sistema de detección y procesador de datos.



**Figura 11.** Montaje Experimental LIBS (LEAM)

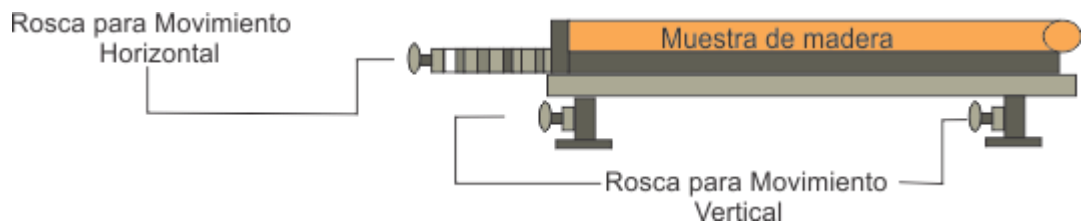
Los análisis fueron realizados a temperatura ambiente en el laboratorio de espectroscopia atómica y molecular (LEAM). Así como los parámetros experimentales fueron optimizados en función de la mejor relación señal ruido, sobre la madera. Los parámetros seleccionados para el análisis, junto con las características del sistema experimental se resumen en la tabla 1.

**Tabla 1.** Parámetros instrumentales montaje LIBS

<b>INSTRUMENTACIÓN MONTAJE LIBS</b>	
<b>Componentes del láser y arreglo óptico</b>	
Láser	<i>Quanta-Ray INDI-Series pulsed Nd. YAG, HG version</i>
Duración Pulso del laser	8[ns]
Longitud de onda	532nm
Óptica	Lentes plano-convexa: distancia focal de 19,2[cm]
	Prisma triangular de 60° (Edmund Optics)
	Fibra óptica de 400[μm] (de diámetro óptico)
<b>Componentes Espectroscópicos</b>	
Anchura de la rejilla	10[μm]
Energía del Láser	60-62mJ
Espectrómetro	Tipo Czerny-Turner (Andor Technology, Shamrock SR-500i)
Rejilla de difracción	1200 [grooves/mm].
Resolución de pixel	0,29nm/pixel
Detector	Camara tipo intensified charge-coupled device (ICCD, Andor Technology, iStar DH-720)
Rango de longitud de onda de trabajo	200-800 [nm]
Temperatura del detector	-10°C
<b>Adquisición de datos</b>	
Software	<i>Andor SOLIS(T) Software Packages (Andor Technology)</i>
Modo de adquisición	Acumulado
Número de espectros acumulados	10
Modo de disparo	Externo y activación manual mediante <i>Q-Switch single shot</i>
Tiempo de exposición por espectro	0,024[s]
Tiempo de retraso:	1μs

### 3.3. ADECUACIÓN DEL PORTA-MUESTRA

En la figura 12 se observa la muestra de roble sobre el porta-muestras. Se diseñó un sistema de riel, el cual permite desplazar la muestra horizontal y verticalmente; es decir, permite fijar la posición radial y la altura de la muestra, de tal manera que el haz sea enfocado sobre la superficie de la madera.



**Figura 12.** Porta-muestra.

### 3.4. METODOLOGÍA PARA AAS

#### 3.4.1. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.

Las secciones de muestra de roble, se limpiaron con acetona eliminando cualquier tipo de contaminante superficial. Se determinó la masa del segmento, cada una, con longitud de 1cm. Esta muestra fue adicionada 10 ml de HNO<sub>3</sub> (ácido nítrico) al 36%, el cual permite realizar la digestión o transformación de la muestra en forma líquida.

La digestión se llevó a cabo en un digestor de microondas (The Microwave Accelerated reaction System) modelo MARS, disponible en laboratorio de Química Ambiental de la Universidad Industrial de Santander. Los parámetros de operación para el tratamiento de material vegetal corresponden al protocolo (Plant Tissue1-Hp500) a 300 PSI de presión, una temperatura de 170°C y un tiempo de análisis

de 45 minutos. Se obtuvieron 10ml de disolución ácida de la muestra totalmente homogénea y sin residuos sólidos. (Figura 13).



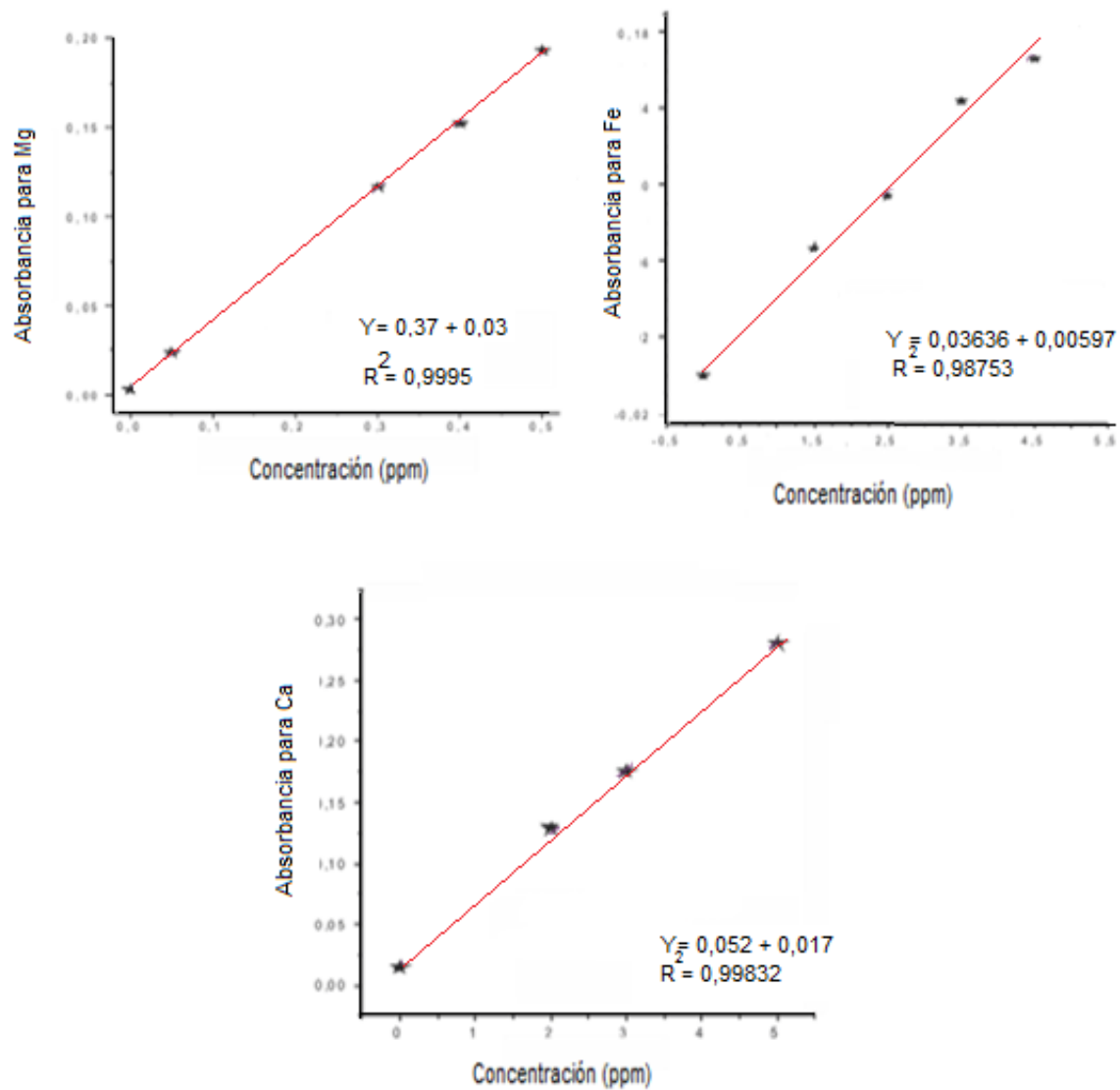
**Figura 13.** Soluciones obtenidas después de la digestión.

Las digestiones se analizaron en el equipo de absorción atómica modelo S4 Thermo-Electron, con tipo de llama Aire-Acetileno, el cual tiene una sensibilidad de 0,003mg/L, valores de absorbancia mínimos de 0,0049 y un rango óptimo de operación entre 0,06 a 0,6 mg/L, ubicado en el laboratorio de Análisis instrumental (UIS). Se prepararon los patrones y las curvas de calibración respectivas para Mg, Ca, Fe, Al, K, Li, Zn, Si, Sr y Na, de acuerdo al previo análisis cualitativo (Ver figura 14).

**Tabla 2.** Parámetros de análisis por AAS

Elemento	$\lambda$ Onda	Inhibidor
Mg	285,2 nm	La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Ca	422,7 nm.	La <sub>2</sub> O <sub>3</sub>
Fe	248,3 nm	Sin inhibidor
Al	309,3 nm	Sin inhibidor
K	766,5 nm	Sin inhibidor
Li	670,8nm	Buffer de potasio
Zn	213,8nm	Sin inhibidor
Si	251,6nm	Buffer de potasio
Sr	460,7nm	Buffer de potasio
Na	589,0 nm	Buffer de potasio

La<sub>2</sub>O<sub>3</sub> (Óxido de Lantano)



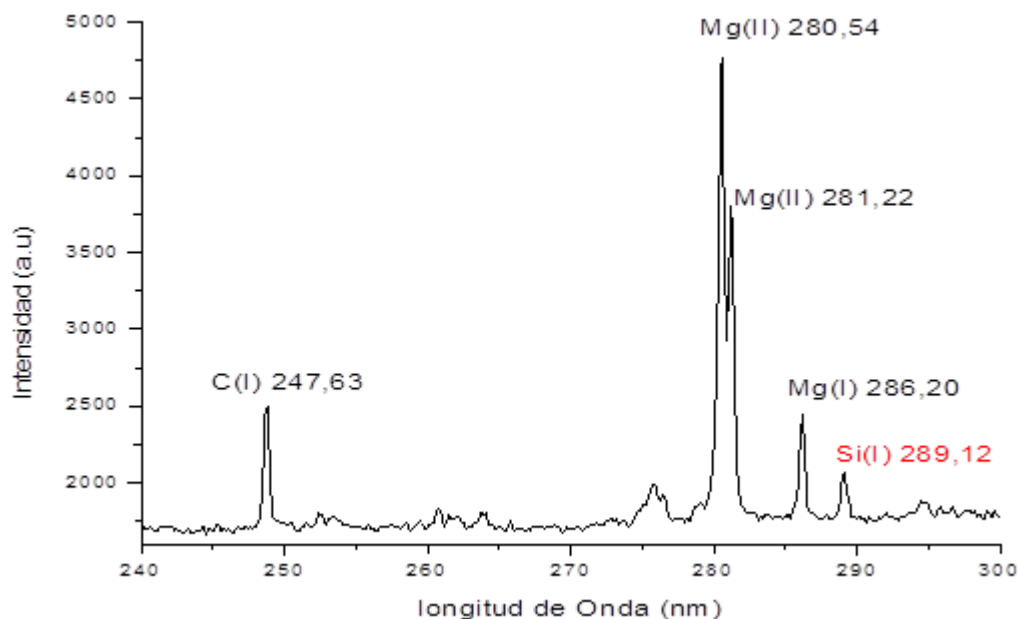
**Figura 14.** Curva de calibración para Mg, Fe y Ca respectivamente.

## 4. RESULTADOS Y ANÁLISIS

En el crecimiento del roble se ha establecido que el diámetro del tronco es función directa de la edad del árbol (Uhl, A. *et al.*, 2001). Como se mencionó en la sección experimental, se estudió la sección transversal del tronco de roble, tomando una serie de anillos concéntricos de 1cm de radio. Estos anillos se estudiaron como zonas de crecimiento debido a que para la muestra no se pueden determinar ni diferenciar los anillos de crecimiento correspondientes a esta muestra de roble.

### 4.1. ANÁLISIS CUALITATIVO

Se utilizó LIBS para el análisis cualitativo de la muestra, en las diferentes posiciones. Los espectros correspondientes a las diferentes zonas espectrales evaluadas, se muestran en las figuras 15-21.



**Figura 15.** Espectro LIBS en la región de 240 a 300nm.

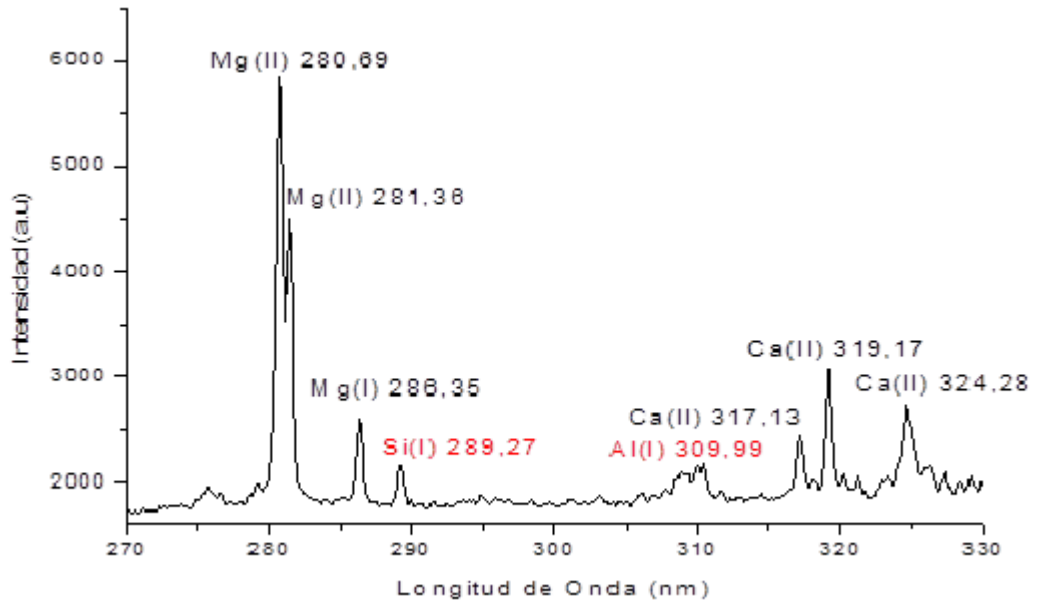


Figura 16. Espectro LIBS para en la región de 270 a 330nm

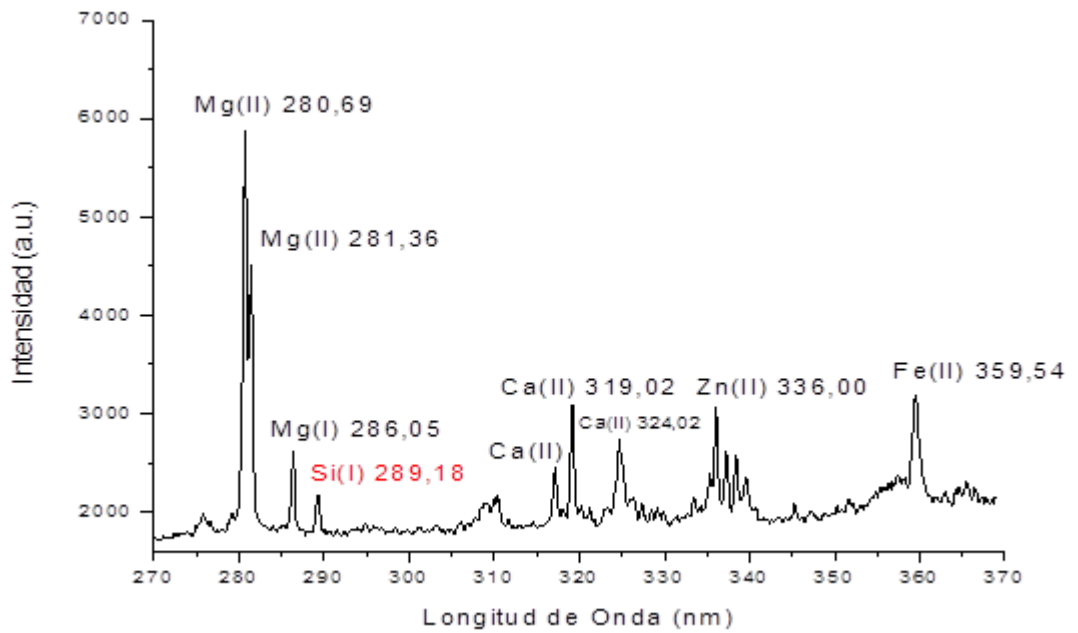
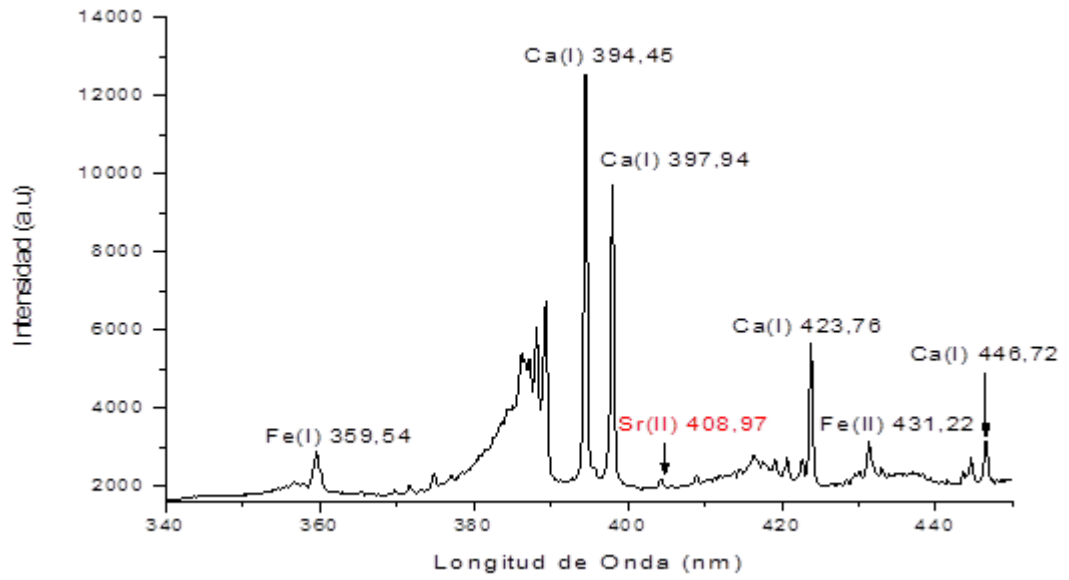
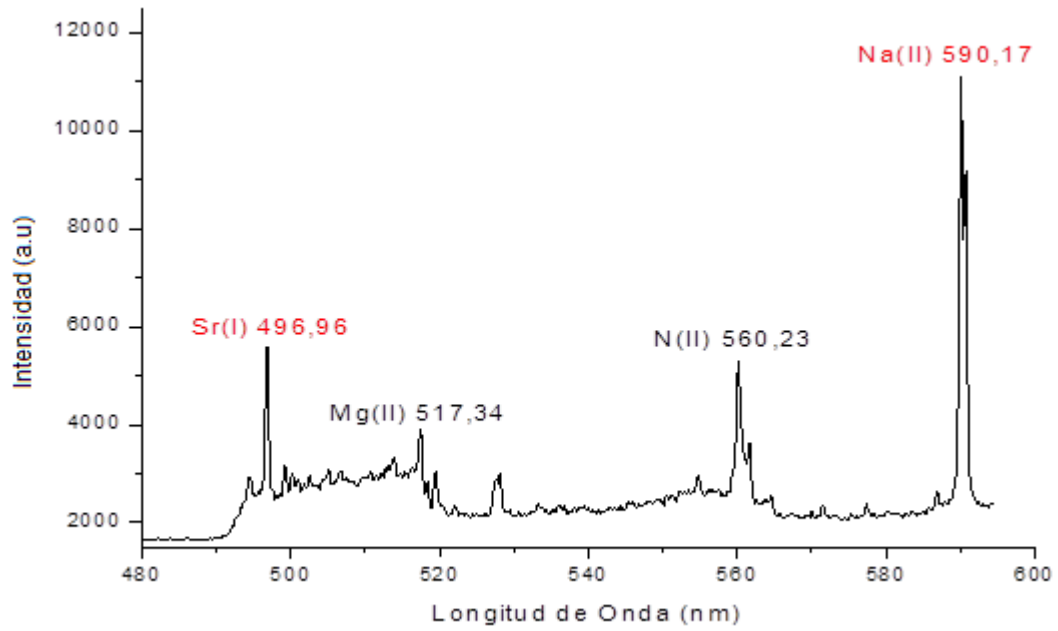


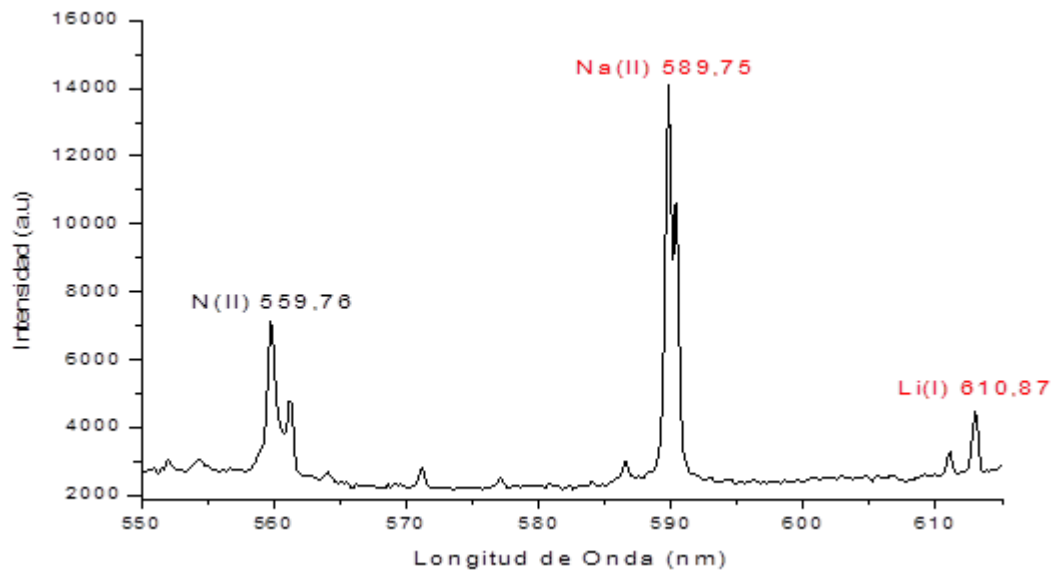
Figura 17. Espectro LIBS en la región de 270 a 370nm



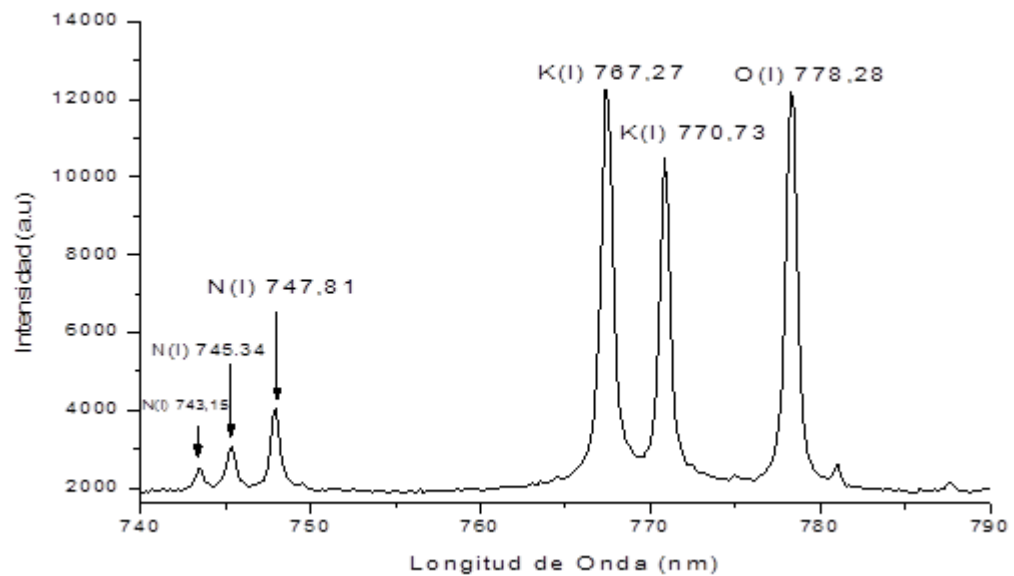
**Figura 18.** Espectro LIBS en la región de 340 a 450nm



**Figura 19.** Espectro LIBS en la región de 480 a 600nm



**Figura 20.** Espectro LIBS en la región de 550 a 615nm



**Figura 21.** Espectro LIBS en la región de 740 a 790nm.

En los espectros anteriores, se observan bandas moleculares y emisiones de líneas atómicas e iónicas, en todas las ventanas espectrales. Las líneas

resaltadas en color rojo representan los elementos considerados como contaminantes en la muestra de madera. La banda de CN (388nm), es debida a la recombinación del carbono de la muestra con el nitrógeno del aire del ambiente, aunque también puede ser parte de la estructura de la celulosa. En la tabla 3, se resumen los elementos determinados junto con las longitudes de onda detectadas: C, Ca, Mg, Si, Al, Zn, Fe, Sr, N, Li, Na, O y K.

**Tabla 3.** Líneas espectrales de todos los elementos hallados.

Elementos	Longitud de Onda [nm]	Elementos	Longitud de Onda [nm]
C(I)	247,63	Fe(II)	359,54 431,22
Mg(I)	286,20	Sr(I)	496,96
Mg(II)	280,54 281,22 517,34	Sr(II)	408,97
Ca(I)	394,94 397,94 423,76	N(II) Triplete de N(I)	560,34; 559,76 747,81 745,34 143,15
Ca(II)	317,13 319,17 324,28	Na(II)	590,17 589,75
Si(I)	289,12	Li(I)	610,87
Al(I)	309,99	K(I)	767,27 770,73
Zn(II)	336,00	O(II)	777,54 777,42 777,19

Se presenta una distribución de elementos como C, O, N, Ca, Mg, Fe, Al, Si, Na, Sr, Zn, Li y K, sobre el eje radial de la muestra, y algunos presentes en todos los anillos o zonas de crecimiento. En las zonas del 1 al 8 de la muestra, se detectan elementos como: C, O, N, Ca, Mg, Fe, Al, Si, Na, Sr, Zn y K, mientras que en las zonas 9 al 15, se observa adicionalmente Li y no se detecta Sr. Elementos como C, O, N, Ca, Mg, Fe, Zn y K son nutrientes generales, presentes en la celulosa, hemicelulosa, lignina y otras moléculas de bajo peso molecular como extractos y minerales. El Ca es el principal componente en las paredes celulares, el N y Mg se encuentran como constituyentes de proteínas y aminoácidos ( Mizolek *et al* 2006 ).

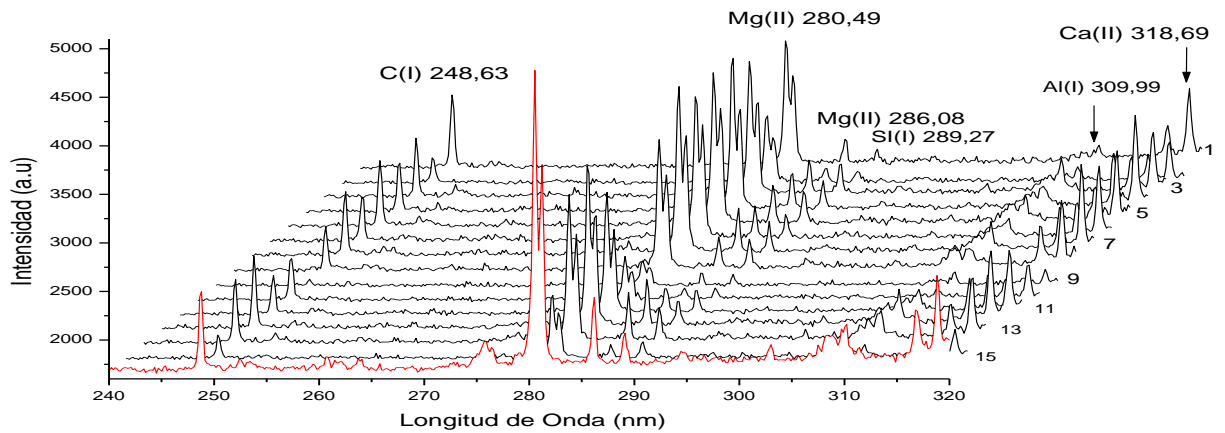
Por el contrario, algunos metales como el Al, Si, Sr, Li y Na (resaltado en rojo en las figuras 15, 16, 17, 19 y 20), se consideran contaminantes que migran rápidamente por las raíces de los árboles. En general, estos contaminantes provienen de fuentes antropogénicas o externas como el suelo y factores ambientales. Se pueden citar estudios sobre la detección de plomo, cromo y otros metales pesados en la madera (Martin, M.Z. *et al.*, 2007). También estudios relacionados para reducir las emisiones antropogénicas de gases por el efecto invernadero, particularmente el dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>), que afecta la composición del suelo, contaminándolo (Read, D. *et al.*, 2001). Los elementos considerados como nutrientes y metales se encuentran distribuidos de forma aleatoria a lo largo de la muestra; esto puede ser causado por los procesos de absorción de nutrientes por parte de la raíz. Dado que la absorción en los primeros años de vida del roble es menor, a medida que el árbol se hace más maduro, aumenta el tamaño y cantidad de raíces, permitiendo mayor absorción de nutrientes del agua y suelo (Gracia C *et al.*, 2011). Esto justificaría la presencia de elementos como C, O, N, Ca, Mg, Fe, Al, Na, Zn, Si, Sr y K, en las primeras zonas iniciales del nacimiento del árbol.

Otro factor importante es la migración de nutrientes, este proceso ocurre del floema hacia la médula, fenómeno por el cual la presencia de elementos como el

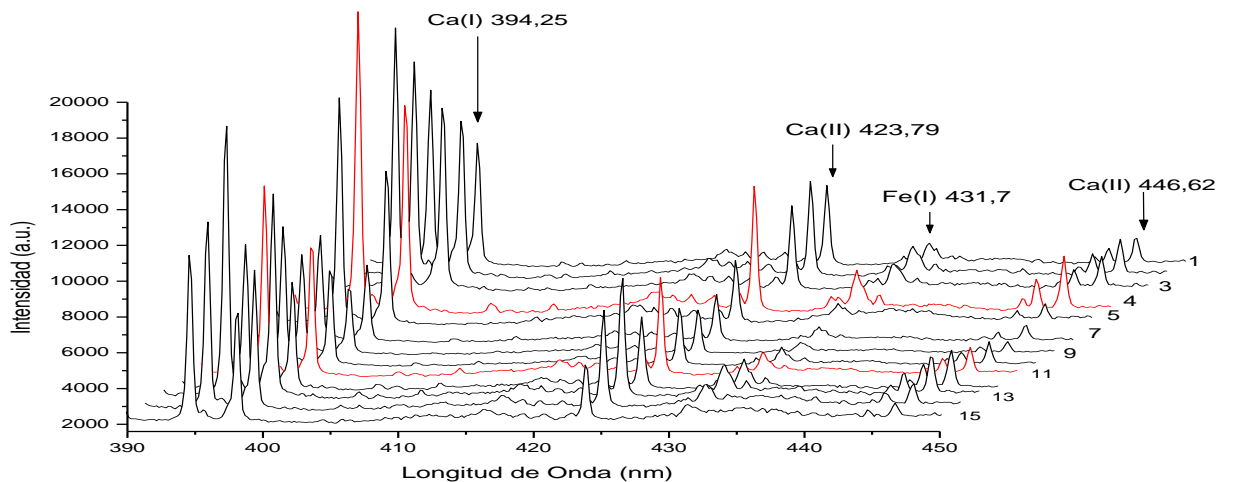
Li se registra en los secciones cerca de la corteza y no se observa en los anillos cerca de la médula, debido a que puede ser almacenado por la planta como sustancias de desecho o almacenarse en los poros que presenta la madera (Gracia C *et al.*, 2011). La composición química de los anillos de crecimiento en el roble por la presencia de metales como Al, Si, Sr, Li y Na, también se pueden relacionar con parámetros externos como: cambios en el clima, incendios forestales y trastornos relacionados con la actividad humana. Debido a esto, se investigó la zona de ubicación de la muestra en el municipio de Arcabuco (Boyacá). Se encontró que cerca de los robledales no hay actividad minera al menos en un radio de  $\approx 5$  km; hay una corriente de agua permanente (quebrada) cerca del robledal muestreado a una distancia entre 50 y 100 metros; la carretera principal pasa aproximadamente a 300 metros en distancia lineal, (vía Barbosa-Tunja), con alto tráfico de tractomulas y buses intermunicipales; en las áreas aledañas se han presentado, de manera recurrente, incendios forestales. Todos esto permite justificar la presencia de Na en todos los anillos, internos y externos, por cambios en la salinidad en la región y en las efluentes de la quebrada con presencia de K y Na ( Marín, C. *et al.*, 2013).

En la figura 22, se observa la distribución radial de C, Mg, Si, Al y Ca a lo largo del radio de crecimiento y en la figura 23, la distribución de Ca y Fe. Como era de esperarse, la intensidad en las señales de Ca, Mg, Fe, Si y Al varían a lo largo del eje de crecimiento. En el caso del Mg, se observa el valor más bajo en el anillo número 9 y máximos de intensidad en los anillos 15, 7 y 12 ubicados cerca a la corteza del tronco, mientras que en los anillos intermedios la señal oscila. El Ca exhibe el mínimo valor en los anillos 7 y 10 y su máximo valor en los anillos 12, 11 ubicados cerca a la corteza del árbol. El Fe muestra muy poca variación, con valores máximos en los anillos 1, 12 y 4, con el mínimo en el anillo 9. El comportamiento de cómo varía la intensidad de la señal LIBS de los diversos elementos detectados en función de la posición del eje de crecimiento, se resume en la figura 24. Como se observa en la figura, no es posible encontrar una relación

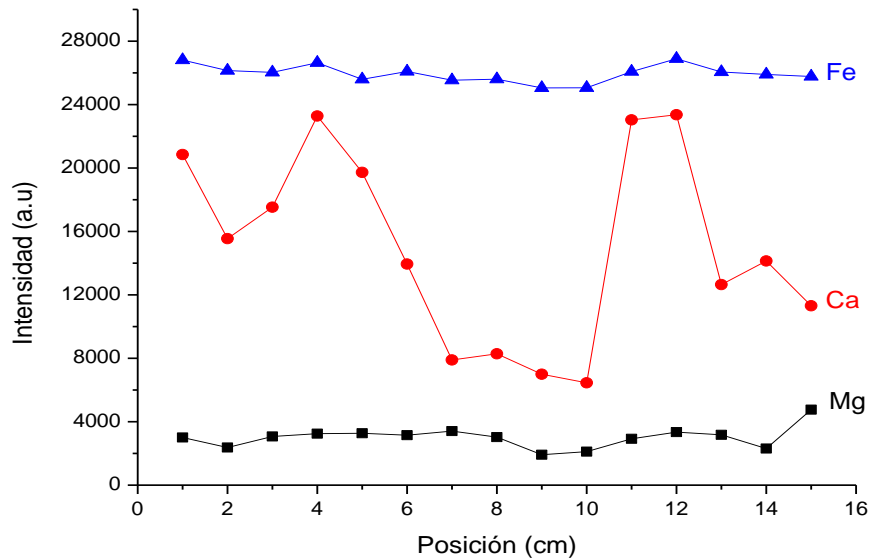
entre las variaciones en la posición radial y la intensidad de señal analítica para ninguno de los elementos, lo que confirma que estas variaciones son independientes de la posición radial sobre la muestra, y que son producto de los factores externos que afectaron el crecimiento del árbol.



**Figura 22.** Espectros LIBS en función de la posición radial en la región de 240 a 320nm.

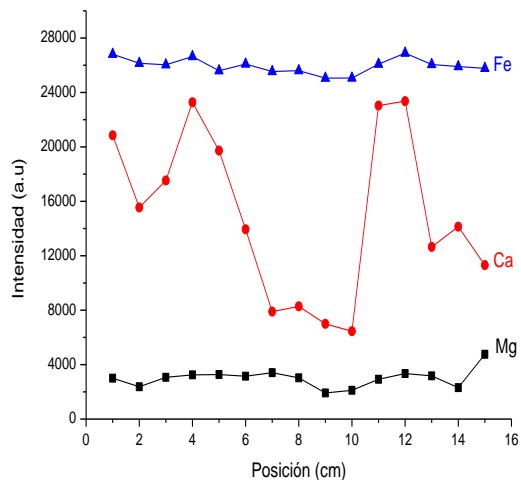
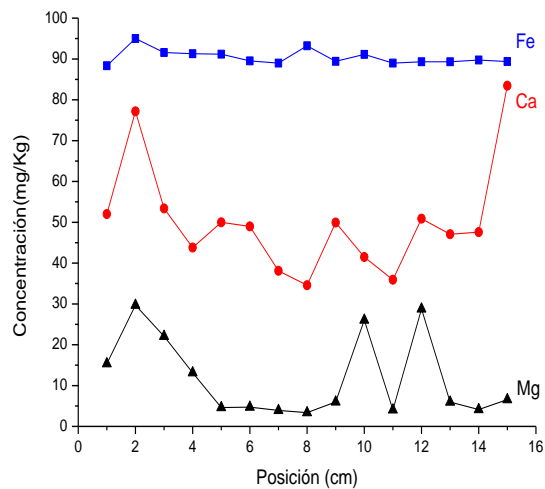


**Figura 23.** Espectros LIBS en función de la posición radial en la región de 390 a 450nm.



**Figura 24.** Intensidad (a.u) vs Posición (cm), por LIBS para Ca, Mg y Fe.

Utilizando los resultados LIBS, se hizo el estudio cuantitativo por AAS, siguiendo el protocolo explicado con anterioridad. Se estableció la concentración de cada elemento de interés, en función de la posición radial a lo largo del eje de crecimiento. No se analizaron por AAS aquellos elementos cuya presencia es usual de encontrar como parte de la composición de la madera (C,O,N). Los elementos estudiados como componentes mayoritarios fueron Mg, Ca y Fe, mientras que K, Na, Li, Zn, Si, Al y Sr, no fueron detectados. Los resultados se resumen en la Figura 25, donde son claras las variaciones en la concentración sobre las zonas de crecimiento; esto puede estar asociado a una distribución no homogénea de la muestra y a factores de absorción de nutrientes en la madera de roble, como ya se había comentado previamente y observado en los análisis LIBS.



**Figura 25.** Concentración ( $\text{mg kg}^{-1}$ ) vs posición (cm) por AAS

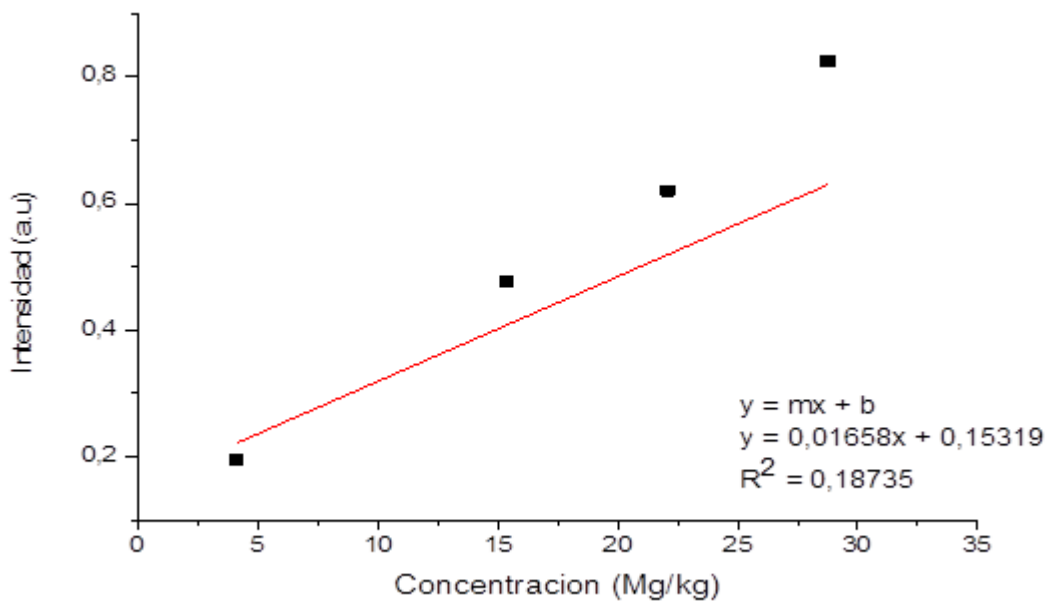
En la figura 25 se observa un máximo de concentración en la sección que representa el anillo 2 para los tres elementos Mg, Ca y Fe, lo que podría indicar una mayor concentración de nutrientes; ésta zona se halla ubicada cerca a la médula del tronco. El Mg presenta otros máximos de concentración en los anillos 10 y 12 y valores bajos en la zona intermedia. Para el Ca, cabe resaltar las variaciones no uniformes en las zonas de crecimiento, con un incremento significativo en la sección 15. El Fe presenta un aumento significativo en la sección 2 y 8 con un mínimo de concentración en la sección 1.

En general, es posible decir que los mayores valores de concentración se observan en los extremos cerca a la corteza, mientras que en la parte más interna se conservan estables. Se detectó fácilmente Mg, Ca y Fe, aunque por LIBS se reportó Li, Sr, Al, Si, Zn, K y Na, no observados por AAS. Para explicar las diferencias entre los resultados obtenidos, es necesario tener en cuenta que LIBS es una técnica de análisis superficial, con una alta resolución espacial y una gran sensibilidad, mientras que AAS es una técnica que implica, relativamente, grandes volúmenes de muestra (Fichet y Tabarant *et al.*, 2006), reduciendo la resolución lateral y superficial, debido a que reporta valores promedios de concentración sobre el trozo de madera analizada. Otro factor que afecta los resultados, corresponde a la estructura no homogénea de las muestras de roble, lo que implica que los contaminantes estarían en zonas bien definidas del tronco o en muy bajas concentraciones, esto podría ser un factor que explique porqué hay elementos vistos por LIBS que no son detectados por AAS.

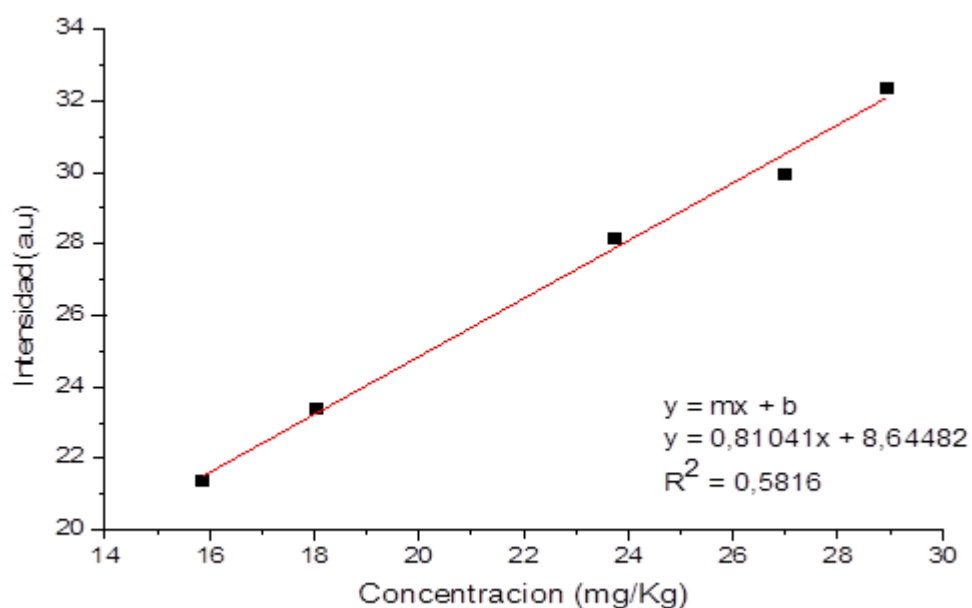
De otro lado, la focalización del láser en un lugar específico de la muestra permite la caracterización espacial de la misma, con una resolución que depende del tamaño del (spot) o punto láser (Russo *et al.*, 2002). Este efecto podría estar relacionado con los elementos vistos por LIBS y no detectados por AAS, debido a la estructura de la madera, puesto que cada anillo presenta porosidades de diferentes diámetros causados por los cambios de estaciones climáticas, formando traqueídas que son poros compuestos por agrupaciones de células provistas con mayor acumulación de agua y nutrientes (Gracia *et al.*, 2001). El impacto del láser o (spot) pudo incidir en estos pequeños poros, generando la presencia de estos elementos vistos por LIBS y no por AAS.

Sin embargo, pese a la variación de los resultados por LIBS y AAS, se logró encontrar una relación al normalizar los datos de intensidad LIBS y concentración AAS para los elementos mayoritarios. La intensidad de señal LIBS es proporcional a la concentración del elemento en la muestra (Marcos da Silva *et al.*, 2013), esto

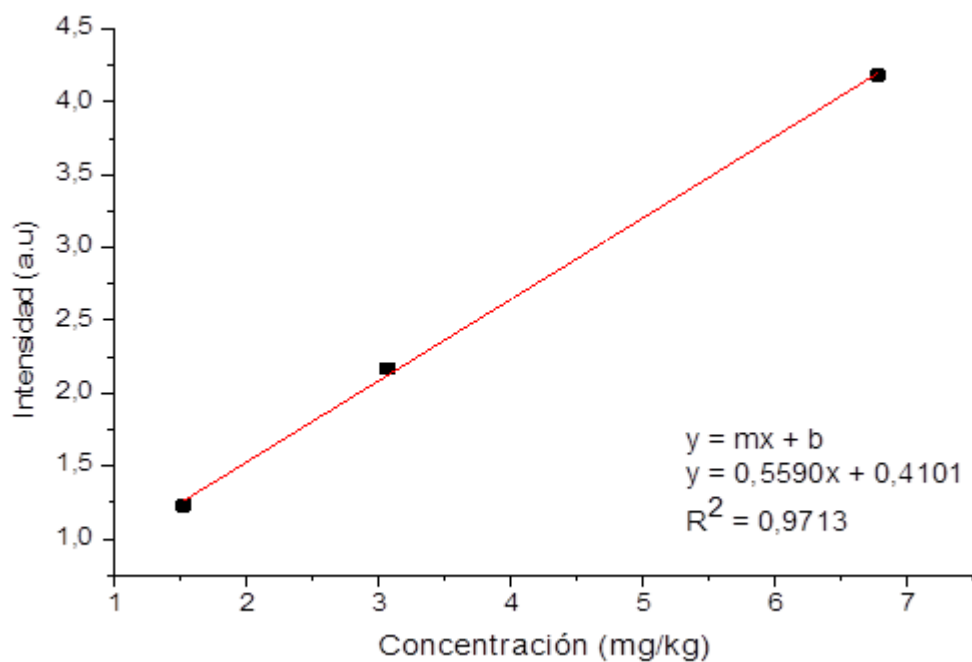
implica que sería posible la calibración de la señal LIBS de algunos elementos utilizando las concentraciones determinadas por AAS. En la figura 26, 27 y 28 se muestran las curvas de calibración LIBS para Mg, Ca y Fe. Dentro del rango lineal estudiado, las gráficas muestran una buena concordancia para estos elementos; en el caso de los elementos minoritarios, no fue posible establecer una relación al no contar con valores de concentración reportados por AAS.



**Figura 26.** Curva de calibración LIBS para el Magnesio.



**Figura 27.** Curva de calibración LIBS para el Calcio.



**Figura 28.** Curva de calibración LIBS para el Hierro.

A la luz de los resultados observados, se confirma el uso de LIBS como una técnica de diagnóstico rápido para el estudio de maderas; puesto que permite la

detección simultánea de gran cantidad de elementos, de tal manera que ayuda a reducir tiempo y costos, así como también a realizar estudios sobre grandes cantidades de muestra o amplias zonas de estudio. Permite la detección y mapeo químico de contaminantes sobre la muestra y hace posible realizar un estudio semicuantitativo de las mismas.

## CONCLUSIONES

Se determinó que LIBS, es una herramienta analítica útil para efectuar análisis cualitativos y semicuantitativos *in situ* en muestras de origen vegetal, debido a que permite la detección de elementos mayoritarios, así como también elementos considerados contaminantes, con una alta resolución espacial y una gran sensibilidad.

En la muestra de roble (*Quercus Humboldtii Bonpl*) analizada por LIBS, se detectaron elementos que son considerados componentes o nutrientes naturales de la madera como: C, O, N, Mg, Ca, Zn, K, Fe y elementos reportados como contaminantes debido a factores antropogénicos, de suelo y ambientales como: Al, Si, Sr, Li y Na. Con base en estos datos fue posible la elaboración de un mapa químico semicuantitativo, sobre el eje radial de crecimiento del tronco.

En el análisis cualitativo por LIBS se observó una variación aleatoria en la intensidad de señal analítica de Mg, Ca y Fe, a lo largo del radio de crecimiento. Esto puede estar asociados a varios hechos: las muestras de tejido vegetal no son superficies homogéneas y presentan canales resiníferos (porosidades de  $\approx 20-100$   $\mu\text{m}$  de diámetro, conductos de agua y nutrientes). Teniendo en cuenta el tamaño de la zona LIBS muestreada, estas variaciones pueden estar asociadas a concentraciones altamente localizadas espacialmente sobre la muestra.

Se utilizó AAS para el análisis cuantitativo de la muestra, utilizando los resultados cualitativos obtenidos por LIBS. Se establecieron las concentraciones para la muestra de madera por AAS en los elementos Mg, Ca y Fe. En los elementos considerados contaminantes como: Al, Si, Sr, Na y Li no fue posible su cuantificación utilizando AAS, posiblemente debido a sus bajas concentraciones, que están por debajo de los límites de detección del equipo ó a que se encuentran

en zonas altamente localizadas del tronco, y con la resolución lateral de la técnica no es posible detectarlos.

Fue posible la elaboración de curvas de calibración LIBS utilizando los resultados AAS, para elementos mayoritarios en la muestra como Ca, Fe y Mg observando una buena correlación en el rango lineal de trabajo.

Se establece la capacidad de LIBS como técnica no invasiva, rápida para diagnóstico cualitativo y cuantitativo multi-elemental de muestras vegetales, lo que permite utilizarla como herramienta de análisis que requiera la elaboración de mapas químicos para grandes superficies o que requiera rapidez de análisis.

## RECOMENDACIONES

Se ha demostrado los beneficios de LIBS como técnica de diagnóstico; sin embargo, la no homogeneidad de las muestras vegetales, implican la elaboración y diseño de protocolos para reducir el efecto de matriz sobre los resultados.

Se plantea la utilización de sistemas de mayor sensibilidad, para el análisis de muestras de reducido tamaño o con bajas concentraciones de contaminantes.

Es importante el desarrollo de técnicas no invasivas, que permitan cuantificar cualquier tipo de muestra sin que esto con lleve a la generación de residuos químicos y elevados costos de análisis, por ello sería de gran interés realizar esta investigación en muestras con superficies homogéneas en la que sea posible correlacionar LIBS y otras técnicas tradicionales como AAS, AES entre otras.

## BIBLIOGRAFÍA

1999

A. Assion, M. Wollenhaupt, L. Haag, F. Maryorov, C. Sarpe-Tudoran, M. Winter, U. Kutschera, T. Baumert, *Femtosecond laser-induced-breakdown spectrometry for Ca<sup>2+</sup> analysis or biological samples with high spatial resolution*, Appl. Phys. B 77, pág. 391-397, 2003.

A. Miziolek, V. Palleschi and Schechter I. *Laser-Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS)*. Fundamentals and applications, pág 8-7, 2003

A. Uhl, K. LOEBE, L. KREUCHWIG, *Fast analysis of wood preservers using laser induced breakdown spectroscopy*, Elsevier Acta parte B, 793-806, 2001

A.K. Knight, N.L. Scherbarth, D.A. Cremers and Ferris, M.J Applied Spectroscopy 54, 3, 331, 2000

A.L. Shawlow and Townes C.H. *Infrared and Optical Masers*, Physical Review 112, 6, pág. 1940, 1958

A.S. Eppler, D.A. Cremers, D.D. Hickmott and A.C. Koskelo, *Matrix effects in the detection of Pb and Ba in soils using laser-induced breakdown spectroscopy*. Appl. Spectrosc. 50: 1175–1181, 1996

A.W. Felske, D. Hagenah and A. Strasheim, *Spectrochimica Acta Parte B: Atomic Spectroscopy* 27, 1, 1972

C.R. Dockery and S. R. Goode, *Applied Optics* 42, 30, 6153, 2003

D. Anglos, S. Couris and C. Fotakis, *Applied Spectroscopy* 51, 7, 1025, 1997.

D.A. Cremers, and L.J. Radziemski, *Detection of fluorine and chlorine in air by laser-induced breakdown spectroscopy*. Anal Chem. 55, págs. 1252–1256, 1983

D.A. Cremers, and L.J. Radziemski, *Direct detection of beryllium on filters using the laser spark*. Appl. Spectrosc. 39: 57–63, 1985

D.A. Cremers, L.J. Radziemski and T.R. Loree *Spectrochemical analysis of liquids using the laser spark*. Appl. Spectrosc. 38: 721–729, 1984

D.K. Chauhan, N.K. Trippathi Rai, *Detection of biogenic silica in leaf blade, leaf sheath, and stem of Bermuda grass (Cynodon dactylon) using LIBS and phytolith analysis*, Food Biophys. 6 416-423, 2011

D.W. Hahn and M.M. Lunden, *Detection and analysis of aerosol particles by laserinduced breakdown spectroscopy*. Aerosol Sci. Technol. 33: 30–48, 2000

E. K. L. St-Onge, M. Sabsabi, E.B. Vadas, Spectrochimica Acta Part B 57, 1131, 2002

E.F. Runge, R.W. Minck and F.R. Bryan, Spectrochimica Acta 20, 4, 733, 1964

Eberhard, Haug y Werner Nakel, *El proceso elemental de radiación de frenado*. Vol. 73, págs. 981-238-578-9, 2004

Ehsan, Sadia, Marshall William D, *High-pressure homogenisation prior to slurry introduction electrothermal atomic absorption spectrometry for metal determinations in wood*. Department of Food Science and Agricultural Chemistry 2001

F. Africamtunzi, E. Muleya, J. Modise, A. Sipamla, E. Dikio, *Heavy metals content of some medicinal plants from Kwazulu-Natal*, South Pakistan Journal of Nutrition Volume 11, Issue 9, págs. 757-761, 2012

F. Alvira, *Espectroscopia de plasmas inducidos por láser (LIBS) aplicada a la caracterización de piezas únicas y productos de interés industrial*. Tesis de grado. Facultad de Ciencias Exactas Departamento de Química, La Plata, Mayo de 2010

F. C. De Lucia JR. Gottfried, J.L. and Miziolek, A.W. *Optics Express* 17, 2, 419, 2009

F. Tunarosa, *Análisis de elementos alcalinos y alcalinotérreos en agua de formación mediante espectroscopia de plasma inducida por laser LIBS*, Trabajo de grado. Universidad Industrial de Santander, Facultad de Ciencias. Escuela de Química, 2013

F.J. Wallis, B.L. Chadwick and R.J.S. *Analysis of lignite using laserinduced breakdown spectroscopy*. *Appl. Spectrosc.* 54: 1231–1235, Morrison 2000

G.A. Theriault, S. Bodensteiner and S.H. Lieberman, *A real-time fiber-optic probe for the in-situ delineation of metals in soils*. *Field Anal. Chem. Technol.* 2: 117–125, 1998

Garcia C. *Funcionamiento y producción de las masas forestales*, Barcelona, pág. 221

H. Ortiz, y F. Blanco, *Análisis de elementos en carbones combinados por LIBS y LA-ICP-AES*, Trabajo de grado, Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de física, Bucaramanga, 2005

H. Solo-Grabiele, T. Townsend, D. Hahn, T. Moskal, N. Hosein, J. Jambeck, G. Jacobi. *Evaluation of XRF and LIBS technologies for on-line sorting of CCA-treated Wood waste*. *Waste Management*, volumen 4, pág: 413-424, 2004

H.E. Bauer, F. Leis and K. Niemax, *Laser induced breakdown spectrometry with an echelle spectrometer and intensified charge coupled device detection*. Spectrochim. Acta Part B 53, págs.1815–1825, 1998

J. káiser, M. Galiová, K. Novotný, R. Cervenka, L. Reale, J. Novotný, M. Liska, O. Samek, V. Kaincký, *Mapping of lead magnesium and cooper acumulation in plant tissues by laser-induced-breakdown spectrometry and laser-ablation inductively coupled plasma mass spectrometry*. Spectrochim. Acta Part B 64 67-73, 2009

J. Santos, D. Nunes, C. Lidiane, C. Arantes, G. Gustinelli, M. Gomes Da Sailva, Souza, Florencio, Leme de Livera, Flavio Cofani Dos Santos ,Luis Gustabo, Krung, Jose Francisco. *Laser induced breakdown spectroscopy for analysis of plant materials*. Spectrochimica Acta Part B: Atomic Spectroscopy. Volumes 71–72, pág: 3–13, 2012

J.A. Lacarte, R.J. Lasheras, *Espectroscopía de descomposición inducida por láser (LIBS): una técnica emergente en la química analítica*. C Bello-Gálvez, 2011

J.E. Geusic, H.M. Marcos and Van Uitert, L.G. Applied physics letters 4, 10, 182, 1964

J.Laserna, *Laser-induced breakdown spectroscopy, Una herramienta exclusiva para el análisis químico de objetos distantes*, Appl Spectroscopy 11-19, 2013

J.R. Almirall, S. Umpierrez, W. Castro, I. Gornushkin and J. Winefordner, *Forensic elemental analysis of materials by Laser Induced Breakdown Spectroscopy (LIBS) in Technologies for Homeland Security and Homeland Defense IV SPIE*, Orlando, USA, pág. 657, 2005.

K. Anchukaitis, *Cellulose extraction from wood modicaed from Brendel et al.* (2000) further description, 2007.

K. Grant, G.L. Paul and J.A. O'Neill, Quantitative elemental analysis of iron ore by laser-induced breakdown spectroscopy. *Appl. Spectrosc.* 45: 701–705, 1991

K.Y. Yamamoto, D.A. Cremers, L.E. Foster and M.J. *Detection of metals in the environment using a portable laser-induced breakdown spectroscopy instrument.* *Appl. Spectrosc.* 50: 222–233, Ferris 1996

K.Y. Yamamoto, D.A. Cremers, L.E. Foster, M.P. Davies and R.D. Harris, *Laser induced breakdown spectroscopy analysis of solids using a long pulse (150ns) Q-switched Nd:YAG laser.* *Appl. Spectrosc.* 59: 1082–1097, 2005

K.Y. Yamamoto, D.A. Cremers, D.M. Ferris, M.J. and L. E. Foster, *Applied Spectroscopy* 50, 2, 222, 1996

L.J. Radziemski, D.A. Cremers, K. Benelli, C. Khoo and R.D. Harris Use of the vacuum ultraviolet spectral region for LIBS-based Martian geology and exploration. *Spectrochim. Acta Part B* 60: 237–248, 2004

L.J. Radziemski, T.R. Loree, D.A. Cremers and N.M. Hoffman, Time resolved laser induced breakdown spectrometry of aerosols. *Anal. Chem.* 55: 1246–1252, 1983

L.M. Berman and P.J. Wolf, *Laser-induced breakdown spectroscopy of liquids: Aqueous solutions of nickel and chlorinated hydrocarbons.* *Appl. Spectrosc.* 52, págs. 438–443, 1998

L.M. Cabalín, D. Romero, J.M. Baena and J.J. Laserna, *Effect of surface topography in the characterization of stainless steel using laser-induced breakdown spectrometry.* *Surf. Interface Anal.* 27: 805–810, 1999

M. Baudalet, L. Guyon, Yu, J. Wolf, J. Amodeo, J.P. Frijafon, T.E. and P. Laloi, *Journal of Applied Physics* 99, 8, 9, 2006

M. Sabsabi and P. Cielo, *Quantitative analysis of aluminum alloys by laser-induced breakdown spectroscopy and plasma characterization*. Appl. Spectrosc. 49: 499–507, 1995

M. Sabsabi y Crelo, P, Applied spectroscopy, Acta part B. Atomic spectroscopy 53, 13, 185, 1998

M.D. Mowery, Sing, R. J. Kirsch, A. Razaghi, S. Béchar, and R.A. Reed, Journal of pharmaceutical and Biomedical analysis 28, 5, 935, 2002

M.F. Bustamante, C. A. Rinaldi and J. C. Ferrero, Spectrochimica Acta - Part B Atomic Spectroscopy 57, 2, 303, 2002

M.Z. Martin, N. Labbé, N. André, R. Harris, M. Ebinger, S.D. Wullschleger, A.A. Vass, *High resolution applications of laser-induced breakdown spectroscopy for environmental and forensic applications*, Spectrochim. Acta Part B 62 1426-1432, 2007

Marcos da Silva Gomes, Gabriel Gustinelli Arantes de Carvalho, Dário Santos Junior, Francisco José Krug. *A novel strategy for preparing calibration standards for the analysis of plant materials by laser-induced breakdown spectroscopy: A case study with pellets of sugar cane leaves*. Spectrochim. Acta Part B 86 pág. 137-14, 2013

N. Acevedo, *Implementación de un montaje experimental basado en la técnica LIBS (laser induced breackdown spectroscopy) en tejido cervical normal y tumoral maligno*, Trabajo de grado. Universidad Industrial de Santander. Facultad de Ciencias. Escuela de Física. págs. 26-27, 2010.

N. Yamaguchi, Hotokezaka, H. Nagasaki, S. and S. Tanaka, *Soil Science and Plant Nutrition* 51, 6, 911,2005

NIST, "Atomic data base", <http://physics.nist.gov/PhysRefData/ASD/>, Ed.

O. Samek, D.C.S. Beddows, J. Kaiser, S.V. Kukhlevsky, M. Liska, H.H. Telle and J. Young *Application of laser-induced breakdown spectroscopy to in situ analysis of liquid samples*. *Opt. Eng.* 39: 2248–2262, 2000

O. Samek, H.H. Telle, and D. C. S. Beddows, *BMC Oral Health* 1, 1, 2001

O. Samek, T.J. Lambe, HergenrodeR, R. Liska, M. Kaiser, J. Novotny, K. Kuukhlevsky, S. *Femtosecond laser spectrochemical analysis of plant samples, laser*. *Phys. Lett* 3 pág. 21-25, 2006

P. D. Maker, R. W. Terhune, and C. M. Savage. *Ibid* 8 21-22, 1962

P. Salas, Keyffer J, Víctor J. Garica, Freddy Fernández Rojas, Carlos Fernández-Rojas, *Regímenes de ablación láser en la elaboración de películas delgadas*, Universidad de Los Andes, Mérida 2005.

P.M. Fichet, B. Tabarant, C.Salle, Gautier, *Comparisons between LIBS and ICP-OES*, *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 2006

Q. Sun, M. Tran, B.W. Smith and J.D. *Direct determination of P, Al, Ca, Cu, Mn, Zn, Mg and Fe in plant materials by laser-induced plasma spectroscopy*. *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.* 44: 164–170, 1999

Q. Sun, M.B. Tran, W. Smith and J. D. Wlnefordner, *Direct determination of P, Al, Ca, Cu, Mn, Zn, Mg and Fe in plant materials by laser-induced plasma spectroscopy*. *Can. J. Anal. Sci. Spectrosc.* Pg:164–170, 1999

R.E. Neuhauser, U. Panne and R. Niessner, *Analytica Chimica Acta* 392, pág. 1, 47

R.E. Russo, X. L. Mao, C. LIU, and J. Gonzales, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19, 9, 1084, 2004

Richard. Russo, E. Xianglei Mao, Haichen Liu, Gonzalez Jhanis, Samuel S. Mao. *Laser ablation in analytical chemistry*. Lawrence Berkeley National Laboratory, Berkeley, CA 94720, USA, 2004

S. Kriskova, P. Ryant, O. Kriskova, V. Adam, M. Galiova, M. Beklova, P. Babula, J. Kaiser, K. Novothy, J. Novothy, M. Liska, R. Malina, J. Zehnalek, J. Hubalek, L. Havel, R. Kiser. *Multi-instrumental analysis of tissues of sunflower plants treated with silver(I) ions-plants as bioindicators of environmental pollution*, *sensors* 8 445-463, 2008

Scott R.H. and A. Strasheim, *Spectrichimica Acta parte B: atomic Spectroscopy* 25, 7, 311

Singh, Jagdish P y Thakur, Surya N, *Laser-induced breakdown spectroscopy*. Elsevier, 1st ed. Ed, Cap 3, pág. 50-52, 2007

T.H. Maiman, *Stimulates Optical Radiation in Ruby*, *Nature* 187, 4736, 493, 1960

V. Sturm, J. Venegor, R. Noll y M. Hemmerlin, *J. Anal at spectrum*, 19 451, 2004

V. Sturm, J. Vrenegor, R. Noll and M. Hemmerlin *Bulk analysis of steel samples with surface scale layers by enhanced laser ablation and LIBS analysis of C, P, S, Al, Cr, Cu, Mn and Mo*. *J. Anal. At. Spectrom.* 19: 451–456, 2004

V. Sturm, J. Vrenegor, R. Noll, and M. Hemmerlin, *Journal of Analytical Atomic Spectrometry* 19, 4, 451, 2004.

V. Sturm, L. Peter and R. Noll *Steel analysis with laser-induced breakdown spectrometry in the vacuum ultraviolet*. Appl. Spectrosc. 54: 1275–1278, 2000

V. Sturm, L. Peter, and R. Noll, Applied Spectroscopy 54, 9, pág. 1275, 2000.

Y. Cardenas, *Validación interna del método “Determinación de hierro por absorción atómica en harina de trigo fortificada*. Trabajo de grado, Universidad Industrial de Santander, Escuela de Química 2005.

Y.H. Mbesse, M. Ghalila, Z. Boyomo, Lakhdar, *Classification of vegetable oils based on their concentration of saturated fatty acids using laser induced breakdown spectroscopy (LIBS)*. Food Chemistry 147, pág. 327-331, 2014