

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA**

**DETERMINACION DEL CONTENIDO DE MATERIA ORGANICA EN SUELOS
GUATEMALTECOS POR MEDIO DE LA TECNICA DE REFLECTANCIA
CON ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO CERCANO**

INFORME DE TESIS

Presentado por
VIVIAN MONIC PINEDA

Para optar al título de
QUÍMICA

Guatemala, Octubre del 2003

INDICE

	Página
1. RESUMEN.....	2
2. INTRODUCCIÓN.....	4
3. ANTECEDENTES.....	5
4. JUSTIFICACIÓN.....	15
5. OBJETIVOS.....	16
6. HIPÓTESIS.....	17
7. MATERIALES Y METODOS.....	18
8. RESULTADOS.....	22
9. DISCUSION.....	29
10. CONCLUSIONES.....	31
11. RECOMENDACIONES.....	32
12. REFERENCIAS.....	33
13. ANEXOS.....	35

1. RESUMEN

El análisis de contenido de materia orgánica en suelos es una herramienta útil para el agricultor ya que complementa una serie de análisis que son realizados para determinar la fertilidad del suelo.

Uno de los métodos de rutina para determinar el contenido de materia orgánica en un suelo es el análisis denominado Walkley-Black, que consiste en destruir la materia orgánica contenida en una muestra, oxidándola por medio de la adición de una mezcla de ácido sulfúrico, ácido fosfórico y dicromato de potasio, dejándola digerir por un período de tiempo, para luego realizar una determinación volumétrica con sulfato ferroso amónico del material no oxidado y así determinar la cantidad de materia orgánica en la muestra; en el presente trabajo se investigó un método no destructivo que utiliza un equipo de infrarrojo cercano, el análisis consiste en hacer pasar la muestra dentro de una celda de cuarzo a través de un haz de luz monocromática que luego de pasar por ella, es reflejado, dicho valor de reflectancia es medido y transformado para obtener un espectro, en el que cada pico corresponde a bandas de absorción de los componentes de la muestra, dichas bandas son identificadas en la región infrarrojo cercana (400-2600nm) y provienen de vibraciones de enlaces de tipo orgánico tales como C-N, C-C, C-O.

Se compararon dichos métodos con el fin de determinar su equivalencia, para lo que se utilizaron 10 muestras de suelo guatemalteco seco y homogeneizado a las cuales se les determinó el contenido de materia orgánica por ambos métodos, realizando el análisis por triplicado y tratando los datos estadísticamente por medio de un coeficiente de correlación intraclase resultando $r_i = 0.9197$ indicando que ambos métodos son equivalentes, un coeficiente de correlación $r = 0.9479$ con lo que se confirmó la linealidad entre los métodos, una t de Student con la cual se llegó a concluir que los valores obtenidos del método NIR poseen un porcentaje de error mayor al 10%, un coeficiente de correlación de concordancia $r_c = 0.9682$ afirmando la concordancia y reproducibilidad de los métodos.

También se realizó una serie de 50 determinaciones en paralelo de las cuales el 42% tienen un porcentaje de error menor al 10% y las restantes poseen un porcentaje de error mayor al 10%. A estos datos también se les determinó el índice de correlación de concordancia resultando $r_c = 0.9883$ que confirma la concordancia y reproducibilidad de los datos; a la par de estas determinaciones fue llevada una serie de muestras control de las que se tuvieron resultados dentro del 10% aceptable.

2. INTRODUCCION

La cantidad de materia orgánica unida a otra serie de parámetros, ayuda al agricultor a tomar decisiones con respecto al tratamiento que debe darle al suelo antes de sembrar, durante el desarrollo de la planta y conocer el desgaste del suelo durante la cosecha.

Debido a lo cambiante que puede ser la composición de la materia orgánica es un factor que debe monitorearse continuamente **(1)**.

Hay diferentes formas convencionales de realizar la determinación de éste parámetro y todas ellas conllevan una oxidación para la determinación del carbono presente, esta oxidación puede darse tanto por ignición como por un método húmedo con la ayuda de ácidos y reactivos oxidantes **(2)**.

Una opción más con varias ventajas es la determinación de este parámetro con infrarrojo cercano (NIR), el tiempo de análisis por muestra es de aproximadamente 2 minutos, el costo es mucho menor puesto que no se utilizan reactivos, no hay destrucción de las muestras, ni producción de desechos que contaminen el medio ambiente **(3, 4,5)**.

En el presente trabajo se determinó el porcentaje de materia orgánica en diferentes suelos del territorio guatemalteco con la técnica de reflectancia con espectroscopía de infrarrojo cercano y con la técnica convencional de óxido reducción (Walkley-Black), con el fin de determinar la equivalencia de ambas con un análisis del coeficiente de correlación intraclase, un coeficiente de correlación de concordancia, determinando el porcentaje de error que puede obtenerse, para al final llegar a determinar que el NIR es un método alternativo para la determinación del contenido de materia orgánica en suelos.

3. ANTECEDENTES

3.1. Materia Orgánica

La materia orgánica ha sido definida como la parte orgánica del suelo en todos los estados de descomposición esto incluye:

- . Raíces de plantas vivas, bacterias, hongos, animales.
- . Secreciones de raíces de plantas y organismos del suelo
- . Plantas muertas y otros organismos en varios grados de putrefacción que van desde raíces recientes a humus estable **(6)**.

La composición de la materia orgánica es muy heterogénea pues la cantidad de compuestos químicos que se presenta es muy grande. Los restos vegetales y animales son compuestos orgánicos que sufren las siguientes transformaciones:

- a) Primeramente son degradados y despolimerizados a moléculas más simples, estos productos orgánicos resultantes constituyen la fracción de materia orgánica no alterada.

- b) A través del proceso de humificación (proceso de descomposición que se lleva a cabo en el suelo hasta llegar a un compuesto estable denominado Humus) subsiguiente, y por medio de síntesis microbiológicas se producen nuevos componentes, generalmente de coloración oscura y con alto grado de polimerización; estos son los que constituyen la fracción denominada edáfica, por ser propia de los procesos de reorganización ocurridos en el suelo.

c) Liberación de compuestos inorgánicos (mineralización) **(7)**

La gran mayoría de las bacterias, actinomicetos y hongos son saprofitos y trabajan como destructores de la materia orgánica; estos organismos efectúan la hidrólisis y la oxidación de compuestos orgánicos a través de las enzimas. Se forman compuestos químicos cada vez más sencillos como dióxido de carbono y agua. Otros nutrientes que se encuentran en la materia orgánica también aparecen en forma inorgánica.

Los suelos arenosos frecuentemente están aireados y restringen la acumulación de la materia orgánica, mientras que los suelos de textura fina con frecuencia tienen una aireación insuficiente. La aireación pobre favorece los procesos de reducción y la acumulación de materia orgánica del suelo debida a la descomposición restringida de ésta

La materia orgánica desempeña muchas funciones importantes en los suelos, puesto que se origina de los residuos vegetales, contiene la mayoría de los nutrientes necesarios para el crecimiento de las plantas, influye en la estructura de los suelos, los organismos presentes en el suelo dependen de ella para su alimentación y contribuyen al mismo tiempo proporcionando una condición física deseable al mezclar, crear túneles en su hábitat y participar en la mineralización. Naturalmente, hay mucho interés en manejar la materia orgánica para hacer suelos más productivos **(8)**.

La materia orgánica del suelo es importante porque:

- Actúa como almacén de nutrientes: Nitrógeno, fósforo, azufre, boro, zinc, etc.
- Incrementa la capacidad de intercambio iónico.
- Provee energía para actividad de microorganismos que contribuyen a la mineralización.

- Incrementa la capacidad de retención de agua.
- Estabiliza la estructura del suelo y hasta la mejora.
- Reduce los efectos de compactación.
- Amortigua el suelo contra cambios rápidos en acidez, alcalinidad y salinidad.

La mayoría de estas funciones, con la excepción de la protección de la superficie y compactación, dependen del grado de descomposición de la materia orgánica **(9,1)**.

3.2. Métodos para Determinación de Materia Orgánica

Es difícil estimar cuantitativamente la cantidad de materia orgánica presente en un suelo. Procedimientos utilizados anteriormente implicaban la determinación del cambio de peso de una muestra de suelo resultado de la destrucción de los compuestos orgánicos por tratamiento con H_2O_2 o por ignición a altas temperaturas. Ambas técnicas estaban sujetas a error. El método del peróxido de hidrógeno no removía cuantitativamente la materia orgánica y el método de ignición proveía un sobreestimado porque ambos constituyentes orgánicos e inorgánicos en los suelos durante la ignición pueden ser minimizados por la remoción de aluminosilicatos con ácido fluorhídrico (HF)/ácido clorhídrico (HCl) previo al calentamiento o ignición a temperaturas que descomponen materia orgánica sin la apreciable deshidroxilación de materiales orgánicos.

Alternativamente, el contenido de materia orgánica de un suelo puede ser estimado multiplicando la concentración del carbono orgánico por un factor constante basado en el porcentaje promedio de C en la materia orgánica. El carbono es un elemento mayor presente en la materia orgánica del suelo, comprendiendo de un 48 a 58% del peso total. Las determinaciones de C-orgánico son utilizadas a menudo como las bases de los estimados de materia

orgánica, multiplicando el valor de C orgánico por un factor. Por muchos años el factor Van Bemmelen de 1.724 fue utilizado basado en asumir que la materia orgánica contenía 58% de C orgánico. Sin embargo, un número de estudios han mostrado que la proporción de C en la materia orgánica es altamente variable para un rango de suelo y no hay un factor apropiado para todos los suelos. Si un factor deber ser seleccionado para convertir las concentraciones de C orgánico del contenido de materia orgánica, valores de 1.9 y 2.5 para superficie y subsuelos, respectivamente, son los más apropiados. El factor varía no sólo de suelo a suelo sino que también entre horizontes del mismo suelo. Estos hallazgos sugieren que es más apropiado determinar y reportar el C orgánico en un suelo que convertir el valor de C orgánico analíticamente determinado a contenido de materia orgánica utilizando un factor de corrección aproximado **(2)**.

El C orgánico puede determinarse por:

- Combustión seca del C, en la cual se determina el CO_2 desprendido.
- Análisis de suelos para C total e inorgánico y substracción de la concentración de C inorgánico para el contenido total de C.
- Determinación de C total en la muestra después de la destrucción de C inorgánico.
- Oxidación de compuestos de C orgánico por $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ con la subsecuente determinación del $\text{Cr}_2\text{O}_7^{-2}$ no reducido por titulación de óxido-reducción con Fe^{+2} o por colorimetría. (Combustión húmeda).

Los procedimientos con dicromato son extensamente utilizados por su simplicidad y rapidez, sin embargo los métodos rápidos con $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ están sujetos a interferencias por constituyentes de suelos oxidables o reducibles como el Cl^- , Fe^{+2} y MnO_2 . A continuación se presenta una tabla que compara las metodologías utilizadas para determinar carbono orgánico.

Tabla No. 1

Comparación de metodología usadas para determinación de C orgánico en suelos.

METODO	PRINCIPIO	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Diferencia entre C total e inorgánico	C total e inorgánico son determinados en muestras separadas: C orgánico= C total - C inorgánico.	Util si el C total e inorgánico son determinados rutinariamente.	Son requeridos dos análisis por separado, la determinación del C total requiere equipo como muflas, balanzas etc., el C orgánico calculado por diferencia tiene un error inherente.
Determinación de C orgánico después de remover el inorgánico	El C total en la muestra de suelo es determinado después de remover el inorgánico por un pretratamiento : C orgánico= C total.	Exacto si el suelo no tiene dolomita.	No toda la dolomita en el suelo puede ser removida por el tratamiento con ácido, es necesario equipo especializado.
Oxidación por Dicromato sin calentamiento externo.	El dicromato oxida el C orgánico a CO ₂ en medio ácido; cantidades del Cr ₂ O ₇ ⁻² reducido, está cuantitativamente relacionado con la cantidad de C orgánico presente; no todo el C orgánico en la muestra es oxidado cuando se omite el calentamiento externo y es necesario un factor de corrección.	Muy rápido y simple no necesita equipo especial.	Oxidación incompleta del C orgánico, usa factores de corrección, lo cual a menudo resulta en valores erróneos; cloruro, Fe ⁺² y MnO ₂ interfieren con el método; asume que el C orgánico del suelo tiene una valencia promedio de 0; recuperación variable de C de materiales carbonizados.
Oxidación por Dicromato con calentamiento externo.	Este es el mismo que el método de dicromato arriba mencionado con la excepción de que todo el C orgánico en la muestra es oxidado y no es necesario un factor de corrección.	Rápido y simple, hay oxidación completa del C orgánico.	Cloruro, Fe ⁺² y MnO ₂ interfieren con el método; es necesario un poco de equipo especializado; asume que el C orgánico tienen una valencia promedio de 0, recuperación variable de C en materiales carbonizados.

(2)

La característica de contenido de materia orgánica en los suelos se ha utilizado para agruparlos clases de ellos; así se han propuesto clasificaciones como la siguiente:

Tabla No.2 Características del Suelo según contenido de materia orgánica del suelo

PORCENTAJE DE MATERIA ORGANICA	PORCENTAJE DE CARBONO	INTERPRETACION
<2	<1.2	Muy bajos
2 a 5	1.2 a 2.9	Bajos
5 a 8	2.9 a 4.6	Medios
8 a 15	4.6 a 8.7	Altos
>15	>8.7	Muy altos

(10)

3.2.1 Infrarrojo Cercano

Todas las sustancias de origen animal o vegetal están compuestas de constituyentes que poseen grupos funcionales como $-CH$, $-OH$ y $-NH-$ que absorben en la región del infrarrojo cercano (700 a 2500nm). Las bandas características de absorción de estos grupos funcionales son debidas a sobretonos y combinaciones. Los sobretonos son definidos como múltiplos simples de frecuencias fundamentales y las bandas de combinación son el resultado de la interacción de dos frecuencias fundamentales. La longitud de onda de una banda de absorción frecuentemente revela la naturaleza de los enlaces químicos responsables de la misma y las mediciones cuantitativas pueden ser hechas según la Ley de Beer-Lambert según lo presentaron Martens y Naes en su estudio en 1987).

La espectrometría de reflectancia de infrarrojo cercano utiliza luz monocromática directa a la muestra, la radiación difusa reflectada es absorbida por detectores de sulfuro de plomo, convirtiendo la radiación a energía

eléctrica. Igualmente barrido con monocromadores o filtros de longitud de onda son utilizados para dar las longitudes de onda necesarias.

La región de longitud de onda utilizada comúnmente es de 1100 a 2500nm. Los valores de reflectancia son transformados a una intensidad de ($\log 1/\text{reflectancia}$) y ploteados como una función de la longitud de onda para obtener el espectro de reflectancia. Los picos del espectro corresponden a bandas de absorción de los componentes de la muestra.

La espectrometría de infrarrojo Cercano NIR, (en sus siglas en inglés) es utilizada como un método muy simple, rápido y preciso para la determinación de humedad, proteínas, aceites y otros constituyentes en productos agrícolas y alimentos **(6)**. (Ver anexo 13.1)

El análisis por NIR requiere una preparación previa no destructiva para la muestra, no son utilizados solventes ni reactivos de ningún tipo, únicamente se requiere de una buena homogeneización **(3)**.

La espectrometría NIR ha sido utilizada desde principios de 1970 para el análisis de productos agrícolas. Esta tecnología ha sido empleada exitosamente para el análisis de granos, concentrados y forrajes. Recientemente, la tecnología NIR fue introducida en la industria azucarera y utilizada para el análisis de jugos de caña, azúcar, melazas, jarabes, azúcar cruda y refinada y productos de la fermentación alcohólica. Se han realizado muchos estudios relacionados con esta tecnología: La Dra. Margaret Clarke y colaboradores trabajaron intensivamente con el análisis de jugos de caña así como con azúcar cruda y refinada. El análisis de caña desfibrada por reflectancia ha sido estudiado en Australia y en Brasil en donde se han obtenido resultados aceptables que ha permitido considerar esta técnica como una alternativa analítica para los sistemas de pago de caña.

Investigaciones intensivas acerca de las aplicaciones de NIR en la industria del alcohol están siendo llevadas a cabo por Copersucar y la Universidad de Sao Paulo (ESALQ), Brasil y la tecnología ha sido incorporada a varias plantas en la región. En general, el análisis de los componentes de una muestra en su matriz original, genera errores similares o ligeramente mayores a los obtenidos por los procedimientos convencionales.

Adicionalmente, el desarrollo de nuevas aplicaciones para las industrias del azúcar y el alcohol han sido más exitosas cuando se han empleado equipos de barrido continuo. Avances obtenidos en los análisis quemométricos han incrementado la sensibilidad de la técnica y el número de aplicaciones potenciales de la misma **(4)**.

Los modos de vibración para las moléculas de sacarosa fueron examinados por Clarke y colaboradores en 1992 usando una solución saturada de sacarosa y se determinaron únicamente dos bandas de absorción a 2088nm y a 2272nm, con los grupos HOH absorbiendo a 1435nm y 1490nm. Los paquetes modernos de software permiten emplear toda la información que proporcionan los espectros NIR para el desarrollo de modelos matemáticos, basados en mínimos cuadrados parciales, lineales y de componentes principales además de la regresión lineal. Tales modelos pueden ser empleados para obtener resultados cuantitativos basados en espectros de muestras desconocidas **(5)**.

Norris y Barnes fueron los primeros en utilizar el NIR para la determinación de proteína en un tejido de plantas como componente del alimento para animales. Muchos análisis con NIR involucran determinación de proteínas, fibra ácido detergente, fibra neutra detergente, grasas y aceites de varios tejidos de plantas. Sin embargo, la determinación del contenido de N en material foliar fue realizado en NIR por Murray y Hall en 1983 y por Isaac y Johnson en 1984. Calcio y fósforo fueron también determinados con NIR en tejidos de plantas constituyentes del alimento para animales **(11)**.

La factibilidad del uso de la espectroscopía de reflectancia por Infrarrojo cercano (NIR) ha sido investigada para los análisis de pH, Conductividad eléctrica (EC), fósforo (P), Azufre (S), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), sodio (Na), Potasio (K), hierro (Fe) y manganeso (Mn) en 28 suelos canadienses de los cuales tres fueron utilizados para hacer los barridos de las muestras húmedas para pH y EC, y secadas al aire para el análisis de los demás elementos. Las calibraciones se desarrollaron entre datos de espectro Infrarrojo cercano y los análisis convencionales. Los valores precedidos por el NIR correlacionaron en forma alta a los valores obtenidos por los métodos convencionales ($r^2 > 0.9$) para

P, Ca, Mg, K, Fe y Mn; ($r^2 > 0.8$) para S y Na. Los resultados de pH fueron menos exitosos ($r^2 > 0.6$) y resultaron ser aproximados, con el EC no se obtuvo éxito. Al parecer el NIR podría ser un método rápido, no-destructivo y un análisis simultáneo para concentraciones de elementos en suelo seco útil en análisis de rutina.

La espectroscopía infrarroja cercana (NIR) ha sido utilizada como un método muy simple, rápido y exacto para la determinación de humedad, proteínas, aceite y otros constituyentes en productos de agricultura y alimentos. El NIR combina la espectroscopía aplicada y constantes para el análisis de la absorción de la luz en el rango de la longitud del infrarrojo cercano (780 a 2500nm) por materiales orgánicos compuestos de Carbono (C), hidrógeno (H), oxígeno (O), nitrógeno (N), S y P.

La teoría y práctica del NIR ha mostrado la posibilidad de la medición cuantitativa de la humedad, materia orgánica y tamaño de partícula del suelo de una energía radiante en la región del NIR. Desde entonces el NIR ha sido encontrado útil con varios grados de éxito en la medición de % de materia orgánica, C, No, P, Ca, Mg y P orgánicos, Aluminio $-Al_2O_3$, sílica $-SiO$, y hierro $-Fe_2O_3$ **(12)**.

La capacidad de medición espectral de las principales propiedades del suelo por medio de las curvas de reflectancia del infrarrojo cercano fue realizada por Ben-Dor y Banin en 1995, quienes trataron de determinar seis propiedades del suelo: contenido de arcilla, área de superficie específica, capacidad e intercambio iónico, humedad higroscópica, contenido de carbonatos y materia orgánica, afirman que los suelos minerales tienen distintas huellas espectrales en la región infrarroja cercana debido a fuertes absorciones de sobre tonos y las combinaciones de modos de grupos OH, SO_4 y CO_3 . La materia orgánica también posee diferentes huellas espectrales que se relacionan con varios grupos funcionales (ej. Carboxil, hidroxil y amino) en los compuestos orgánicos. La materia orgánica y sus componentes (C y N) han sido medidos utilizando NIR en suelos, Dalal y Henry en 1986 concluyeron que la técnica con NIR puede ser utilizada como un método de rutina si se tiene cuidado con la instrumentación y el manejo de los datos,

especialmente en los parámetros de materia orgánica y humedad higroscópica **(13)** .

3.2.2. Ventajas y Desventajas

Ventajas:

- Análisis rápido, el tiempo que se tarda en analizar una muestra oscila entre 2-3 minutos.
- No es destructivo para la muestra.
- Los resultados del análisis se obtienen inmediatamente después de la lectura.
- En un análisis seguro para el medio ambiente puesto que no utiliza ningún tipo de reactivo.
- Los instrumentos del NIR son fáciles y seguros de operar.
- La inversión en un equipo NIR puede ser recuperada en poco tiempo (ver anexo 13.2).

Desventajas:

- La cantidad de muestras necesarias para la calibración debe ser por lo menos de 50 muestras, y deben haber sido previamente analizadas por alguno de los métodos húmedos.
- La humedad afecta los resultados por lo que debe ser <20% y el tamaño de la partícula debe ser uniforme.
- Analiza sólo compuestos orgánicos, metales únicamente si están unidos a moléculas orgánicas.
- No analiza concentraciones menores de 100ppm, sino de aprox. 1% en adelante **(11)**.

4. JUSTIFICACIÓN

La técnica de espectrometría por reflectancia con infrarrojo cercano es rápido, sencillo y bastante innovador, el cual no ha sido muy desarrollado ya que es una técnica utilizada normalmente para el análisis de plantas, alimentos, bebidas, materias primas, etc. en la determinación de diferentes parámetros como proteínas, grasas, fibra soluble, etc. La versatilidad de este método se debe a que las determinaciones están basadas en la identificación de bandas de absorción en el infrarrojo cercano (400-2600nm) provenientes de las vibraciones de los enlaces de tipo orgánico (-CO, -C-C-, -CH, -NH); por lo que debe proporcionar buenos resultados en cuanto a la determinación del porcentaje de materia orgánica en el suelo por este método.

El análisis por este método no requiere de ningún tipo de reacción previa, por lo que no es destructivo para la muestra; debido a esto no representa ningún foco de contaminación para el medio ambiente como el método por oxidación con dicromato de potasio porque no genera desechos.

Esta técnica podría ser utilizada como una alternativa en lugar del método convencional de oxidación con dicromato de potasio.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Cuantificar el porcentaje de materia orgánica en 50 suelos diferentes por medio de la técnica de espectrometría por reflectancia con Infrarrojo Cercano.

5.2 Específicos

5.2.1 Comparar resultados de materia orgánica en suelos analizados por el método de Walkley-Black contra la técnica de espectrometría por reflectancia con infrarrojo cercano, en una misma serie de suelos.

5.2.2 Utilizar la técnica de espectrometría por reflectancia con infrarrojo cercano como método alternativo al convencional de oxidación con dicromato de potasio (Walkley-Black).

6. HIPOTESIS

La técnica de reflectancia con espectrometría de infrarrojo cercano utilizada para la determinación del porcentaje de materia orgánica en suelos es comparable a la determinación de materia orgánica por el método Walkley-Black.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. Universo de Trabajo:

50 Muestras de Suelos.

7.2. Materiales

7.2.1. Reactivos:

- No son necesarios para la determinación del porcentaje de materia orgánica utilizando técnica NIR.

7.2.2. Equipo y materiales:

7.2.2.1. Equipo:

- Espectrómetro de Infrarrojo Cercano. marca NIRSystems Modelo 6500

7.2.2.2 Materiales y cristalería:

- Celdas redondas muestras de suelo fino y polvos, medido en reflectancia con lente de cuarzo
- Tapas desechables o reusables para celdas.
- Portaceldas para módulo de transporte.
- Bandeja para llenado de celdas.
- Gradilla para celdas.
- Mortero de porcelana con pistilo.
- Pinceles de pelo de camello o ardilla. Con las siguientes dimensiones: ½” de diámetro, Largo de brocha 1 ½”, longitud de mango 6”, longitud total 10”.
- Tamiz número 60.
- Papel limpia lentes.
- Espátula.

- Muestras analizadas con método Walkley-Black, para determinación de porcentaje materia orgánica en NIR. (ver procedimiento de análisis en anexo 13.3)

7.3. Metodología

7.3.1. Preparación de las muestras

- a) Secar Las muestras en horno a 60°C por como mínimo 8 horas.
- b) Moler lo más fino posible (de preferencia arriba de Mesh No. 60)* y mezclar bien; en caso de no tener un molino con esas características, puede usarse un mortero con este fin.
- c) Después de verificar que el suelo cumple con lo arriba mencionado, colocar la celda sobre la bandeja para celdas, identificar y verter la muestra en ella hasta llegar a la mitad de la celda, esto debe hacerse en forma homogénea de tal manera que al final la superficie de la muestra quede plana y al mismo nivel, para esto será necesario dar pequeños golpes a los lados de la celda.
- d) Tapar la celda con la tapa, cuidando que la parte blanca de la tapa quede en contacto con la muestra, después verificar que no hayan quedado espacios visibles a través del cristal de cuarzo.

7.3.2. Creación de Curva de Calibración:

El equipo NIR está acoplado a un computador en el cual se guarda toda la información necesaria. Las muestras deberán ser colocadas en las celdas para determinar y guardar sus espectros, a los cuales se les coloca tanto el código de la muestra como el % de materia orgánica, será necesario como mínimo 100 espectros para poder realizar la curva de calibración. El grupo de muestras de referencia para calibración deben haber sido analizadas previamente por el método Walkley-Black (oxidación con dicromato de potasio).

Pasos a Seguir:

- a) Introducir al programa del computador acoplado al NIR por lo menos 100 espectros de suelos con datos de materia orgánica previamente determinados por método de Walkley-Black que abarquen el rango entre 0 y 6% de materia orgánica.
- b) Una vez realizada la curva de calibración esta se debe confirmar mediante una verificación cada quince días.

7.3.3 Determinación de las muestras problema y control :

- a) Establecida la curva de calibración se introducen los parámetros necesarios para determinar las condiciones de trabajo con las cuales va a realizarse el análisis de rutina (nombre dado por el programa de calibración y análisis instalado en la computadora conectada al NIR para identificar la opción en la cual se realizarán las mediciones) del % de materia orgánica estas dependen de lo requerido por el programa de calibración y análisis según instructivo del equipo, documento proporcionado por el proveedor del mismo.
- b) Analizar las muestras y determinar el % de materia orgánica; esto debe realizarse al principio trabajando simultáneamente este método y el método de Walkley-Black hasta determinar que los resultados obtenidos son aceptables.

7.3.4 Control de Calidad

Existen ciertas muestras de suelos denominadas de referencia que son utilizadas para verificar la calidad de un análisis, estas muestras poseen una cantidad conocida de porcentaje de materia orgánica, el control de calidad en este trabajo conlleva utilizar una o varias de este tipo de muestras que se analizadas con periodicidad durante el estudio **(4)**.

7.3.6 Cálculos:

Los datos son procesados por el software del equipo, el cual introduce cada lectura en la ecuación creada al hacer la curva de calibración, para hacer la conversión a porcentaje de materia orgánica.

7.3.7 Análisis Estadístico

7.3.7.1 Curva de Calibración:

Para la determinación de la curva de calibración, se calculan los siguientes parámetros: regresión lineal, desviación estándar, variación de error estándar; estos cálculos los realiza el software del programa.

7.3.7.2 Resultados Obtenidos:

El análisis estadístico consiste en una comparación entre los resultados del método Walkley-Black y los resultados del método NIR para determinar su equivalencia, esto se lleva a cabo haciendo uso del coeficiente de correlación intraclase (ver anexo 13.4), coeficiente de correlación, coeficiente de correlación de concordancia (ver anexo 13.10) y t de Student (ver anexo 13.11), además se apoya trabajando simultáneamente el método NIR y el Walkley-Black hasta determinar que los resultados obtenidos son aceptables, a través de desviaciones estándar parecidas y que las desviaciones entre datos también no presentan un % de error mayor al 2%.

7.3.7.3. Control de calidad

Con las lecturas obtenidas de la muestra control se determina el % de error comparando dichos valores con un límite de control el cual es determinado por medio de desviaciones estándar **(ver anexo 13.5) (14)**.

8. RESULTADOS

La curva de calibración fue construida con 100 datos y dio como resultado las siguientes características:

SD= 1.8381 (Desviación estándar: Indica la desviación estándar de los datos de laboratorio).

RSQ= 0.9618 (Coeficiente de determinación: un RSQ de 1 significa que el 100% de los constituyentes de la variación en las muestras de calibración es explicado por la ecuación).

1-VR= 0.8518 (1 menos el radio de variación: es un término tipo RSQ de la validación cruzada establecida que explica cuanto del constituyente de la variación es explicado por la ecuación de calibración. Un 1-VR de 1 significa que el 100% de los constituyentes de la variación en las muestras de calibración están explicados por la ecuación de calibración durante el proceso de validación cruzada)

SEC= 0.3591 (Error estándar de Calibración: El promedio de la diferencia entre los valores del laboratorio y los predichos por el NIR están predichos por la ecuación desarrollada)

SECV= 0.7056 (Error estándar de Calibración de validación cruzada: El promedio de la diferencia entre los valores del laboratorio y los predichos cuando las muestras son secuencialmente removidas del proceso de desarrollo de la ecuación de calibración)

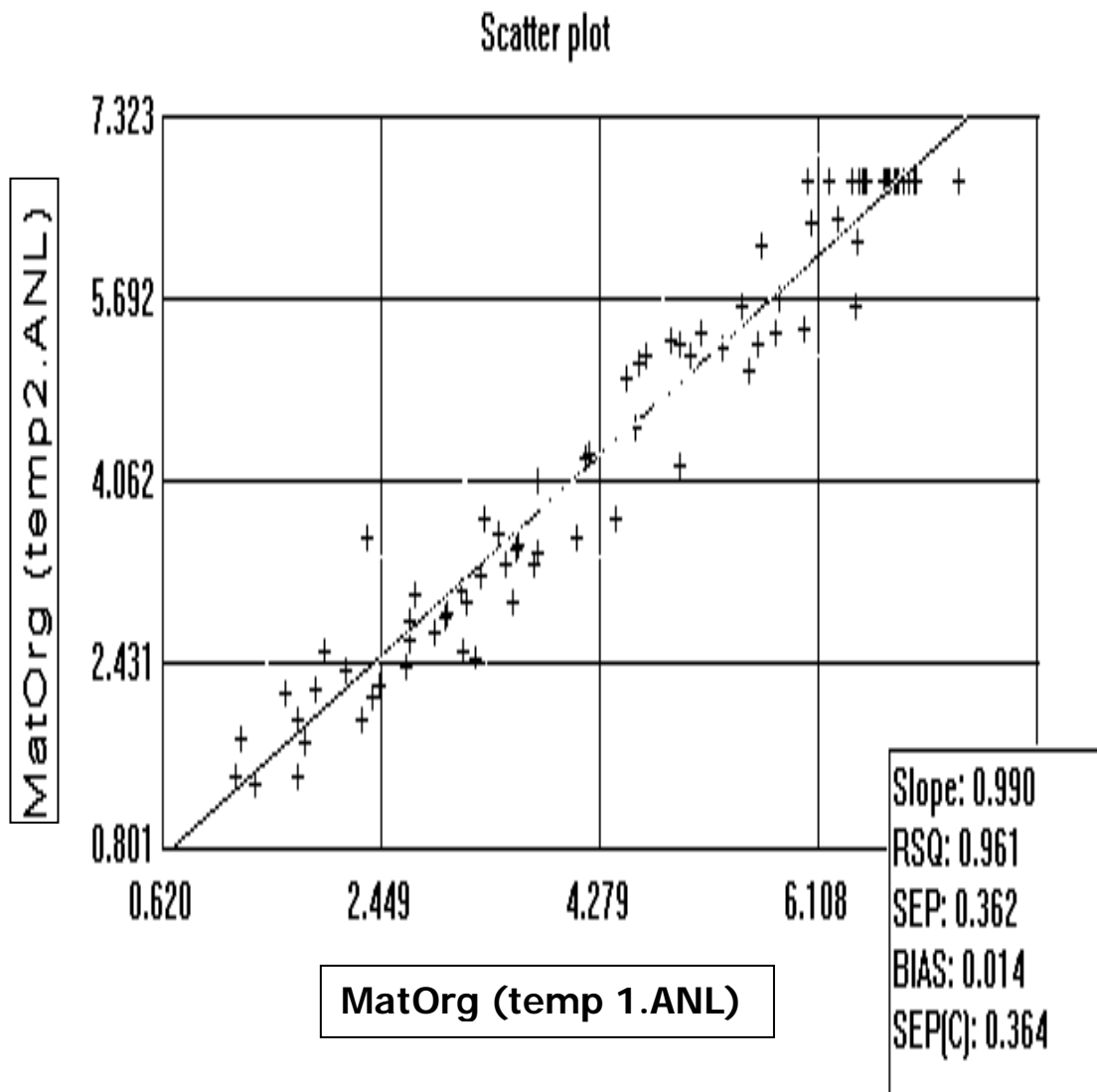
Slope: 0.990 (Pendiente: La pendiente de la regresión lineal. Mientras más cercano a 1 mejor)

SEP= 0.362 (Error estándar de predicción: El promedio de la diferencia entre los resultados de laboratorio y los predichos por el NIR)

BIAS= 0.014 (La diferencia constante entre los valores del laboratorio y los predichos por el NIR)

SEP (C)= 0.364 (Error estándar de predicción, corregido por Bias) **(15)**.

Figura No.1 Curva de Calibración



Se llevó a cabo la determinación por triplicado y en dos casos en duplicado, de 10 muestras de diferentes sectores del territorio guatemalteco para la determinación de la equivalencia, correlación lineal, coeficiente de concordancia y t de Student de los métodos bajo estudio, obteniendo :

TABLA No. 3 PORCENTAJE DE MATERIA ORGANICA MEDIDO EN CELDAS CUADRADAS

MUESTRA	METODO No. 1	PROMEDIO Método No.1**	METODO No. 2	PROMEDIO Método No.2**	Diferencia entre Métodos**	% de Error
1A	2.44	2.24	2.69	2.63	0.25	10.08
B	2.12		2.57		0.45	21.23
C	2.16		2.62		0.46	21.3
2A	1.15	1.34	- 0.26	0.22	1.41	122.52
B	1.53		- 0.18		1.71	111.76
3A	3.38	3.41	4.15	4.17	0.77	22.87
B	3.22		4.27		1.05	32.61
C	3.63		4.09		0.46	12.67
4A	3.27	2.96	2.52	2.45	0.76	23.09
B	2.65		2.46		0.19	7.17
C	2.95		2.38		0.57	19.32
5A	4.72	4.55	4.23	4.21	0.49	10.42
B	4.54		4.29		0.25	5.51
C	4.38		4.10		0.28	6.39
6A	4.10	4.13	4.24	4.14	0.14	3.34
B	4.15		4.05		0.10	2.41
7A	5.80	6.06	6.41	6.34	0.61	10.53
B	6.20		6.39		0.19	3.06
C	6.17		6.22		0.05	0.81
8A	2.44	2.36	1.64	1.59	0.80	32.75
B	2.42		1.49		0.93	38.43
C	2.22		1.64		0.58	26.13
9A	5.56	5.55	6.13	6.07	0.57	10.18
B	5.51		6.02		0.51	9.26
C	5.57		6.05		0.48	8.62
10A	3.80	3.46	3.66	3.69	0.14	3.74
B	3.32		3.70		0.38	11.45
C	3.25		3.72		0.47	14.46
Varianza Promedio	2.04	3.60	3.40	3.51	0.45	21.50

$r_i = 0.9197$ (Este valor representa la equivalencia existente entre los dos métodos, fue calculado según la fórmula presentada en anexo 13.2)

** Los valores son absolutos.

*NOTA: Método No.1: Walkley-Black y Método No.2: NIR

El valor obtenido $r_i = 0.9197$ es mayor a 0.75 y menor de 1.00, por lo que implica que los métodos se pueden considerar como equivalentes; los cálculos correspondientes a la correlación intraclase se encuentran en el anexo 13.7.

Se determinó la correlación lineal de los métodos calculada por regresión lineal tomando en cuenta todos los datos obteniendo $r = 0.9479$ Ver gráfica en anexo 13.8.

El coeficiente de correlación de concordancia de los métodos obtenido fue $r_c = 0.9682$, este valor representa la concordancia y reproducibilidad de los métodos, **(16)** ver cálculos y fórmula en anexo 13.9.

Un estudio de t de Student tomando en cuenta el porcentaje de error del NIR vrs. Walkley-Black determinó que la hipótesis nula es falsa y la alterna es verdadera. **(17)** Ver los cálculos en anexo 13.10.

Determinada la correlación de los métodos, se midió el porcentaje de materia orgánica de 50 muestras provenientes de diferentes áreas de suelo guatemalteco obteniéndose los siguientes resultados :

TABLA No. 4
ANALISIS EN PARALELO CON METODOS WALKLEY-BLACK vs. NIRS
UTILIZANDO CELDA CUADRADA

No.	Cultivo	Procedencia	Walkley-Black	NIR	% de Error
1	café adulto	Morazan, El Progreso Guastatoya	5.48	5.21	4.93
2	caña de azucar	La Democracia, Escuintla	3.66	3.46	5.46
3	melocoton	Chimaltenango, Tecpan	2.79	2.88	3.23
4	Tomate	Retalhuleu, Retalhuleu	4.07	4.10	0.74
5	Tomate	Agua Blanca, Jutiapa	2.32	2.57	10.78
6	Frambuesa	Parramos, Chimaltenango	3.07	3.12	1.63
7	Frambuesa	Parramos, Chimaltenango	3.62	3.43	5.25
8	Banano	Tecun Uman, San Marcos	2.48	2.49	0.40
9	café adulto	Acatenango, Chimaltenango	4.93	5.05	2.45
10	Banano	Tiquisate, Escuintla	2.84	3.03	6.54
11	Platano	La Blanca Ocos, Agrícola	2.67	2.89	8.24
12	Banano	Tecun Uman, San Marcos	2.31	2.11	8.66
13	Platano	Ocos, San Marcos, areas pobres	2.96	3.20	8.11
14	Platano	Ocos, San Marcos, areas en cultivo	2.91	3.10	6.53
15	Arverja, dulce/china	Chuaxajil Ixtauhacan, Solola	3.58	3.33	6.98
16	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Samaria	3.00	3.24	8.00
17	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Samaria	3.33	3.08	7.51
18	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Samaria	3.03	3.24	6.93
19	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Samaria	3.73	3.46	7.24
20	Arverja, dulce/china	San Francisco los Encuentros, Solola	4.56	4.29	5.92
21	Arverja, dulce/china	San Francisco los Encuentros, Solola	4.61	4.92	6.72
22	general, estrato de 20-40 cm	Livingston Izabal	2.35	2.17	7.66
23	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Samaria	3.24	2.83	12.65
24	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Santa Rita	4.07	4.56	12.04
25	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Buganvilia	4.17	4.75	13.91
26	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Buganvilia	2.58	3.02	17.05
27	caña de azucar	La Democracia, Escuintla, finca Buganvilia	5.92	6.56	10.81

Cont. Tabla No.4

**ANALISIS EN PARALELO CON METODOS WALKLEY-BLACK vs. NIR
UTILIZANDO CELDA CUADRADA**

No.	Cultivo	Procedencia	Walkley-Black	NIR	% de Error
28	Arverja, dulce/china	Saragoza, Chimaltenango	2.55	2.26	11.37
29	general, estrato de 20-40 cm	Tiquisate, Escuintla	2.59	2.29	11.62
30	Banano	Tecun Uman, San Marcos	4.28	4.94	15.42
31	Banano	Tiquisate, Escuintla	2.16	2.53	17.02
32	Banano	Tiquisate, Escuintla	2.19	2.53	15.74
33	Banano	Tiquisate, Escuintla	2.10	1.85	11.86
34	café adulto	Los Arroyos, Quetzaltepeque, Chiquimula	6.00	6.73	12.11
35	café adulto	La Moza Grande, Quetzaltepeque, Chiquimula	4.87	4.38	10.12
36	café adulto	La Moza Grande, Quetzaltepeque, Chiquimula	2.85	2.53	11.13
37	Banano	Tiquisate, Escuintla	2.38	2.69	13.20
38	Banano	Tiquisate, Escuintla	1.56	1.38	11.42
39	café adulto	Fraijanes, guatemala	3.83	4.56	19.06
40	Frambuesa	Parramos, Chimaltenango	4.38	3.62	17.35
41	café adulto	Los Arroyos, Quetzaltepeque, Chiquimula	4.94	5.82	17.91
42	chile pimienta	Retalhuleu, Retalhuleu	4.30	3.70	13.95
43	Arverja, dulce/china	Chuaxajil Ixtauhacan, Solola	3.06	2.57	16.01
44	Arverja, dulce/china	Chuaxajil Ixtauhacan, Solola	3.44	2.95	14.24
45	Banano	Tecun Uman, San Marcos	2.63	2.17	17.49
46	Banano	Tiquisate, Escuintla	2.86	3.70	29.28
47	Banano	Tiquisate, Escuintla	1.96	2.53	29.35
48	Arverja, dulce/china	Comalapa, Chimaltenango	1.49	1.91	28.19
49	café adulto	Los Arroyos, Quetzaltepeque, Chiquimula	5.21	6.73	29.20
50	Banano	Tecun Uman, San Marcos	1.74	2.23	28.16

A estos datos se les trató determinando el índice de correlación de concordancia obteniéndose un $r_c = 0.9883$ siguiendo la fórmula descrita en anexo 13.9.

Como parte de control de calidad fueron colocados 15 controles de suelo entre las muestras y se obtuvo lo siguiente:

TABLA No. 5 CONTROLES

No.	% MO nirs	% de Error
1	4.19	5.42
2	4.25	4.02
3	4.27	3.63
4	4.12	7.11
5	4.22	4.76
6	4.18	5.67
7	4.27	3.61
8	4.18	5.55
9	4.07	8.17
10	4.19	5.53
11	4.22	4.74
12	4.29	3.16
13	4.10	7.45
14	4.04	8.80
15	4.19	5.42

NOTA:

Los límites de control establecidos son 3.99-5.67% de materia orgánica (ver cálculo en anexo 13.11), tomando el promedio de este intervalo (4.43%) se determinó el porcentaje de error y la variación de los controles determinados.

9. DISCUSION

Es importante aclarar que al realizar las determinaciones con celdas redondas se encontró un alto porcentaje de error entre los métodos en estudio, un 84% del total de datos oscilaron entre un 70-90% de error (anexo 13.6). A esto puede agregarse que la determinación con este tipo de celdas hizo engorroso el análisis, tanto por la homogeneización de la partícula como por el empaque de las mismas. Con base en esto se decidió realizar las determinaciones con una celda rectangular la cual según especificaciones del proveedor del equipo es útil para material grueso, lo que redujo el tiempo de preparación de la muestra, evitando el uso de mortero o del tamiz No. 60.

En la tabla No. 3 se presentan los resultados obtenidos del análisis estadístico, el valor de coeficiente de correlación intraclase (r_i) de 0.9197 demuestra que los métodos son equivalentes, ya que se encuentra en el rango de 0.75 -1.00 que es lo requerido para este tipo de prueba; también como información confirmatoria, se determinó la correlación lineal tomando en cuenta los triplicados, teniendo como resultado un $r = 0.9479$, con lo que se comprueba que ambos métodos guardan linealidad entre sí.

Debido a que los datos que se trabajaron en paralelo presentan un porcentaje de error mayor al 2% y tomando en cuenta que a nivel agronómico es aceptable un 10% como porcentaje de error entre dos mediciones, se trataron los valores de la tabla No.3, determinando el porcentaje de error entre métodos para una t de Student, teniendo como resultado que la hipótesis nula es falsa y que la hipótesis alterna es verdadera, es decir que los valores obtenidos con NIR presentar un porcentaje de error mayor al 10%.

Por el alto porcentaje de error, también se determinó un coeficiente de correlación de concordancia entre métodos, que a su vez evalúa la reproducibilidad, este tratamiento estadístico no se aplicó únicamente a los datos que sirvieron para comparar los métodos (tabla No.3) sino que también a los valores de las muestras obtenidos del análisis en paralelo (tabla No. 4) , teniendo como resultado $r_c = 0.9682$ para tabla No.3 y 0.9883 para tabla No. 4, lo que demuestra que los métodos son concordantes entre sí y que hay reproducibilidad entre ambos.

La tabla No. 5 presenta los resultados de las muestras control analizadas por el método de NIR. Los valores de límites del control están establecidos con un 10% error con respecto al valor medio, en estas muestras se encontró que el 100% de ellas están dentro de dichos límites; cabe recalcar que las muestras control fueron analizadas conjuntamente con las muestras de estudio.

La curva de calibración obtenida muestra una correlación lineal de los datos $r = 0.961$, una diferencia constante entre los valores del laboratorio y los predcidos por el NIR de 0.014, así como un error estándar de predicción (la diferencia de desviación en los resultados del laboratorio y los predcidos por el NIR) de 0.362, por lo que se esperaba que en las muestras analizadas en paralelo presentaran porcentajes de error similares, sin embargo únicamente el 42% de las muestras presentan un porcentaje de error menor al 10% , lo cual implica que poco más de la mitad de las muestras están fuera de un valor agrónómicamente aceptable, es decir un porcentaje de error mayor al 10%. Resumiendo el análisis estadístico: hay equivalencia , correlación de tipo lineal y concordancia entre los métodos; con base en lo anterior, el alto porcentaje de error puede ser minimizado y llevado a niveles agrónómicamente aceptables afinando el método, esto se puede afirmar tomando en cuenta los resultados obtenidos en la Tabla No. 5.

10. CONCLUSIONES

- 10.1.** Los métodos NIR y Walkley-black son equivalentes, tienen un comportamiento lineal entre sí, son concordantes y reproducibles.
- 10.2.** Las celdas rectangulares para la determinación de contenido de materia orgánica en suelos presentan una mejor opción en comparación de las redondas, porque implica menor porcentaje de error en el manejo de muestra.
- 10.3.** El porcentaje de materia orgánica en suelos determinado paralelamente entre los métodos Walkley-black y NIRS, presenta porcentajes de error menor al 10% (límite máximo aceptado agronómicamente) en el 42% de ellos, demostrando que es necesario realizar una afinación del método NIR.

11.RECOMENDACIONES

- 11.1. Para el método infrarrojo cercano en el análisis del contenido de materia orgánica, utilizar celdas rectangulares (llenas por completo por la muestra) y para agilizar el trabajo tener por lo menos dos de ellas.
- 11.2. Aunque la inversión por un equipo infrarrojo es grande, su versatilidad lo hace útil no sólo para la determinación de materia orgánica en suelos, por lo que deben buscarse más alternativas de uso, por ejemplo puede utilizarse para determinación de nitrógeno en plantas, humedad, proteínas, en la industria cañera en el análisis del jugo de caña , azúcar cruda y refinada, así como para la determinación de muchos otros parámetros tanto en plantas como en suelos.
- 11.3. Es necesario realizar una afinación del método utilizando una mayor cantidad de muestras y revisando cada detalle hasta lograr los resultados esperados. Debido a que el 58% de las muestras analizadas en paralelo presentaron un porcentaje de error mayor al 10% y tomando en cuenta que los métodos estadísticamente son equivalentes, lineales y concordantes entre sí.

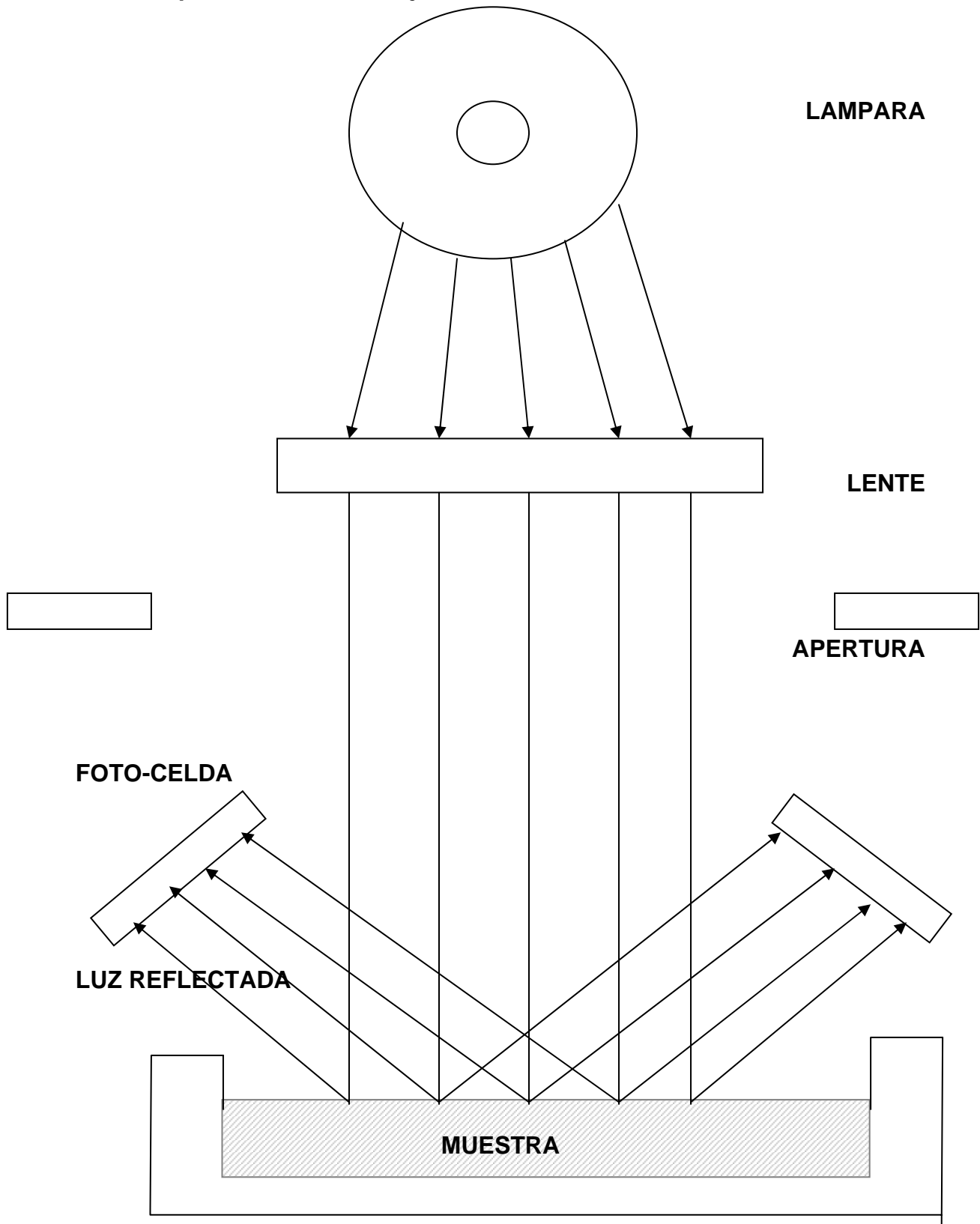
12. REFERENCIAS

1. Teuscher y Adler. 1987. **El suelo y su Fertilidad**. Edit. CECSA. México.
2. Soil Science Society of America. **Methods of Soil analysis , chemical Methods** SSSA Book series: 5 , Part 3 . Edit. Soil science Society of America Inc. USA. (p.962.)
3. Foss. **Near -Infrared Analyzers form Foss NIRSystems**. Catálogo. Edit. Foss NIRSystems.
4. FOSS NIRSystems. 1999. **Industrial Resource Book**. USA.
5. Petersen, Julio Cesar . **FOSS-NIRSystems** Edit. Foss NIRSystems. USA. 5p. (p 1, 2, 5.)
6. Kaarstad, Ola, et.al. 1990. **Agriculture and Fertilizers**. 1st.report form Norsk Hydro Agricultural group. Edit. Norsk Hydro. Norway 245p. (p.98.)
7. Fassbender, Hans. Y Elemer Bornemisza. 1987. **Química de Suelos con Énfasis en suelos de América latina**. Edit. IICA Costa Rica. 420 p. (p47)
8. Millar,C.E. et.al. 1980. **Fundamentos de la Ciencia del Suelo**. Edit. CECSA. México
9. Tisdale, Samuel. Et al. 1985. **Soil Fertility and Fertilizers** 4th ed. Edit. Macmillan. USA. 754p. (p. 636.)

10. Hopkins, Donald P. 1948. **Chemicals, Humus and the soil.**
Chemical publishing Co. Inc. USA.
11. Soil Science Society of America. 1990. **Soil testing and Plant Analysis** SSSA Book series:3. edit. Soil Science Society of America inc. USA. 784p (p.724.)
12. Malley, Diane F., et. Al. 1999. **Application of Near-Infrared Spectroscopy in Analysis of Soil Mineral Nutrients.**
Communications in Soil Science and Plant Analysis
Vol. 30 No. 7& 8. Edit. Dekker. USA. (p999-1000.)
13. Ben-Dor, E and A. Banin. 1995. **Near-Infrared Analysis as a Rapid Method To Simultaneously Evaluate Several Soil Properties.** Journal of American Soil Science Society.
Vol. 59. March-April. USA (p.364-365, 372)
14. Juran, J.M. y F.M. Gryna. 1998. **Análisis y Planeación de la Calidad.** 3ra. Ed. Edit. Mc Graw-Hill. México . 633p.
(p.381-390)
15. Foss Tecator. **Tutorial WinISI II Training Exercises.** USA.
17. Mendenhall, William. 1987. **Introducción a la Probabilidad y la Estadística.** 5ta. Ed. Grupo Editorial Iberoamérica.
México (p.290-310)
16. Nickerson, Carol A. E. 1997. **A Note on “A concordance Correlation Coefficient to Evaluate Reproducibility”.**
Biometrics. Vol. 53 Dec. USA (p.1503-1507)

13. ANEXOS

13.1. Espectrómetro Infrarrojo Cercano.



13.2. Inversión Equipo NIR

- Un equipo NIR tiene un valor aproximado de \$40,000.00 si se estima un cambio de Q.8.00 por cada \$1.00 se tiene un valor de Q.320,000.00.
- Si se estima poder trabajar 12 muestras por hora y se trabaja en éste análisis 4 horas del día, se trabajarían 48 muestras diarias y tomando en cuenta que se trabaje 5 días a la semana, se analizarían 240 muestras semanales.
- Asumiendo una ganancia por análisis de Q.20.00, semanalmente se esta teniendo una ganancia de Q.4,800.00 y si este valor se utilizara para recuperar la inversión del equipo entonces:
$$Q.320,000.00 / Q. 4,800.00 = 66.67 \text{ semanas}$$

Aproximando: 67 semanas.
- Asumiendo 4 semanas por mes, la recuperación de la inversión se estaría dando en 17 meses, es decir en 1 año 5 meses.

Es necesario hacer énfasis en que este equipo tiene un amplio uso por lo que si es utilizado para más análisis, la recuperación de la inversión es mucho más rápida.

13.3. Análisis Walkley-Black

13.3.1 Materiales y Equipo

- Bureta de 25mL
- Erlenmeyer de vidrio de 250mL
- Cuchara para medir suelos de 0.5mL
- Pipeta automática
- Gotero

13.3.2 Reactivos

- **Acido fosfórico concentrado**, grado técnico (H_3PO_4 , 85%)
- **Acido Sulfúrico concentrado**, grado técnico (H_2SO_4 , 96%)
- **Dicromato de potasio** ($K_2Cr_2O_7$, 99.99%, para análisis ACS, ISO): Secar dicromato de potasio durante una hora a $110^\circ C$. Colocarlo dentro de una desecadora hasta su uso.
- **Solución de Dicromato de Potasio 1N**: Pesar 49.5269g de dicromato de potasio seco. Disolverlo en agua desmineralizada, aforar a un litro y agitar. Guardar la solución en un frasco de polietileno oscuro bien cerrado. Preparar cada quince días.
- **Indicador de difenilamina**: En un beaker de 400mL disolver 0.5g de difenilamina ($(C_6H_5)_2NH$, 98%, para análisis e. Indicador redox) en 20mL de agua desmineralizada. Agregar 100mL de H_2SO_4 concentrado. Guardar en un frasco de vidrio bien cerrado. Preparar cada tres meses.
- **Solución de Sulfato de amonio y hierro (II) 0.25N** ($(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, 99% , para análisis ACS, ISO): Pesar 99.0253g de $(NH_4)_2Fe(SO_4)_2 \cdot 6H_2O$, disolverlo en 800mL de agua desmineralizada y 20mL de H_2SO_4 concentrado en un balón volumétrico de 1000mL. Aforar y agitar la solución. Esta solución se prepara el día que se va a utilizar. Guardar en frasco de polietileno bien cerrado.

13.3.3 Procedimiento

- Utilizando una cuchara medidora para suelos de 0.5mL de capacidad, medir 0.5mL de suelo en un erlenmeyer, incluir blanco (a este se le añaden todos los reactivos, exceptuando el suelo) y suelo control.
- Agregar a cada erlenmeyer 5.00mL de solución de dicromato de potasio 1N
- Agregar 10.0mL de ácido sulfúrico concentrado, mezclar con rotación suave por un minuto, evitando que el suelo salpique por las paredes del erlenmeyer.
- Dejar reaccionar (reposar) por treinta minutos.
- Adicionar 100mL de agua potable.
- Agregar 5.00mL de ácido fosfórico concentrado.
- Agregar 10 gotas del indicador difenilamina.
- Titular con solución de sulfato de amonio y hierro (II) hasta un cambio de color de negro (o azul oscuro) a verde.

13.3.4 Cálculos

- Se ha estimado que por cada gramo de carbono presente en el suelo hay 1.72g de materia orgánica.
- Debido a que la reacción de oxidación de la materia orgánica es incompleta, se aplica un factor de corrección. Se ha estimado que por cada gramo de carbono que reacciona durante la oxidación, hay 1.3g de carbono presente.
- Se asume que la densidad del suelo es de 1.00g/mL

$$\% \text{ M.O.} = 0.3352 * (\text{mL titulante en blanco} - \text{mL titulante})$$

Nota: M.O. = Materia orgánica.

13.4. Fórmulas para la Determinación de Coeficiente de Correlación Intraclase

$$r_i = \frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) - (\sigma_{1-2}^2)}{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) - (\bar{y}_1 - \bar{y}_2)^2}$$

13.4. Control de Calidad

13.5.1 Desviación Estándar:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{j=1} (x_j - \bar{x})^2}{n}}$$

13.5.2 % de Error:

$$\frac{\text{Valor teórico} - \text{Valor experimental}}{\text{Valor Teórico}} * 100$$

13.6. Lecturas realizadas con Celdas Redondas

TABLA No.6 Materia Orgánica Walkley-Black vrs. NIR Con Celdas Redondas.

No. de Muestra	Walkley-Black	NIR	% de Error
1	1.01	4.7755	78.85
2	1.01	5.1598	80.43
3	0.44	3.4620	87.29
4	0.33	2.7051	87.80
5	0.29	3.0248	90.41
6	0.32	2.8649	88.83
7	0.73	3.4600	78.90
8	0.72	4.7929	84.98
9	0.70	4.7507	85.27
10	0.68	5.0282	86.48
11	0.77	3.1711	75.72
12	0.63	4.5228	86.07
13	0.44	2.6963	83.68
14	0.48	2.6036	81.56
15	0.34	3.4717	90.21
16	0.60	2.8796	79.16
17	1.01	3.8654	73.87
18	0.65	3.2816	80.19
19	0.67	3.1041	78.42
20	0.31	0.1760	76.14
21	0.34	0.7596	55.24
22	0.32	-1.6456	119.45
23	0.25	-2.4602	110.16
24	0.90	4.6181	80.51
25	0.31	2.3709	86.92
26	0.22	1.9776	88.88
27	0.25	1.9861	87.41
28	0.22	1.9132	88.50
29	0.22	2.2157	90.07
30	0.27	1.7624	84.68
31	0.25	2.0303	87.69
32	0.18	1.8191	90.10
33	0.28	2.1590	87.03
34	0.94	6.1403	84.69
35	0.86	5.1977	83.45
36	0.63	4.4606	85.88
37	1.01	6.2947	83.95
38	0.78	6.9793	88.82
39	0.93	5.6027	83.40
40	0.93	5.6691	83.60

NOTA: El número de muestra es correlativo, las muestras analizadas con celdas redondas no son las mismas que las analizadas con celdas cuadradas.

13.7. Cálculos de Correlación intraclase de Tabla No.3

Utilizando los datos obtenidos:

$$\sigma_1^2 = 2.04 \qquad \sigma_2^2 = 3.40 \qquad \sigma_{1-2}^2 = 0.45$$

$$\bar{y}_1 = 3.60 \qquad \bar{y}_2 = 3.51$$

para ser introducidos en la siguiente fórmula para correlación intraclase:

$$r_i = \frac{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) - (\sigma_{1-2}^2)}{(\sigma_1^2 + \sigma_2^2) - (\bar{y}_1 - \bar{y}_2)^2}$$

Donde:

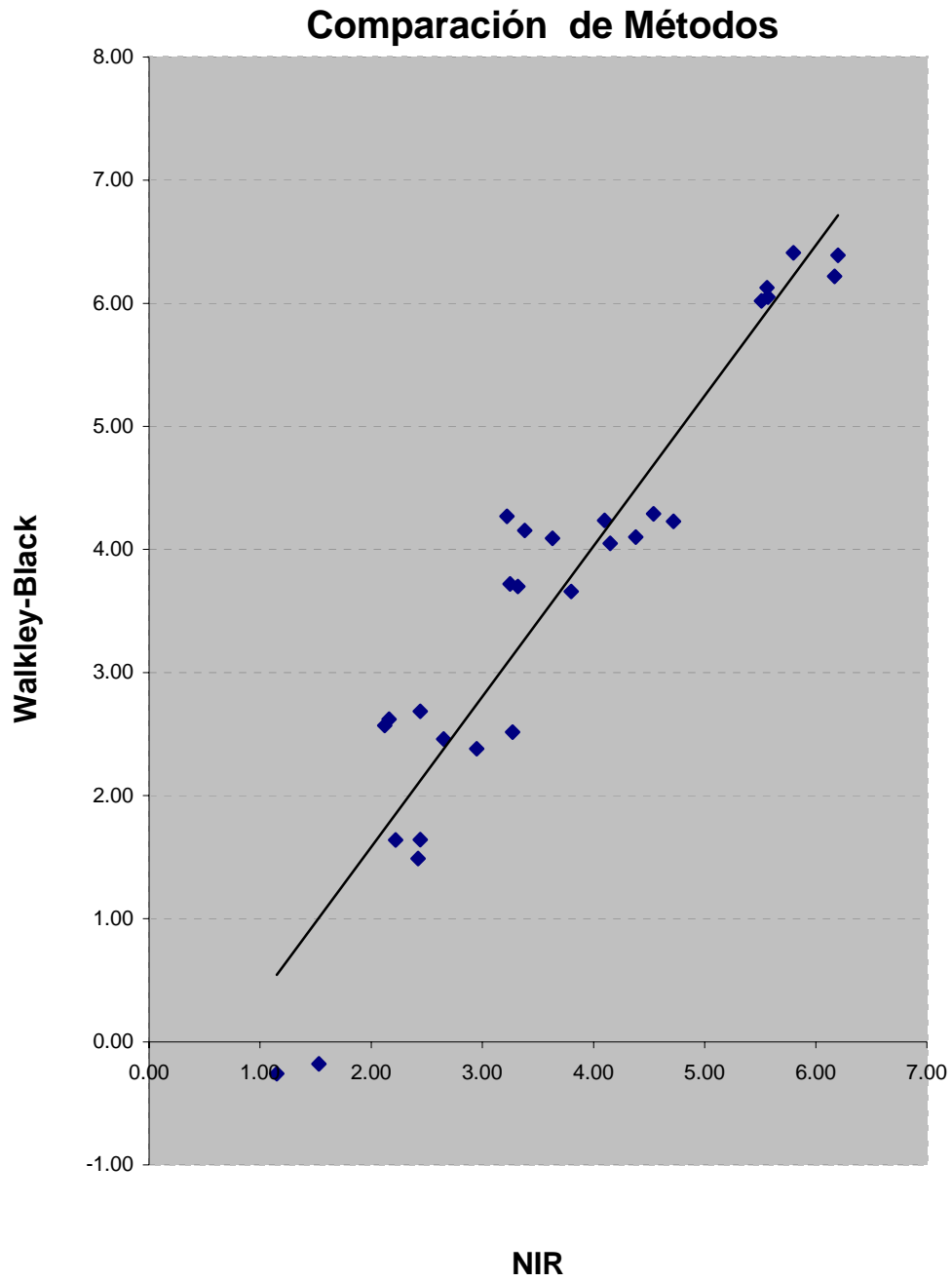
$$\sigma^2 = \text{varianza}, \qquad \bar{y} = \text{promedio}$$

Sustituyendo:

$$r_i = [(2.04 + 3.40) - 0.45] / (2.04 + 3.40) - (3.60 - 3.51)$$

$$r_i = \mathbf{0.9197}$$

13.8. Gráfica de Correlación lineal entre los métodos Walkley-Black y NIR.



13.9. Fórmula y Cálculos de Correlación de Concordancia.

Fórmula:

$$r_c = \frac{S_1^2 + S_2^2 - S_{(1-2)}^2}{S_1^2 + S_2^2 + (\bar{y}_1 - \bar{y}_2)^2}$$

Donde:

S_1^2 = Desviación Estándar al cuadrado del método 1 (Walkley-Black)

S_2^2 = Desviación Estándar al cuadrado del método 2 (NIR)

$S_{(1-2)}^2$ = Desviación Estándar al cuadrado de (método 1 - método 2).

$(\bar{y}_1 - \bar{y}_2)^2$ = Diferencia al cuadrado del promedio de (método 1 - método 2).

Para Tabla No.3

$$S_1^2 = 1.429$$

$$S_2^2 = 1.843$$

$$S_{(1-2)}^2 = 0.171$$

$$(\bar{y}_1 - \bar{y}_2)^2 = 0.002$$

Sustituyendo en fórmula:

$$r_c = (1.429 + 1.843 - 0.171) / (1.429 + 1.843 + 0.002)$$

$$r_c = 0.9682$$

Para Tabla No.4

$$S_1^2 = 1.126$$

$$S_2^2 = 1.280$$

$$S_{(1-2)}^2 = 0.0237$$

$$(\bar{y}_1 - \bar{y}_2)^2 = 0.0102$$

Sustituyendo en fórmula:

$$r_c = (1.126 + 1.280 - 0.0237) / (1.126 + 1.280 + 0.0102)$$

$$r_c = 0.9884$$

13.10. Determinación de t de Student

Fórmula:

$$t = \frac{\bar{y} - \mu_0}{s / \sqrt{n}}$$

Donde:

\bar{y} = Promedio de los datos en estudio.

μ_0 = Hipótesis nula

s = Desviación estándar de los datos en estudio.

n = Número de datos en estudio.

Lo planteado fue:

Hipótesis nula $H_0 : \mu \% \text{ error} \leq 10\%$

Hipótesis alterna $H_a : \mu \% \text{ error} > 10\%$

S= 28.82

n = 28

—

y = 21.5

Sustituyendo en la fórmula:

$$t = (21.5 - 0.1) / (28.82 / \sqrt{28}) = 21.486$$

Para aceptar la hipótesis nula el valor de t debió ser menor a 1.703, como es mayor se declara como falsa y se acepta la hipótesis alterna.

13.11. Determinación de Límites de Control

El límite control utilizado en éste trabajo (3.99-5.67%) fue determinado analizando 30 muestras de un suelo analizado en un período de un mes, cuyos datos fueron tratados de la siguiente manera:

- Se calculó el promedio de los datos resultados
- Se calculó la desviación estándar
- Se calculó el valor promedio más/ menos 2 veces de desviación estándar para determinar la zona de alarma, es decir si el valor calculado al analizar el control llega a ser mayor que dicha zona de alarma es desechado, lo cual implica que las muestras analizadas junto con él presenta algún tipo de error y es necesario volver a realizar el análisis.
- Se construyó una gráfica de Control: gráfica x-y en la que el período de las observaciones se grafica en la abscisa y los valores medidos x / unidad así como $(x - \bar{x})/s$ en la ordenada. Ej.

