

ESTUDIO COMPARATIVO DE ALGUNOS METODOS UTILIZADOS EN LA DETERMINACION DE CALCIO Y MAGNESIO EN VEGETALES

*por C. Carpintero y
A. Suárez*

INTRODUCCION

Existen diferencias apreciables, en la determinación de Ca y Mg en el material vegetal, cuando se dan datos obtenidos, por diferentes laboratorios, sobre las mismas muestras. Estas diferencias son debidas, en su mayor parte, a los distintos métodos utilizados.

En la determinación del Ca en vegetales se han utilizado métodos colorimétricos, junto a los fotométricos y turbidimétricos, así como distintas variantes de los métodos complexiométricos. La fotometría de llama no da, según algunos autores, resultados aceptables.

La determinación del magnesio se ha hecho, fundamentalmente, siguiendo alguno de estos procedimientos: gravimetría, colorimetría y compleximetría. Siguen presentándose diferencias en los resultados y algunos métodos adolecen, por otro lado, de ser excesivamente largos, o perturbados por numerosas interacciones, además de la falta de precisión aludida. Más recientemente la fotometría de llama parecía traer nuevas esperanzas pero tampoco ha resuelto totalmente el problema.

Por otro lado, los resultados son en ocasiones diferentes, aun tratándose siempre de material vegetal, según la riqueza, en los elementos a analizar y aun la presencia, más o menos abundante, de los que le acompañan.

Esta situación no es, indudablemente, buena desde el punto de vista analítico sobre todo cuando se piensa en la necesidad de que los resultados de los distintos laboratorios sean comparables. Es lógico que, por ello, tengo un gran interés en encontrar métodos que al mismo tiempo sean sensibles, exactos y reproducibles.

Cuando se trata de conocer el contenido en estos minerales de las materias primas de origen vegetal, y sobre todo cuando se quieren conocer los datos referidos a las distintas especies botánicas, y, en fin, si se trata de comparar estos valores con los obtenidos por otros Centros y en diferentes latitudes, se hace indispensable el poder disponer de métodos que reunan, en este sentido, las mayores garantías.

El objeto de este trabajo es sencillamente, comparar, algunos de los métodos más utilizados hasta ahora, haciendo uso de material vegetal de distinta naturaleza botánica (gramíneas, leguminosas y otro material diverso).

REVISION BIBLIOGRAFICA.

WARD y HEFNEY¹¹ resumieron en un trabajo publicado en 1960, los resultados de una investigación llevada simultáneamente por 30 laboratorios canadienses en la que estudiaron la determinación del Ca, K y Mg en vegetales. Compararon los métodos más utilizados en cada uno de ellos y en especial la fotometría de llama. Para K compararon el método fotométrico y la turbidimetría, en el Ca, la fotometría, colorimetría y EDTA en dos variantes, y finalmente para el magnesio los mismos métodos que en el calcio. Los resultados obtenidos muestran que la fotometría de llama para el K y la modificación quelatométrica de EDTA para el Ca y Mg dan los resultados más seguros y reproducibles. Señalan estos autores que una fuente importante de error puede ser, en ocasiones, la forma de incinerar la muestra y de preparar las soluciones antes del análisis.

GUEGUEN y ROMBAUTS⁶ compararon la espectrofotometría de llama para determinar el Na, el K, Ca y Mg en alimentos y otros productos biológicos. Sus resultados les han permitido afirmar que la determinación de los tres primeros elementos, (Na, K, y Ca) se consigue, con buenos resultados, pero no así la Mg, que resulta muy delicada y exige el empleo de un fotomultiplicador de electrones y una llama de hidrógeno, que tenga una débil emisión en las longitudes de onda bajas.

MACLEAN⁸ compara la determinación complexométrica, con la colorimetría (amarillo de tiazol) y la fotometría de llama con hidrógeno y oxígeno frente a acetileno y oxígeno y encuentra resultados mejores con la llama de hidrógeno-oxígeno seguida de la colorimetría y EDTA. Los números hallados con la colorimetría (amarillo de tiazol) fueron especialmente buenos.

DELAS² ha encontrado que la adición de oxina hace que la fotometría de llama mejore sustancialmente al exaltar la emisión y disminuir las interferencias y esto es particularmente interesante en la determinación del Mg. En estas condiciones ha obtenido resultados con suficiente precisión y sin peligros de interacción. En el caso de Ca la resina reduce sensiblemente las interferencias debidas al fósforo y azufre aunque no las elimine. Sin embargo recientemente DUTHION,⁴ aunque trabajando en bases de cambio de suelo, no se muestra partidario de la adición de sustancias orgánicas.

DE LOOSE¹ ha fijado su atención sobre este problema y estudió la determinación del Mg en gramíneas. Ensayó el método de Bradfield sobre extractos en los que había eliminado los fosfatos con oxícloruro de zirconio a pH 4.5, junto con la colorimetría y la complexometría después de eliminar el calcio y los fosfatos en forma de oxalato. El método que ha dado mejores resultados es precisamente éste.

Más recientemente se ha introducido la espectrofotometría de absorción atómica como técnica analítica, y está adquiriendo un desarrollo extraordinario. En 1961 existían ya 200 publicaciones sobre este método, que WALSH había puesto a punto en 1955. Actualmente (1968) este número se ha hecho, según FABRY, diez veces mayor. Este método es una técnica física basada en la absorción de la energía radiante por los átomos y que une, a su sensibilidad, una gran precisión, reproducibilidad, ausencia casi completa de interferencias y simplicidad. No está, sin embargo, exenta de inconvenientes, como es tener un campo de acción limitado, formación de óxidos en la llama, no permite realizar análisis simultáneos y algunas interferencias. Esta técnica fue aplicada por SMITH¹⁰ en fertilizantes y por LACY⁸ en extractos de suelos, así como por otros muchos autores.

MATERIAL Y METODOS

El trabajo se ha realizado sobre 20 muestras de gramíneas (*Dactylis glomerata* L.), con un contenido bajo en Mg, y 20 leguminosas (*Trifolium pratensis* L.) con un contenido más alto en este elemento. En ellas se determinó el contenido en calcio y magnesio. Por otro lado, sobre otras 16 muestras (con un contenido variable de magnesio) y constituidas por yeros y habas como leguminosas; centeno, avena, cebada y maíz entre las gramíneas, junto con paja de garbanzos, muelas, lentejas y alubias, paja de trigo y finalmente, alfalfa verde, heno de alfalfa, alfalfa deshidratada, hierba de prado en floración y heno, se realizó la determinación de Mg.

El calcio se valoró con EDTA y AA y el Mg por complexometría, previa eliminación de los fosfatos según el método de DERDERIAN³ y calculando el magnesio por diferencia de calcio más magnesio y calcio solo; colorimetría (amarillo de tiazol)

según la técnica de YOUNG y GILL,¹² y por AA, empleando cloruro de lantano para eliminar las interferencias.

Para las lecturas se utilizaron el espectrofotómetro Beckman DB para la colorimetría y para el método de AA un espectrofotómetro Perkin Elmer/303.

Las determinaciones se hicieron siempre sobre muestras incineradas, por duplicado, y sobre cada una de ellas dos determinaciones. Los datos van referidos a tanto por ciento de materia seca.

RESULTADOS

En la tabla I se recogen los resultados obtenidos en la determinación del contenido en calcio en las muestras de dactilo y trébol rojo, por EDTA y AA. En las II y III se dan los valores que sobre las mismas muestras se obtuvieron por colorimetría, complexometría, AA para el Mg. Finalmente en la IV los datos obtenidos de Mg los métodos colorimétricos, gravimétricos, EDTA y AA en las dieciséis muestras de diferentes vegetales antes dadas.

Los datos obtenidos en cada una de las determinaciones fueron analizados estadísticamente, comparándose entre sí los diferentes métodos. Se ha tomado como error standard del método la media de todos los errores standard calculados sobre las determinaciones realizadas.

Como la determinación del Mg por complexometría se realiza por diferencia entre el valor de la suma calcio + magnesio y calcio solo, se han comparado también los valores de calcio obtenido por este procedimiento. Los errores cometidos en la determinación del calcio afectaron también a los valores del magnesio.

DISCUSION DE LOS RESULTADOS

El error standard de los datos obtenidos para el Mg, por compleximetría fue de 0,014 en las muestra de dactilo, y 0,028 con las de trébol. En la colorimetría estos valores fueron, respectivamente, 0,014 y 0,059, con evidente desventaja para este método. Expresando en porcentajes estos errores resulta en 17,2 % y 9,3 % para el EDTA, y el 29,3 % y 17,8 % en la colorimetría según se trate de muestras de dactilo o trébol respectivamente. Es decir valores más atendibles con el EDTA que con la colorimetría y mejores resultados sobre muestras de leguminosas, que son las más ricas, que con las más pobres (gramíneas).

Estos mismos resultados se obtuvieron con el calcio donde los porcentajes fueron 12,4 y 0,46% respectivamente en gramíneas y leguminosas.

Para cada serie de muestras, tomadas en conjunto, hemos calculado los valores del error standard de la media, los coeficientes de variación, la desviación típica de la diferencia de medias y la significación de esta diferencia.

TABLA I

Contenido en calcio del *Dactylis glomerata* y *Trifolium pratensis* por A. A. y EDTA

N.º muestra	<i>Dactylis glomerata</i>		<i>T. pratensis</i>	
	EDTA %	A. A. %	EDTA %	A. A. %
1	0,20	0,20	1,19	0,87
2	0,15	0,20	0,87	0,19
3	0,20	0,18	0,31	0,68
4	0,19	0,22	1,15	0,74
5	0,15	0,19	1,47	1,03
6	0,18	0,21	1,51	1,00
7	0,15	0,14	1,49	0,98
8	0,24	0,24	0,96	0,96
9	0,20	0,28	1,21	0,75
10	0,20	0,28	1,27	—
11	0,18	0,20	1,65	1,18
12	0,16	0,20	1,12	1,06
13	0,24	0,38	1,15	0,80
14	0,19	0,30	0,97	0,76
15	0,14	0,25	1,77	0,98
16	0,15	0,20	1,43	—
17	0,19	0,28	1,34	0,90
18	0,22	0,28	1,31	0,83
19	0,20	0,20	1,42	0,98
20	0,21	0,21	1,12	0,81
Media	0,19	0,23	1,28	0,92

TABLA II

Contenido en magnesio de las muestras de *Dactylis glomerata* por distintos métodos

N.º muestra	Colorimetría %	Complexometría %	Absorción atómica %
1	0,15	0,13	0,10
2	0,11	0,03	0,20
3	0,25	0,03	0,14
4	0,14	0,09	0,10
5	0,16	0,08	0,10
6	0,18	0,09	0,16
7	0,10	0,05	0,09
8	0,15	0,10	0,15
9	0,09	0,09	0,16
10	0,16	0,13	0,13
11	0,10	0,09	0,15
12	0,17	0,11	0,13
13	0,15	0,09	0,15
14	0,10	0,09	0,10
15	0,17	0,07	0,09
16	0,10	0,10	0,12
17	0,12	0,07	0,13
18	0,11	0,03	0,11
19	0,10	0,10	0,15
20	0,13	0,04	0,11
Media	0,14	0,081	0,13

TABLA III

Contenido en magnesio de las muestras de *Trifolium pratensis* por los distintos métodos

N.º muestra	Colorimetría	Complexometría	Absorción atómica
1	0,43	0,32	0,38
2	0,47	0,33	0,47
3	0,39	0,43	0,31
4	0,35	0,26	—
5	0,53	0,37	0,54
6	0,43	0,34	0,53
7	0,30	0,24	0,30
8	0,30	0,20	0,32
9	0,26	0,26	0,25
10	0,35	0,36	—
11	0,34	0,34	0,44
12	—	0,18	0,26
13	0,43	—	0,35
14	0,22	0,19	0,31
15	0,23	0,26	0,28
16	0,25	0,28	—
17	0,23	0,38	0,31
18	0,23	0,33	0,34
19	0,23	0,27	0,48
20	0,34	0,47	0,65
Media	0,33	0,30	0,39

TABLA IV

Contenido en Mg en muestras vegetales diversas, determinado por los distintos métodos

N.º muestra	Colorimetría %	Gravimetría %	EDTA %	Absorción atómica %
1 Yeros	0,073	0,107	0,086	0,160
2 Centeno	0,070	0,134	0,103	0,160
3 Habas	0,092	0,113	0,094	0,179
4 Avena	0,072	0,095	0,128	0,226
5 Maíz	0,073	0,125	0,073	0,165
6 Cebada	0,088	0,096	0,085	0,373
7 Paja garbanzos	0,078	0,363	0,187	0,332
8 Paja muelas	0,162	0,303	0,239	0,333
9 Paja lentejas	0,208	0,380	0,234	0,263
10 Paja trigo	0,157	0,076	0,171	0,241
11 Paja alubias	0,402	0,472	0,475	0,596
12 Alfalfa	0,219	0,287	0,306	0,364
13 Heno de alfalfa	0,153	0,197	0,222	0,280
14 Alfalfa deshidrat ..	0,284	0,289	0,262	0,361
15 Hierba	0,218	0,507	0,222	0,309
16 Heno de hierba	0,141	0,193	0,143	0,218
Media	0,203	0,241	0,231	0,306

Los valores encontrados aparecen en la tabla V que se copia a continuación.

TABLA V

	Método	Valor medio	E. S. (de la media)	C. V.	E. S. (de la diferencia de medias)	«t»
Dactilo	A-A	0,13	0,0063	4,84	A-A-Color. (0,011)	0,83
	EDTA	0,081	0,0067	8,27	A-A-EDTA. (0,009)	5,53
	Color.	0,14	0,0086	6,14	EDTA-Color. (0,011)	4,90
Trébol	A-A	0,39	0,025	6,41	A-A-Color (0,033)	1,60
	EDTA	0,30	0,017	5,66	A-A-EDTA (0,032)	2,40
	Color.	0,33	0,020	6,00	EDTA-Color (0,027)	1,04
Mezclas	A-A	0,29	0,027	9,40	A-A-Color (0,031)	3,40
	EDTA	0,19	0,025	13,08	A-A-EDTA (0,033)	2,62
	Color	0,16	0,023	14,74	A-A-Grav. (0,038)	1,57
	Grav.	0,23	0,034	14,79	EDTA-Color (0,030)	0,85
					EDTA-Grav. (0,038)	0,83

El coeficiente de variación más bajo para el magnesio corresponde al método de AA para el dactilo y las muestras de distintos vegetales. En las muestras de trébol no se encuentran diferencias apreciables con ninguno de los tres métodos. El valor del coefi-

ciente de variación aplicado a los resultados obtenidos con el EDTA es más bajo en este elemento y el mayor error que se produce en la determinación.

En las 16 muestras de distintos productos de origen vegetal el coeficiente de variación fue más bajo para el método AA, seguido del EDTA, colorimetría y gravimetría sucesivamente.

Calculando los errores standard entre los distintos métodos se obtuvieron los valores siguientes:

	Dactilo	Trébol	Mezcla
A-A-EDTA	0,014	0,030	0,027
A-A-colorimetría	0,010	0,030	0,036
EDTA-colorimetría	0,017	0,020	0,013
A-A-gravimetría			0,029
gravimetría-colorimetría			0,028
gravimetría-EDTA			0,098

CONCLUSIONES

La determinación del calcio por complexometría viene afectada de un error muy bajo, sobre todo en el caso de las leguminosas.

El método complexométrico es más preciso que el colorimétrico aplicado a la determinación de magnesio en leguminosas y gramíneas. El porcentaje de error es superior en ambos métodos para la gramínea que para la leguminosa.

Comparando los métodos aplicados a una clase de plantas encontramos un coeficiente de variación más bajo, en general, por el método de absorción atómica, seguido de EDTA, colorimetría y gravimetría. Este coeficiente de variación, en el caso de la gramínea, con contenido bajo en dicho elemento, resulta más elevado.

RESUMEN

Se comparan el EDTA y la AA como métodos para la determinación del Ca, sobre muestras de gramíneas y leguminosas. Se comparan, por otro lado, la colorimetría, el EDTA, la gravimetría y la AA en la determinación de Mg, en las mismas muestras y también en otras de distinto origen vegetal.

La determinación con EDTA se muestra, en general, más adecuada para la determinación de Ca, siendo el método de AA el que mejores resultados da en la determinación del magnesio.

RESUME

On compare l'EDTA avec l'absorption atomique comme des méthodes pour la détermination de Ca dans des graminées et dans des légumineuses. D'autre part, on compare aussi une méthode colorimétrique et une autre gravimétrique avec les méthodes EDTA et AA (absorption atomique) pour la détermination de Mg dans les mêmes échantillons ci-dessus indiqués et dans d'autres d'origine végétale différente.

La méthode EDTA est, en général, la plus appropriée pour la détermination de Ca. Cependant, dans la détermination de Mg les meilleurs résultats furent obtenus para la méthode AA.

SUMMARY

A comparison is made between EDTA and AA (atomic absorption) as Ca determination methods in graminous and leguminous plants. Another comparison is also made between a colorimetric method, a gravimetric method, EDTA method and AA method for Mg determination in the same aboindicated samples and in other samples of different vegetal origin.

EDTA method is usually the most suitable in Ca determination. However, the best results in Mg determination were obtained by AA method.

BIBLIOGRAFIA

- (1) DE LOOSE, R. (1965). *Revue de L'Agriculture*, 18, 193.
- (2) DELAS, J. (1964). *Ann. Agron.*, 15, 633.
- (3) DERDERIAN, M. D. (1961) *Anal. Chem.*, 33, 1.796.
- (4) DUTHION, C. (1965) *Ann. Agron.*, 16, 433.
- (5) FABRY, J. (1968) *Ann. Gembl.* 74: 53, 62.
- (6) GUEGUEN, L., ROMBAUTS, p. (1961) *Ann. Biol. Anim. Bioch. Biophys.* 1, 80.
- (7) KOLTHOFF, I. M., 1956) *Nigar*.
- (8) LACY, J. (1965) *Analyt.*, 90, 65.
- (9) MacLEAN. (1964) *Can. J. Plant. Sci.*, 44, 520.
- (10) SMITH, J. B., MANNGING, P. B. (1964) *A. O. A. C.*, 47, 450.
- (11) WARD, G. M.; HEENEY, H. P. (1960) *Can. J. Plant. Sci.*, 40, 589.
- (12) YOUNG, H., GILL, R. F. (1951) *Anal. Chem.*, 23, 751.