

Determinación de cobalto en plantas pratenses por espectrofotometría de A.A. y espectroscopia de la reflectancia de R.I.

M.^a I. DÍAZ-GUEMES PÉREZ, B. GARCÍA CRIADO, A. GARCÍA CIUDAD Y L. LEÓN MORÁN

Centro de Edafología y Biología Aplicada (CSIC), apdo. 257.
Salamanca

RESUMEN

Se realiza un estudio crítico de la determinación de Co en plantas pratenses por EAA siguiendo el método de GELMAN, ligeramente modificado por nosotros, y por ERRI, según proponen GARCÍA CRIADO y cols. En el primer caso se hace una extracción utilizando APDC y MIBK, se estudia la influencia del pH y tiempos de agitación y separación de fases. En el segundo caso, la calibración del sistema de reflectancia de RI se lleva a cabo con muestras de composición conocida, no precisándose reactivos de ninguna clase.

Se comprueba que para una extracción total de Co la acidez óptima requerida es a pH = 1 y los tiempos mínimos necesarios para la agitación y separación de fases de uno y quince minutos respectivamente. El método de GELMAN modificado resulta más preciso, exacto y rápido que el inicialmente propuesto por este autor.

La nueva técnica de ERRI permite estimar la concentración de Co en plantas pratenses con un error estándar de predicción entre $\pm 0,009\%$ y $\pm 0,020\%$, pudiéndose analizar entre 20 y 30 muestras por hora. Estos resultados ponen de manifiesto que la ERRI puede ofrecer grandes posibilidades en el análisis rápido de elementos minerales.

INTRODUCCIÓN

Según UNDERWOOD (1968), desde hace casi medio siglo se reconoce la gran importancia que el elemento cobalto tiene para la nutrición de las

plantas y los animales. Fue en 1962 cuando este autor estableció la esencialidad del elemento en la nutrición de los animales rumiantes, y afirmó que la corrección de deficiencias en plantas y animales es relativamente fácil si se compara con su determinación analítica.

Mediante el análisis espectrográfico de suelos se han podido eliminar muchas zonas deficientes en Co, pero la determinación de este elemento en plantas presenta serias dificultades debido a que se encuentra en muy bajas concentraciones. En consecuencia, se necesitan métodos analíticos para determinarlo de forma rápida y precisa.

En la bibliografía actual, JAGO y cols. (1971), GELMAN (1972), SIMMONS (1973), HAGEMAN (1975), etc., se reconoce a la espectrofotometría de absorción atómica (EAA) como una de las mejores técnicas en este tipo de análisis. Sin embargo, hasta la fecha no se conocen procedimientos para la determinación de Co por espectroscopia de la reflectancia de rayos infrarrojos (ERRI). Por otro lado, GELMAN asegura que la determinación directa de Co en plantas por EAA no es viable al encontrarse en muy baja concentración. Ello se resuelve con facilidad, MULFORD (1966), LAKANEM (1966), JAGO y cols. (1971) y GELMAN (1972), acomplejando el Co y después extrayéndolo con un disolvente orgánico apropiado. Pero el proceso resulta relativamente engorroso, cosa que no ocurre cuando se aplica la ERRI, aunque las determinaciones sean, por ahora, poco precisas.

En este trabajo se hace un estudio crítico de la determinación de Co en plantas pratenses por EAA siguiendo el método de GELMAN (1972), ligeramente modificado, y por ERRI según proponen GARCÍA CRIADO y cols. (1977, 1978).

En el primer caso se realiza una extracción utilizando ácido 1-pirrolidinitio-carboxílico (APDC) como agente quelatante e iso-butilmetilcetona (MIBK) como agente extractante y se estudia la influencia del pH y tiempos de agitación y separación de fases. Una vez conocidos estos factores, se introducen ciertas modificaciones en el proceso de mineralización propuesto por GELMAN con objeto de ganar rapidez y simplicidad.

En el segundo caso, al utilizar la ERRI cabe destacar que el tiempo requerido para una determinación es de solo dos-tres minutos y no se precisa ningún tipo de reactivo.

PARTE EXPERIMENTAL

1. ESPECTROFOTOMETRÍA DE AA

Preparación de la muestra

Las muestras de plantas se desecan en una estufa de aire forzado a 80° C. Una vez desecadas se molieron en un micromolino tipo Culatti con luz de malla 1 mm, evitando, en lo posible, el calentamiento y recogiendo cuidadosamente el polvillo que pudiese quedar adherido a las diversas partes de éste. Las muestras molidas se homogeneizan por cuarteo y se almacenan en frascos para después proceder a su análisis.

Reactivos

— Disolución de 200 ppm de Co. Se disuelven 0,4038 g de $\text{Cl}_2\text{Co} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, previamente desecado en una estufa a 50°C durante toda la noche, en la mínima cantidad de agua destilada, se añaden 2 ml de HCl 0,1N y se lleva a 500 ml con agua destilada.

— Disolución de Co de 10 ppm. Se prepara a partir de la anterior.

— Acido clorhídrico 0,1N.

— Disolución al 2 % de ácido 1-pirrolidinditio-carboxílico sal amónica (APDC), reactivo MERCK.

— Iso-butilmetilcetona para análisis (MIBK), reactivo MERCK.

— Patrones: se preparan de 0,1, 0,4, 0,7, 1,0 y 2,0 ppm de Co, tomando las alícuotas correspondientes de la solución de 10 ppm y diluyendo con agua destilada hasta 50 ml.

Modificaciones introducidas en el método de GELMAN y procedimiento general

a) Modificaciones

1.^a La calcinación de las muestras se realiza en una sola etapa, a baja temperatura al principio y luego a 450°C durante ocho horas. GELMAN (1972) la lleva a cabo en dos etapas de nueve y cinco horas, tratando las cenizas con HNO_3 concentrado (previamente a la segunda etapa) y evaporando a sequedad con lámpara de rayos infrarrojos.

2.^a La disolución de las cenizas se realiza en dos etapas: primero se atacan con una mezcla de $\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}$ (proporción 1:1:8) en un baño de arena a 60°C , se llevan casi a sequedad, y después se vuelve a disolver con HCl 0,1N. GELMAN (1972) lo realiza en tres pasos: primero las disuelve con HCl 6N y evapora a sequedad, a continuación ataca con HCl 0,1N y evapora de nuevo, por último vuelve a disolver el residuo con HCl 0,1N.

b) Procedimiento general

La determinación de Co en plantas praterenses comprende dos fases:

1.^a *Mineralización*. Según GORSUCH (1959) y SIMMONS (1975), la digestión de las muestras puede realizarse por vía húmeda o seca, ya que ambos procesos conducen a idénticos resultados. Aquí se utiliza la última vía; para ello se pesa en cápsulas de porcelana 5 g de muestra seca y se introducen en un horno de mufla, elevando la temperatura lenta y gradualmente hasta alcanzar 450°C para permanecer así durante ocho horas. A las cenizas, una vez frías y pesadas, se añade cuidadosamente 2 ml de agua destilada, dejando resbalar por la pared de la cápsula para evitar salpicaduras, seguidamente 10 ml de solución $\text{HNO}_3/\text{HCl}/\text{H}_2\text{O}$ destilada en la proporción 1:1:8 y se llevan a sequedad en un baño de arena (aproximadamente tres horas).

El residuo se disuelve con HCl 0,1N caliente y se filtra, lavando varias veces hasta alcanzar 25 ml.

2.^a *Extracción*. El filtrado obtenido en la fase anterior se pasa a un tubo alargado de 100 ml juntamente con 3 ml del mismo ácido para lavar y arrastrar todo el contenido. Se adicionan 2 ml de APDC para formar el complejo de Co y 3 ml de MIBK para la extracción. Se agita vigorosa-

mente durante un minuto en un agitador y se deja reposar quince minutos hasta conseguir la separación de las dos fases. Como la fase orgánica se encuentra sobre la acuosa, las medidas pueden hacerse directamente de los mismos tubos de agitación.

Patrones

Se preparan tomando 1 ml de cada uno de los patrones indicados en el apartado de reactivos, 50 ml de HCl 0,1N, 2 ml de APDC y 5 ml de MIBK, todo ello en un tubo de 100 ml, y se extrae como se describe para las muestras. Los patrones preparados de esta forma tienen un rango desde 0,04 a 0,40 ppm de Co. La curva de calibrado es totalmente lineal para 0,04, 0,10, 0,20 y 0,40 ppm, que comprenden la zona de trabajo utilizada.

Aparatos

- Estufa de desecación con aire forzado «VISMARA».
- Estufa de desecación «HERAEUS».
- Balanzas de precisión y granatario «OERTLING» y «SARTORIUS», respectivamente.
- Micromolino tipo «CULATTI» con luz de malla 1 mm.
- Horno de mufla «HERON».
- Agitador vuelta a vuelta.
- Espectrofotómetro de absorción atómica «VARIANTECH-TRON», modelo 1.250.

Medida

Las medidas espectrofotométricas se realizan directamente con corriente de lámpara 10 mA, paso de banda 0,2 nm y longitud de onda 240,2 nm, utilizando una expansión de escala de x 5.

ESPECTROSCOPIA DE LA REFLECTANCIA DE RI

La preparación de las muestras en este caso es la misma que antes se indicó para el método de GELMAN (EAA) y no se precisa reactivo alguno. Únicamente cabe señalar que la calibración del aparato de medida se realiza con muestras de composición conocida, siguiendo las indicaciones de GARCÍA CRIADO y cols. (1977, 1978). Para ello se determinó previa y manualmente, por duplicado, la concentración de Co por el método de GELMAN modificado en diversas muestras de plantas; 19 de *Lolium perenne* L., 17 de *Lolium multiflorum* L., 20 de *Medicago sativa* L. y 64 de un pastizal de zona semiárida. Luego se fueron pasando las citadas muestras por el aparato (Infra-Alyzer) y se relacionaron, individualmente para cada tipo de planta, los resultados obtenidos manualmente frente a las reflectancias de rayos infrarrojos emitidas por dichas muestras.

Aparatos

- Analizador automático Infra-Alyser «TECHNICON», modelo 2.5 A.
- Ordenador de mesa «HELWLETT PACKARD», modelo 9.815 A.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En el estudio crítico de la determinación de Co por el método de GELMAN con las modificaciones ya aludidas y utilizando la EAA, se obtienen los resultados siguientes:

a) Influencia del pH en la extracción

GELMAN (1972), JAGO y cols. (1971), MULFORD (1966), HAGEMAN (1975), entre otros, consideran que la acidez es crítica en este tipo de extracciones. Por esta razón, en primer lugar se estudia la influencia del pH sobre la extracción de Co en muestras de *Medicago sativa* L., siendo los resultados obtenidos (media de tres repeticiones) los que se indican en la figura 1. En ella se observa que la máxima extracción del elemento se logra a pH = 1, correspondiendo a una concentración de ácido clorhídrico 0,1N; esta acidez coincide con la propuesta por GELMAN (1972).

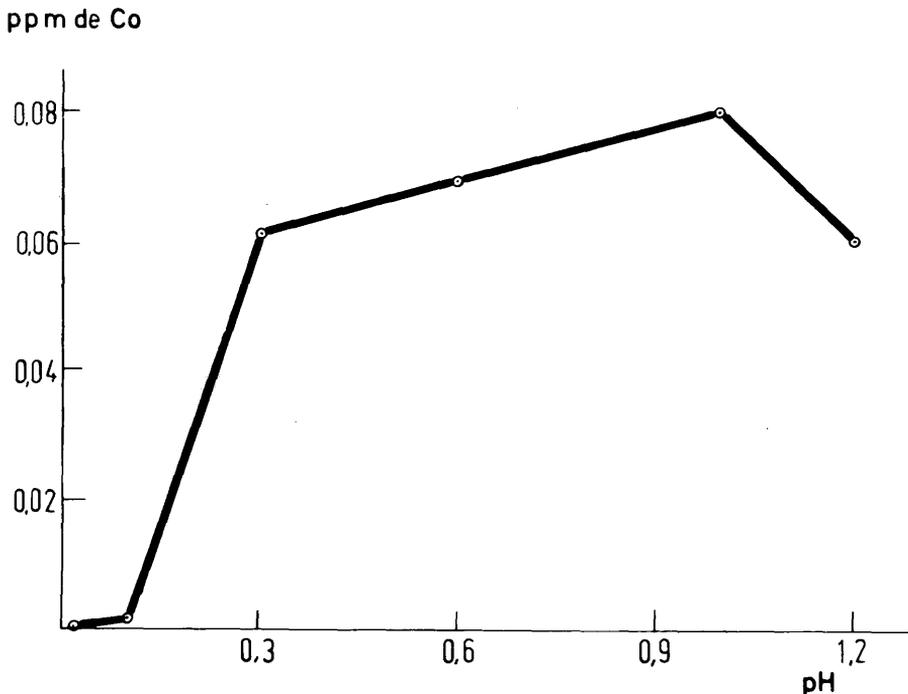


FIG. 1.—Influencia del pH sobre la extracción de cobalto en alfalfa.

b) *Tiempos de agitación y separación de fases*

En la tabla I se muestran los resultados de un ensayo realizado para conocer los tiempos mínimos de agitación y separación de fases requeridas en la determinación de Co. Para ello se utilizan dos muestras (una de *Medicago sativa* L. y otra de *Trifolium repens* L.) en las cuales la extracción se realiza empleando diferentes tiempos en la agitación y separación de fases. Los resultados expresados en la citada tabla ponen de manifiesto que con un minuto de agitación vigorosa y con quince de reposo son suficientes para alcanzar buenas extracciones de Co, lo que también coincide con lo señalado por GELMAN (1972).

TABLA I

ESTUDIO DEL TIEMPO DE AGITACION Y SEPARACION DE FASES

Tiempo (minutos)		Co (ppm)	
Agitación	Separación	Alfalfa	Trébol
1	15	0,079	0,097
		0,081	0,100
		0,078	0,101
Valor medio		0,0793	0,0993
2	30	0,080	0,100
		0,081	0,103
		0,078	0,099
Valor medio		0,0797	0,1007
5	120	0,079	0,097
		0,080	0,102
		0,080	0,101
Valor medio		0,0797	0,1000

c) *Precisión*

La tabla II muestra los resultados obtenidos en la determinación de Co en tres muestras de *Medicago sativa* L., *Trifolium repens* L., y *Festuca arundinacea* Schreb., aplicando diez veces consecutivas, sobre cada una de ellas, el método de GELMAN modificado. De los valores resultantes en los tres casos (media, desviación típica, error estándar y coeficiente de variación) se deduce que la precisión del método es tres veces superior a la indicada por dicho autor; éste obtuvo coeficientes de variación entre 5,3 y 8,9 %.

d) *Exactitud*

Para conocer la recuperación de Co por el método modificado se adicionan cantidades conocidas de Co sobre una muestra de *Medicago sativa* L. y se determina la concentración del elemento tres veces consecutivas en cada caso. Los resultados expresados en la tabla III indican que la

TABLA II

ESTUDIO DE LA PRECISION EN LA DETERMINACION DE Co POR EL METODO DE GELMAN MODIFICADO

Muestra de alfalfa	ppm de Co	Muestra de trébol	ppm de Co	Muestra de festuca	ppm de Co
1	0,078	1	0,101	1	0,042
2	0,079	2	0,102	2	0,040
3	0,081	3	0,099	3	0,041
4	0,080	4	0,100	4	0,041
5	0,080	5	0,101	5	0,040
6	0,082	6	0,101	6	0,040
7	0,079	7	0,100	7	0,039
8	0,080	8	0,098	8	0,038
9	0,079	9	0,099	9	0,040
10	0,080	10	0,097	10	0,039
Valor medio	0,0798		0,0998		0,0400
Desv. típica	0,0011		0,0015		0,0012
Error estándar	0,0003		0,0005		0,0004
Coef. de variación (%) ..	1,38		1,50		3,00

TABLA III

ESTUDIO DE LA EXACTITUD EN LA DETERMINACION DE Co POR EL METODO DE GELMAN MODIFICADO

Muestra	ppm de Co añadido	ppm de Co encontrado	Recuperación (%)
1	—	0,080	—
2	—	0,080	—
3	—	0,080	—
4	0,08	0,160	—
5	0,08	0,157	97,92
6	0,08	0,158	—
7	0,20	0,273	—
8	0,20	0,275	97,67
9	0,20	0,278	—
10	0,40	0,479	—
11	0,40	0,478	100,67
12	0,40	0,486	—
Recuperación media total			98,61

recuperación es prácticamente total (98,61 %). En consecuencia, se trata de un método muy exacto; GELMAN (1972) obtuvo una recuperación media del 96,66 %, lo que indica que su método es menos exacto que aquél modificado.

e) *Sensibilidad*

Operando en la zona de trabajo indicada (0,04-0,40 ppm de Co) el procedimiento de análisis resulta lo suficientemente sensible, puesto que se parte de 5 g de muestra de los cuales se extrae el Co en 3 ml de MIBK y las lecturas en el espectrofotómetro se realizan con una expansión de escala de $\times 5$.

f) *Rapidez*

En todo método analítico, el tiempo requerido en las operaciones es un factor fundamental a tener en cuenta, máxime si se trata de análisis en rutina. El procedimiento modificado también aventaja al de GELMAN, ya que son menos las etapas que precisa y, por tanto, las operaciones se reducen notablemente. Se estima que el análisis de 20 muestras se puede reducir en cinco horas de manipulación siguiendo el método modificado, lo que supone un ahorro de tiempo considerable.

g) *Estabilidad del complejo de Co*

Una vez efectuada la extracción de Co en un número determinado de patrones y muestras se dejó transcurrir media hora y se midió su concentración; después, pasadas veinticuatro horas se volvió a medir para, de nuevo, volverlo a hacer a las cuarenta y ocho horas de realizar la extracción; en los tres casos señalados los resultados se comparan con los obtenidos, midiendo patrones recientemente preparados.

Se encuentra que, tanto los patrones como las muestras, pierden de dos a cuatro unidades de absorbancia por día, por lo que se recomienda realizar las lecturas lo antes posible después de la extracción. Esto nos pone de manifiesto que antes de veinticuatro horas el complejo de Co pierde estabilidad.

En lo que respecta a la determinación de Co, mediante la espectroscopia de la reflectancia de rayos infrarrojos, los resultados se expresan en las tablas IV, V y VI, a nivel de especie, y en la VII a nivel de pastizal. En ellas también figuran los resultados del análisis manual (EAA), las diferencias entre ambas determinaciones, sus valores medios y extremos, las desviaciones típicas, el error estándar de estimación, el coeficiente de correlación múltiple, el índice de error sistemático y la selección de reflectancias que en cada caso fue utilizada para predecir las concentraciones de Co.

Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que mediante la ERRI se puede estimar la concentración de Co en plantas con errores de estimación de 0,0063 % para *Lolium perenne* L., 0,0146 % para *Lolium multiflorum* L., 0,0092 % para *Medicago sativa* L. y 0,0239 % a nivel de pastizal. En este último caso las diferencias entre ambos métodos de análisis son más acusadas (tabla VII), como consecuencia de la gran heterogeneidad de las muestras. Sin embargo, las medidas espectroscópicas resultan muy semejantes a las que encuentran SHENK y cols. (1979), cuando aplican dicha técnica en la estimación de otros elementos minerales.

También se ha podido comprobar que cada tipo de forraje requiere una determinada combinación de reflectancias. Así, para *L. perenne* resulta

TABLA IV

DETERMINACION DE COBALTO (ppm SOBRE SS) EN MUESTRAS DE *LOLIUM PERENNE* POR ERRI Y EAA

Muestras	Método de análisis		Diferencias (ppm)
	ERRI	EAA	
1	0,0480	0,0450	0,0030
2	0,0290	0,0380	- 0,0090
3	0,0250	0,0300	- 0,0050
4	0,0484	0,0530	- 0,0046
5	0,0453	0,0380	0,0073
6	0,0335	0,0300	0,0035
7	0,0318	0,0300	0,0018
8	0,0292	0,0300	- 0,0008
9	0,0355	0,0380	- 0,0025
10	0,0295	0,0300	- 0,0005
11	0,0694	0,0680	0,0014
12	0,0271	0,0230	0,0041
13	0,0225	0,0150	0,0075
14	0,0233	0,0150	0,0083
15	0,0270	0,0230	0,0040
16	0,0497	0,0530	- 0,0033
17	0,0261	0,0340	- 0,0079
18	0,0293	0,0380	- 0,0087
19	0,0243	0,0230	0,0013
Medias	0,0344	0,0344	± 0,0044
V. extremos	0,0233-0,0694	0,0150-0,0680	- 0,0090-0,0083
Varianza	0,00002	0,00018	
Desviación típica	0,0123	0,0134	

Error estándar: 0,0063
 Coeficiente de correlación múltiple: R = 0,7768 Co = f (R₂, R₃, R₄, R₅, R₆)
 Índice de error sistemático: 0,00004

TABLA V

DETERMINACION DE COBALTO (ppm SOBRE SS) EN MUESTRAS DE *LOLIUM MULTIFLORUM* POR ERRI Y EAA

Muestras	Método de análisis		Diferencias (ppm)
	ERRI	EAA	
1	0,1034	0,1090	- 0,0056
2	0,0815	0,0680	0,0135
3	0,0467	0,0300	0,0167
4	0,0388	0,0380	0,0008
5	0,0193	0,0230	- 0,0037
6	0,0997	0,1130	- 0,0132
7	0,0809	0,1050	- 0,0241
8	0,0674	0,0640	0,0034
9	0,0487	0,0300	0,0187
10	0,0910	0,1050	- 0,0139
11	0,0669	0,0600	0,0069
12	0,0535	0,0600	- 0,0065
13	0,0431	0,0380	0,0051

Continuación, tabla V

Muestras	Método de análisis		Diferencias (ppm)
	ERRI	EAA	
14.....	0,0355	0,0450	- 0,0095
15.....	0,0418	0,0530	- 0,0112
16.....	0,1080	0,0830	0,0250
17.....	0,0425	0,0450	- 0,0025
Medias.....	0,0629	0,0629	± 0,0114
V. extremos.....	0,0193-0,1080	0,0230-0,1130	- 0,0241-0,0250
Varianza.....	0,0007	0,0009	
Desviación típica.....	0,0269	0,0300	
Error estándar: 0,0146			
Coeficiente de correlación múltiple: R = 0,7612			Co = f (R ₂ , R ₃ , R ₄)
Indice de error sistemático: - 0,00003			

TABLA VI

DETERMINACION DE COBALTO (ppm SOBRE SS) EN MUESTRAS DE *MEDICAGO SATIVA* POR ERRI Y EAA

Muestras	Método de análisis		Diferencias (ppm)
	ERRI	EAA	
1.....	0,1030	0,0980	0,0050
2.....	0,0694	0,0600	0,0094
3.....	0,0797	0,0680	0,0117
4.....	0,0771	0,0830	- 0,0059
5.....	0,0839	0,0900	- 0,0060
6.....	0,0644	0,0560	0,0084
7.....	0,0715	0,0680	0,0035
8.....	0,0615	0,0600	0,0015
9.....	0,0842	0,0680	0,0162
10.....	0,0773	0,0750	0,0023
11.....	0,0779	0,0900	- 0,0122
12.....	0,0386	0,0380	0,0006
13.....	0,0287	0,0300	- 0,0013
14.....	0,0188	0,0300	- 0,0112
15.....	0,0537	0,0490	0,0047
16.....	0,1173	0,1350	- 0,0177
17.....	0,0960	0,0980	- 0,0020
18.....	0,0568	0,0600	- 0,0032
19.....	0,0404	0,0380	0,0024
20.....	0,0468	0,0530	- 0,0062
Medias.....	0,0673	0,0674	± 0,0066
V. extremos.....	0,0188-0,1173	0,0300-0,1350	- 0,0177-0,0162
Varianza.....	0,0006	0,0007	
Desviación típica.....	0,0249	0,0263	
Error estándar: 0,0092			
Coeficiente de correlación múltiple: R = 0,8782			Co = f (R ₁ , R ₃ , R ₄)
Indice de error sistemático: - 0,00003			

TABLA VII

DETERMINACION DE COBALTO (ppm SOBRE SS) EN MUESTRAS DE PASTIZAL
POR ERRI Y EAA

Muestras	Método de análisis		Diferencias (ppm)
	ERRI	EAA	
1	0,1401	0,1430	-0,0029
2	0,1314	0,1500	-0,0186
3	0,1395	0,1650	-0,0255
4	0,1262	0,1580	-0,0318
5	0,2376	0,2576	-0,0174
6	0,1293	0,1310	-0,0017
7	0,1396	0,1130	0,0266
8	0,1352	0,1200	0,0152
9	0,1031	0,1280	-0,0249
10	0,1236	0,1130	0,0106
11	0,1499	0,1280	0,0219
12	0,1996	0,1880	0,0116
13	0,1324	0,1430	-0,0106
14	0,1201	0,1280	-0,0078
15	0,1226	0,0940	0,0286
16	0,1439	0,1160	0,0279
17	0,1864	0,1500	0,0364
18	0,1283	0,1130	0,0153
19	0,1919	0,1580	0,0339
20	0,2343	0,2400	-0,0057
21	0,2727	0,2930	-0,0202
22	0,1907	0,1500	0,0406
23	0,1191	0,1200	-0,0009
24	0,1140	0,0900	0,0240
25	0,1239	0,1050	0,0189
26	0,0750	0,1050	-0,0299
27	0,1119	0,0980	0,0139
28	0,1334	0,1200	0,0134
29	0,1241	0,1050	0,0191
30	0,1806	0,1650	0,0156
31	0,1643	0,1430	0,0213
32	0,1227	0,1430	-0,0203
33	0,1005	0,0900	0,0105
34	0,0954	0,0830	0,0124
35	0,0696	0,0680	0,0016
36	0,1197	0,1200	-0,0003
37	0,1888	0,2030	-0,0141
38	0,1409	0,1730	-0,0320
39	0,1093	0,0980	0,0113
40	0,1856	0,1650	0,0206
41	0,1745	0,1430	0,0315
42	0,1639	0,1950	-0,0311
43	0,1752	0,2030	-0,0278
44	0,1370	0,1800	-0,0429
45	0,1301	0,1650	-0,0348
46	0,0742	0,0980	-0,0238
47	0,1537	0,1800	-0,0262
48	0,1157	0,1130	0,0027
49	0,2070	0,1950	0,0119
50	0,2423	0,2440	-0,0017
51	0,1574	0,1150	0,0444
52	0,1237	0,1580	-0,0343
53	0,1150	0,1200	-0,0050
54	0,1149	0,1540	-0,0391

TABLA VII (continuación)

Muestras	Método de análisis		Diferencias (ppm)
	ERRI	EAA	
55	0,1579	0,1580	- 0,0001
56	0,1559	0,1880	- 0,0321
57	0,1033	0,0900	0,0133
58	0,1717	0,1650	0,0067
59	0,1001	0,0830	0,0171
60	0,2120	0,2330	- 0,0209
61	0,1999	0,2400	- 0,0401
62	0,1225	0,1330	0,0095
63	0,0989	0,0750	0,0239
64	0,0950	0,0830	0,0120
Medias	0,1447	0,1450	± 0,0195
V. extremos	0,0696-0,2727	0,0680-0,2930	0,0429-0,0444
Varianza	0,0018	0,0024	
Desviación típica	0,0426	0,0492	

Error estándar: 0,0239
 Coeficiente de correlación múltiple: R = 0,7556 Co = f (R₁, R₂, R₃, R₄, R₅)
 Índice de error sistemático: 0,00061

% Co = f (R₂, R₃, R₄, R₅, R₆) y para *L. multiflorum* % Co = f (R₂, R₃, R₄). Esto concuerda, asimismo, con resultados anteriores de GARCÍA CRIADO y cols. (1978) y SHENK y cols. (1979).

Finalmente, cabe señalar que mediante la ERRI es posible estimar la concentración de elementos minerales en plantas con mayor o menor error, según el tipo de forraje y elemento mineral que se considere. No obstante, somos conscientes de que este nuevo y rápido medio de análisis precisa ser estudiado en profundidad, lo que permitirá conocer sus grandes posibilidades.

AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen la inestimable ayuda técnica prestada por María A. Sánchez Rodríguez.

BIBLIOGRAFÍA

- GARCÍA CRIADO, B.; LEÓN MORÁN, L., y GARCÍA CIUDAD, A., 1977: *Determinación directa de proteína, NDF, ADF, lignina, DNDF y DMD en plantas herbáceas mediante reflectancia de infrarrojos*. Rev. Pastos, vol. 7, núm. 1, 112-126.
- GARCÍA CRIADO, B.; LEÓN MORÁN, L., y GARCÍA CIUDAD, A., 1978: *Análisis y evolución automática de forrajes por espectroscopia (RI), longitudes de onda óptimas*. Rev. Pastos, vol. 8, núm. 2.
- GELMAN, A. L., 1972: *Determination of Cobalt in plant material by Atomic Absorption*. J. Sci. Fd. Agric., 23, 299-305.
- GORSUCH, T. T., 1959: *Radiochemical Investigations on the recovery for analysis of trace elements in organic and biological materials*. Analyst, 84, 135-173.
- HAGEMAN, L.; TORMA, L., y GINTHER, B. E., 1975: *Analysis of feed grains and forages for traces of Cobalt by flameless Atomic Absorption Spectroscopy*. J. AOAC, 58, 990-994.

JAGO, J.; WILSON, P. E., y LEE, B. M., 1971: *Determination of sub-microgram amounts of Cobalt in plants and animal tissues by extraction and Atomic Absorption Spectroscopy*. Analyst, **96**, 349-353.

LAKANEN, E., 1966: *Separation and concentration of trace metals by means of pirrolidine dithiocarbamic acid*. Atomic Absorption Newsletter, **5**, 17-18.

MULFORD, C. E., 1966: *Solvent extraction techniques for Atomic Absorption Spectroscopy*. Atomic Absorption Newsletter, **5**, 88-90.

SHENK, J. S., y cols., 1979: *Analysis of forages by Infrared Reflectance*. J. Dairy Sci., **62**, 5, 807-812.

SIMMONS, W. J., 1973: *Determination of low concentrations of Cobalt in plant material by Atomic Absorption Spectrophotometry*. Anal. Chem., **45**, 11, 1947-1949.

SIMMONS, W. J., 1975: *Determination of low concentrations of Cobalt in small ramples of plant material by flameless Atomic Absorption Spectrophotometry*. Anal. Chem., **47**, 11, 2015-2018.

UNDERWOOD, E. J., 1968: *Los minerales en la alimentación del ganado*. Ed. Acribia. Zaragoza.

DETERMINATION OF COBALT IN PASTURE PLANTS THROUGH SPECTROPHOTOMETER OF AA AND SPECTROSCOPY OF IR REFLECTANCE

SUMMARY

A critical study of determination of Co in pasture plants through SAA, following the GELMAN's method, slightly modified by us, and through SIRR as appointed by GARCÍA CRIADO and cols. is carried out. In the first case an uptake has been done using APDC and MIBK; the pH influence and the agitation times and the phases separation are studied. In the second case the calibration of the IR reflectance system was carried out with samples of a known composition without needing any sort of reactive.

It is verified that the required best acidity for a total uptake of Co is a pH = 1, and the necessary minimum times for agitation and phases separation are 1 and 15 minutes respectively. The GELMAN's method modified becomes more precise and quicker than as it was initially proposed by this author.

The SIRR new technique allows to estimate the Co concentration in pasture plants with a prediction standard error between $\pm 0.009\%$ and $\pm 0.020\%$ making it possible to analyze from about 20 to 30 samples per hour. These results show that the SIRR presents great possibilities for the rapid analysis of mineral elements.