



Universidad de San Carlos de Guatemala

Facultad de Ingeniería

Escuela de Ingeniería Química

**VERIFICACIÓN DE UNA TÉCNICA CUANTITATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE
NITRÓGENO TOTAL POR MEDIO DEL MÉTODO DUMAS UTILIZANDO EL EQUIPO
DUMATHERM EN MUESTRAS DE SUELOS Y PLANTAS**

Virginia Angelita Pinto Gómez

Asesorado por: Ing. José Carlos Boanerges Leppe de León

Guatemala, julio de 2021

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**VERIFICACIÓN DE UNA TÉCNICA CUANTITATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE
NITRÓGENO TOTAL POR MEDIO DEL MÉTODO DUMAS UTILIZANDO EL EQUIPO
DUMATHERM EN MUESTRAS DE SUELOS Y PLANTAS**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

VIRGINIA ANGELITA PINTO GÓMEZ

ASESORADO POR EL ING. JOSÉ CARLOS BOANERGES LEPPE DE LEÓN

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, JULIO DE 2021

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
VOCAL I	Ing. José Francisco Gómez Rivera
VOCAL II	Ing. Mario Renato Escobedo Martínez
VOCAL III	Ing. José Milton de León Bran
VOCAL IV	Br. Christian Moisés de la Cruz Leal
VOCAL V	Br. Kevin Armando Cruz Lorente
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANA	Inga. Aurelia Anabela Cordova Estrada
EXAMINADOR	Ing. César Ariel Villela Rodas
EXAMINADORA	Inga. Adela María Marroquín González
EXAMINADORA	Inga. Ana Gloria Montes Peña
SECRETARIO	Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

VERIFICACIÓN DE UNA TÉCNICA CUANTITATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR MEDIO DEL MÉTODO DUMAS UTILIZANDO EL EQUIPO DUMATHERM EN MUESTRAS DE SUELOS Y PLANTAS

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 30 de enero de 2020.

Virginia Angelita Pinto Gómez

Guatemala 13 de octubre de 2020


Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela Ingeniería Química
Presente.

Estimado Ingeniero Williams:

Le saludo cordialmente, deseándole éxitos en sus actividades. Por medio de la presente hago constar que he revisado y aprobado el Informe Final del trabajo de graduación titulado: "VERIFICACIÓN DE UNA TÉCNICA CUANTITATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR MEDIO DEL MÉTODO DUMAS UTILIZANDO EL EQUIPO DUMATHERM EN MUESTRAS DE SUELOS Y PLANTAS", elaborado por la estudiante de la carrera de Ingeniería Química, Virginia Angelita Pinto Gómez, quien se identifica con el registro académico 2010-20508 y con el CUI 2601 25970 01 01.

Agradeciendo la atención a la presente, me suscribo de usted,

Atentamente,



José Carlos Boanerges Leppe de León
Ingeniero Químico
Colegiado 2,196

José Carlos Boanerges Leppe de León
ASESOR
Ingeniero Químico
Colegiado activo no. 2196



Guatemala, 05 de marzo de 2021.
Ref. EIQ.TG-IF.008.2021.

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el registro de evaluación, correlativo **102-2019**, le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL

Solicitado por el estudiante universitario: **Virginia Angelita Pinto Gómez**.
Identificado con número de carné: **2601259700101**.
Identificado con registro académico: **201020508**.
Previo a optar al título de la carrera: **Ingeniería Química**.
En la modalidad: **Informe Final, Seminario de Investigación**.

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

VERIFICACIÓN DE UNA TÉCNICA CUANTITATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR MEDIO DEL MÉTODO DUMAS UTILIZANDO EL EQUIPO DUMATHERM EN MUESTRAS DE SUELOS Y PLANTAS

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por:

José Carlos Boanerges Leppe De León, profesional de la Ingeniería Química

Habiendo encontrado el referido trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

INGENIERO QUÍMICO
WILLIAM EDUARDO FAGIANI CRUZ
COL. 1734

William Eduardo Fagiani Cruz
profesional de la Ingeniería Química
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación

C.c.: archivo



Guatemala, 12 de julio de 2021.

Ref. EIQ.125.2021

Aprobación del informe final del trabajo de graduación

Ingeniera
Aurelia Anabela Cordova Estrada
Decana
Facultad de Ingeniería
Universidad de San Carlos de Guatemala

Revisado el INFORME FINAL DEL TRABAJO DE GRADUACIÓN (TESIS), DENOMINADO **VERIFICACIÓN DE UNA TÉCNICA CUANTITATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR MEDIO DEL MÉTODO DUMAS UTILIZANDO EL EQUIPO DUMATHERM EN MUESTRAS DE SUELOS Y PLANTAS** del(la) estudiante Virginia Angelita Pinto Gómez, se conceptúa que el documento presentado, reúne todas las condiciones de calidad en materia administrativa y académica (rigor, pertinencia, secuencia y coherencia metodológica), por lo tanto, se procede a la autorización del mismo, para que el(la) estudiante pueda optar al título de Ingeniería Química.

“Id y Enseñad a Todos”




Ing. Williams C. Alvarez Mejia, M.I.C., M.U.I.E.
DIRECTOR

Escuela de Ingeniería Química

Cc. Archivo
WGAM/wgam



DTG. 291-2021

La Decana de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **VERIFICACIÓN DE UNA TÉCNICA CUANTITATIVA PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR MEDIO DEL MÉTODO DUMAS UTILIZANDO EL EQUIPO DUMATHERM EN MUESTRAS DE SUELOS Y PLANTAS**, presentado por la estudiante universitaria: **Virginia Angelita Pinto Gómez**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:


Inga. Anabela Cordova Estrada
Decana



Guatemala, julio de 2021

AACE/asga

ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Por no fallarme, bendecirme, fortalecerme, acompañarme y regalarme cada día para cumplir todas mis metas.
- Mis padres** Pablo Pinto y Angela Gómez Calderón, por guiarme y apoyarme incondicionalmente durante toda mi vida y mi carrera universitaria.
- Mi hermano** José Pablo Pinto, por ser un gran apoyo durante toda mi carrera y por alentarme a seguir adelante.
- Mis amigos** Por sus muestras de afecto y cariño.

AGRADECIMIENTOS A:

Universidad de San Carlos de Guatemala	Por permitir mi superación profesional y darme la oportunidad de finalizar esta carrera.
Facultad de Ingeniería	Por brindarme los conocimientos necesarios para enfrentar los futuros retos de mi vida profesional.
Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas	En especial al Ing. Daniel Martínez, por darme la oportunidad de realizar mi proyecto en el laboratorio.
Mi asesor	Ing. José Carlos Leppe, por brindarme su apoyo y sus conocimientos para la realización del presente informe.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	V
LISTA DE SÍMBOLOS	VII
GLOSARIO	IX
RESUMEN.....	XI
OBJETIVOS.....	XIII
INTRODUCCIÓN	XV
1. ANTECEDENTES	1
2. MARCO TEÓRICO.....	5
2.1. Ciclo del nitrógeno.....	5
2.2. Nitrógeno del suelo.....	7
2.2.1. Fijación del Nitrógeno	8
2.2.2. Impacto del nitrógeno	9
2.2.3. El nitrógeno en las plantas	10
2.3. Suelo	10
2.3.1. Composición del suelo.....	11
2.3.2. La fase sólida.....	11
2.3.3. Componentes de la materia orgánica del suelo.....	11
2.4. Cuantificación de nitrógeno total	12
2.5. Método de Dumas	12
2.5.1. Fundamento método Dumas	13
2.6. Equipo Dumatherm.....	14
2.7. Reacciones de oxidación-reducción	16

2.8.	Validación de un método.....	17
2.9.	Verificación de un método.....	18
2.10.	Parámetros de verificación.....	19
2.10.1.	Uso de los datos de verificación para diseñar el control de calidad	21
2.10.2.	Declaración de incertidumbre.....	22
2.11.	Material de referencia certificado	23
2.12.	Análisis estadístico.....	24
3.	DISEÑO METODOLÓGICO.....	25
3.1.	Variables independientes.....	25
3.2.	Delimitación de campo de estudio	25
3.3.	Recursos humanos disponibles	25
3.4.	Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos).....	26
3.4.1.	Equipo	26
3.4.2.	Materiales/reactivos	27
3.5.	Técnica cuantitativa.....	27
3.5.1.	Selección del método	28
3.5.2.	Realización de las pruebas con el Dumatherm	29
3.5.3.	Cálculos de parámetros de desempeño	30
3.5.4.	Verificación y declaración de incertidumbre	30
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información.....	30
3.7.	Análisis estadístico.....	38
3.7.1.	Desviación estándar.....	38
3.7.2.	Regresión lineal.....	38
3.7.3.	Análisis de varianza (Anova).....	38
3.7.4.	Diseño experimental.....	38
3.8.	Plan de análisis de los resultados	39

3.8.1.	Métodos y modelos de los datos según tipo de variables	39
3.9.1.1.	Cálculo de desviación estándar	39
3.9.1.2.	Análisis de Varianza	40
3.9.1.3.	Programas para utilizar análisis de datos	40
4.	RESULTADOS	41
4.2.	Datos para la verificación del método Dumas por el equipo Dumatherm.	42
4.2.1.	Precisión	42
4.2.2.	Veracidad.....	43
4.2.3.	Incertidumbre.....	49
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	51
	CONCLUSIONES	53
	RECOMENDACIONES.....	55
	BIBLIOGRAFÍA.....	57
	APÉNDICE.....	61
	ÁNEXOS	65

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

1.	Esquema del ciclo del nitrógeno en la naturaleza	7
2.	Esquema del funcionamiento del equipo Dumatherm	15
3.	Intervalo de trabajo, intervalo lineal, sensibilidad analítica, límite de detección y cuantificación	39
4.	Intervalo de trabajo y límite de cuantificación para concentración medida en función de la concentración de muestra de ensayo.....	40
5.	Curva de calibración del equipo Dumatherm	41
6.	Sesgo para EDTA en foliares	45
7.	Sesgo para Wepal palma en foliares	46
8.	Sesgo para Wepal banano en foliares	47
9.	Sesgo para suelo ASS 1809-2	48
10.	Sesgo para suelo ASS 1809-4	49
11.	Requisitos académicos	61

TABLAS

I.	Porcentaje de nitrógeno total para los materiales de referencia, certificados para esta investigación	23
II.	Datos obtenidos aplicando el método Dumas con el equipo Dumatherm en foliares	31

III.	Datos obtenidos aplicando el método Dumas con el equipo Dumatherm en abonos	33
IV.	Datos obtenidos aplicando el método Dumas con el equipo Dumatherm en suelos.....	35
V.	Resultados de repetibilidad.....	42
VI.	Resultados de precisión intermedia.....	43
VII.	Resultados de sesgo y exactitud	44
VIII.	Cálculos de exactitud para EDTA (foliares)	44
IX.	Cálculos de exactitud para Wepal palma (foliares)	45
X.	Cálculos de exactitud para Wepal banana (foliares).....	46
XI.	Cálculos de exactitud para ASS 1809-2 (suelo)	47
XII.	Cálculos de exactitud para ASS 1809-4 (suelo)	48
XIII.	Incertidumbre para cada matriz analizada	49

LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
C.V.	Coeficiente de variación
σ	Desviación estándar
°C	Grados Celsius
g	Gramos
U	Incertidumbre expandida
ASS	Material de referencia de suelo
mg	Miligramos
N	Nitrógeno

GLOSARIO

Combustión	Proceso químico de oxidación rápida que va acompañado de desprendimiento de energía baja en forma de calor y luz. El oxígeno, elemento esencial para que se produzca y continúe el proceso de oxidación.
Dumatherm	Analizador que utiliza el método Dumas como referencia. Quema el material de muestra a altas temperaturas y reduce el óxido de nitrógeno resultante a nitrógeno elemental, mediante una superficie de cobre metálica.
Exactitud	Proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.
Foliar	En botánica, perteneciente o relativo a la hoja.
Incertidumbre	Parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurado.
Método Dumas	Método completo que sirve para determinar el contenido total de nitrógeno en una matriz habitualmente orgánica. La muestra se combustiona a una temperatura alta en una atmósfera de oxígeno.

Precisión	Proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes, obtenidos bajo condiciones estipuladas.
Redox	Reacción química en la que uno o más electrones se transfieren entre los reactivos, provocando un cambio en sus estados de oxidación.
Repetibilidad	Variaciones de resultados de una prueba que se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos.
Sesgo	Diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.
Veracidad	Proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie grande de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.
Verificación	Comprobación que el laboratorio domina el método de ensayo normalizado y lo utiliza adecuadamente.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como finalidad verificar una técnica de cuantificación de nitrógeno total en suelos y plantas, aplicando el método Dumas y utilizando el equipo Dumatherm, implementando los requisitos técnicos y de gestión que debe cumplir el laboratorio para acreditar el método bajo la norma ISO 17025:2017. El método fue aplicado a muestras que ingresaron en el Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas.

Se pesaron las muestras de suelos y foliares, se analizó con el equipo Dumatherm para obtener el porcentaje de nitrógeno total en las muestras. Para determinar la aceptabilidad del método se establecieron parámetros de verificación que fueron: repetibilidad, exactitud, precisión y declaración de incertidumbre.

Se obtuvo los resultados del análisis de muestras y se realizó el análisis estadístico para verificar el cumplimiento de los parámetros establecidos. Se calculó la desviación estándar en los resultados para estimar la precisión representada como porcentaje de coeficiente de variación y se realizó un análisis de varianza para determinar la exactitud, repetibilidad y precisión intermedia. Finalmente, se realizaron los informes de verificación y declaración de incertidumbre por medio de una incertidumbre expandida asociada.

Por medio de los resultados obtenidos del análisis estadístico se demostró que las concentraciones que se analizaron en el laboratorio, se encontraron dentro del rango de aceptación, en comparación con las concentraciones del material de referencia, se obtuvo un porcentaje de coeficiente de variación menor

al 10 %, se obtuvo un rango de exactitud entre el 90 % y 100 % y un sesgo menor al 10 %, por lo que el método Dumas fue verificado por el laboratorio y se demostró que los resultados analizados en el equipo Dumatherm son confiables.

OBJETIVOS

General

Verificar una técnica de cuantificación de nitrógeno total en muestras de suelos y plantas por medio del método Dumas, en el Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas, para la acreditación de dicho método bajo la norma ISO/IEC 17025:2017.

Específicos

1. Demostrar que las concentraciones certificadas para un material de referencia son iguales a las concentraciones determinadas en el laboratorio, mediante un análisis de varianza, para la verificación de la técnica de cuantificación de nitrógeno total.
2. Estimar los parámetros de desempeño del método: precisión, repetibilidad, veracidad, exactitud e incertidumbre, mediante los resultados obtenidos en el analizador de nitrógeno para la verificación del método Dumas.

INTRODUCCIÓN

Se enuncia la determinación de nitrógeno total en suelos, que cumple un aspecto importante en los cultivos. Las altas tasas de nitrógeno inorgánico en sistemas agrícolas han tenido consecuencias negativas para el funcionamiento del suelo y la salud ambiental. Los altos aportes de nitrógeno agotan el carbón del suelo y atrofian su capacidad para retener agua.

En lo que respecta a la técnica que cuantifica el nitrógeno total, es aplicable en muestras de suelos y plantas, es compatible con el método de Dumas, que, al aplicarlo, se obtiene el porcentaje de nitrógeno total y por consiguiente se produce la verificación de dicho método.

En cuanto al equipo Dumatherm, en el que se realiza el método Dumas permite que se sustituya el método de Kjeldahl, lo que lo hace innovador, en especial porque permite la determinación del nitrógeno total, al someter la muestra a una combustión, específicamente a 1 030 °C y con una reducción a 800 °C, que es lo que permite el porcentaje de nitrógeno total en la muestra.

En relación con la verificación del método Dumas, es relevante debido a que se comprueba que el método está siendo utilizado adecuadamente y lo más importante de dicha evaluación y comprobación de resultados, permite conocer la similitud del material de referencia con las concentraciones estimadas en la investigación.

1. ANTECEDENTES

De acuerdo con el decreto 19-69 Ley del Café del Congreso de la República de Guatemala, artículo 4, se creó una Asociación Nacional del Café, como “una entidad de derecho público, no lucrativa, constituida por los caficultores de la República; con personalidad jurídica, patrimonio propio, fondos privativos y plena capacidad para adquirir y disponer de sus bienes y contraer obligaciones, de conformidad con su objeto y fines”.¹

La Asociación Nacional del Café tiene como misión velar por los intereses del sector cafetalero; ser responsable de prestar los servicios efectivos para lograr una caficultura sostenible, competitiva y de calidad. Su visión es, ser una organización de vanguardia, líder de los caficultores del país, prestar servicios a sus asociados y proyectar el café de Guatemala al mundo.

Entre los servicios que presta Anacafé se encuentra el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Aguas. “Cuenta con un Sistema de Gestión de Calidad implementado y basado en normas internacionales, garantizando la confiabilidad de los resultados a través de herramientas de aseguramiento de la calidad, capacitación constante del personal técnico, equipos de gama alta, reactivos de alta pureza y proveedores altamente calificados”.²

¹ANACAFÉ. *Anacafé Asociación Nacional del Café.*
https://www.anacafe.org/uploads/file/a750889e55144d9c8cf95df69096d67f/Ley_Reglamento_Decretos.pdf.

² *Ibíd.*

Según el Ing. Martínez Daniel, Anacafé 2017, el laboratorio fue fundado el 21 de marzo de 1972 por la Junta Directiva de Anacafé del periodo 1971-1972. Fue creado con la finalidad de brindar apoyo al sector cafetalero prestando los servicios de análisis de suelos, fertilizantes y cales agrícolas. Desde el inicio hasta la fecha, Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas ha realizado diversos estudios sobre suelos, fertilizantes y cales agrícolas. Desde el inicio hasta la fecha, Analab ha realizado diversos estudios sobre suelos, aguas y plantas para la mejora de producción y calidad del café en Guatemala.

En 2013, el laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas realizó un estudio de graduación de grado, de la Universidad de San Carlos de Guatemala en la carrera de Ingeniería Química, la tesis se denomina Diseño de la investigación para evaluación de agua miel para riego en plantillas de café en el beneficio húmedo Cooperativa Nuevo Sendero en la aldea Chapas, Nueva Santa Rosa, Guatemala, C. A.; el trabajo de investigación se efectuó con el objetivo de aprovechar los nutrientes de agua miel proveniente de beneficiado húmedo de café y poder establecer un método de reúso de agua residual para evitar su vertido en cuerpos receptores. Dicho estudio se llevó a cabo por medio de una comparación del efecto de utilizar riego de agua miel cruda y agua miel tratada sobre el desarrollo de plantillas de café, para sus resultados se empleó un análisis de varianza.³

Se hizo un estudio de graduación de grado, de la Universidad de San Carlos de Guatemala en la carrera de Ingeniería Química, la tesis se denomina Validación y comparación de dos métodos analíticos por espectrofotometría visible para determinar boro en suelos.

³ PALMA, Laura María. *Diseño de la investigación para la evaluación de agua miel para riego en plantillas de café en el beneficio húmedo cooperativa nuevo sendero en la Aldea Chapas, Nueva Santa Rosa, Guatemala, C.A.* p. 2.

“El trabajo de investigación consiste en comparar dos métodos analíticos por espectrofotometría visible para extraer boro en suelos, en los resultados obtenidos se aplicaron los parámetros de validación: selectividad, linealidad, sensibilidad, límites, precisión, veracidad, robustez y aplicabilidad”.⁴

Los primeros dos antecedentes son institucionales, los dos anteriores están relacionados con los estudios de laboratorio y de tesis de grado, realizados en el laboratorio; en Guatemala no se encontró un antecedente sobre la determinación de nitrógeno total por el método DUMAS, sin embargo existe un estudio llevado a cabo en Perú que se titula Validación y estimación de la incertidumbre en la determinación del contenido de nitrógeno total en harina de pescado empleando la técnica de combustión y detector de conductividad térmica, con los resultados obtenidos se determinó que el método es selectivo y robusto.⁵

Otro estudio realizado en Perú, titulado Validación y obtención de la incertidumbre para la determinación del porcentaje de proteína en harina de pescado, por el método Dumas (combustión), señala que el método es robusto.⁶

⁴ DORANTES, Brenda Carolina. *Validación y comparación de dos métodos analíticos por espectrofotometría visible para determinar boro en suelos..* 3 p.

⁵ SULCA CARDENA, Edber Abel. *Validación y estimación de la incertidumbre en la determinación del contenido de nitrógeno total en harina de pescado empleando la técnica de combustión y detector de conductividad termica.* p. 11.

⁶ RAMIREZ CAMPOS, José Luis. *Validación y obtención de la incertidumbre para la determinación del porcentaje de proteína en harina de pescado, por el método dumas (combustión)* p. 10.

Se realizaron estudios previos de determinación de nitrógeno total para proteínas en alimentos realizando una validación y verificación del método de combustión Dumas, incluyendo los mismos parámetros para la presente investigación, se comparan los resultados con el método Kjeldahl que es un método alternativo para determinar nitrógeno total.

2. MARCO TEÓRICO

El contenido conceptual desarrollado constituye el fundamento de la investigación documental que le da sustento al trabajo realizado y que corresponde a la verificación de la técnica cuantitativa para la determinación de nitrógeno total por medio del Método Dumas en muestras de suelos y plantas; el estudio permitió determinar el porcentaje de nitrógeno total en las muestras que son sometidas a una combustión y una reducción en el equipo Dumatherm.

2.1. Ciclo del nitrógeno

La atmósfera es el principal reservorio de nitrógeno, donde constituye hasta un 78 % de los gases. Sin embargo, como la mayoría de los seres vivos no pueden utilizar el nitrógeno atmosférico para elaborar aminoácidos y otros compuestos nitrogenados, dependen del nitrógeno presente en los minerales del suelo. Por lo tanto, a pesar de la gran cantidad de nitrógeno en la atmósfera, la escasez de nitrógeno en el suelo constituye un factor limitante para el crecimiento de los vegetales. “El proceso a través del cual circula nitrógeno a través del mundo orgánico y el mundo físico se denomina ciclo del nitrógeno”.⁷

El ciclo del nitrógeno incluye varios procesos: la fijación del nitrógeno atmosférico, amonificación, nitrificación, asimilación y desnitrificación.

⁷ CAMPBELL, Neil A., MITCHELL, Lawrence G. *Biología, conceptos y relaciones*. p.150.

La fijación del nitrógeno es el proceso de la transformación del nitrógeno atmosférico en nitratos o amoníaco, “se lleva a cabo de dos maneras: por reacciones químicas de alta energía que aportan los relámpagos durante las tormentas eléctricas o bien a través de procesos biológicos efectuados por algunas bacterias denominadas fijadoras de nitrógeno”.⁸

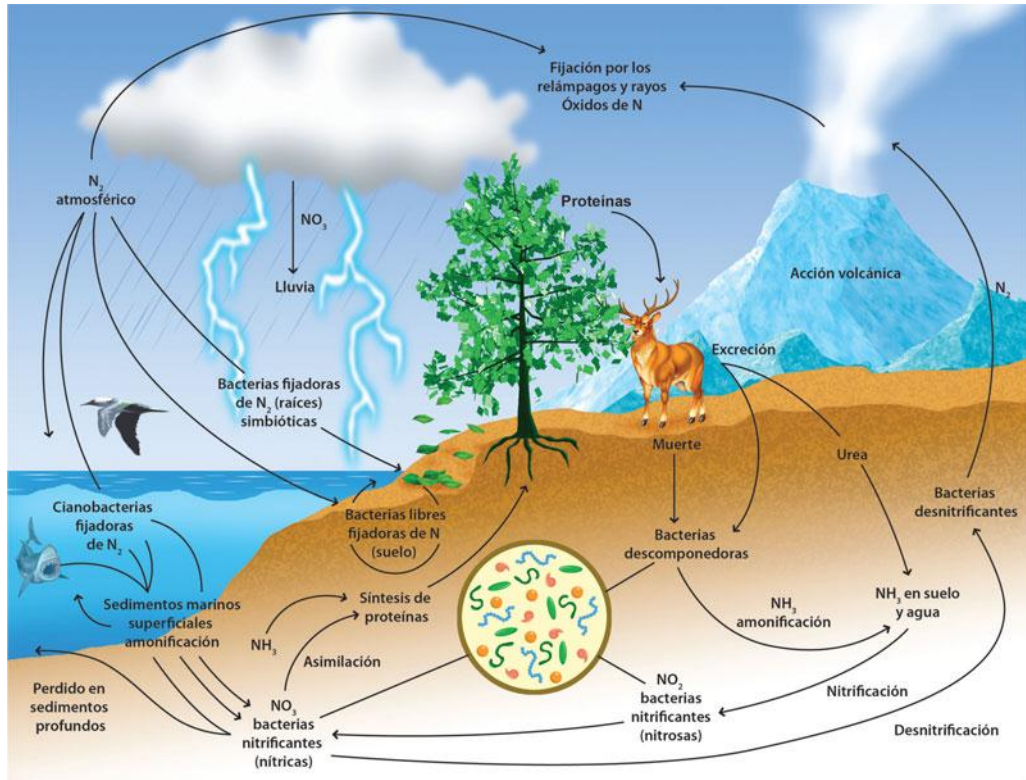
La amonificación ocurre cuando los organismos mueren y actúan bacterias que transforman las moléculas orgánicas, ocurre en las excreciones de los organismos. “La nitrificación convierte el amoníaco en nitritos (NO_2) y nitratos (NO_3)”.⁹

Las raíces de las plantas absorben el amoníaco o el nitrato y lo utilizan para la síntesis de sus biomoléculas. Los animales al alimentarse de plantas y otros organismos, incorporan el nitrógeno a sus tejidos y como resultado se genera amonio. La eliminación del amonio en forma de ácido úrico y urea. Estos compuestos se depositan en tierra o agua, de donde son tomados por las plantas y algunas bacterias.

⁸ LABASTIDA, Jaime, RUIZ, Rosaura. *Enciclopedia de conocimientos fundamentales UNAM Siglo XXI*. p. 553.

⁹ *Ibíd.* p. 554.

Figura 1. Esquema del ciclo del nitrógeno en la naturaleza



Fuente: LABASTIDA, Jaime, RUIZ, Rosaura. *Enciclopedia de conocimientos fundamentales UNAM siglo XXI*. 2010. http://catalogacionrua.unam.mx/enciclopedia/biologia/Text/85_tema_05_5.5.3.html. Consulta: 12 marzo 2020.

2.2. Nitrógeno del suelo

“El 98 % de nitrógeno se encuentra en las rocas, 2 % en la atmósfera y menos del 1 % en el suelo y agua”.¹⁰ Las formas en que el N es asimilado por las plantas son NO_3^- y NH_4^+ mediante proceso de flujo.

¹⁰ DAUB, G. William, SEESE, William S. *Química*. p. 52.

Las cantidades de N presentes en los suelos dependen especialmente de las condiciones climáticas, la vegetación, la actividad microbiana, la topografía, el material parental, la actividad del hombre y el tiempo. La mayor parte del nitrógeno en el suelo se encuentra en combinación orgánica, como sustituyente de la materia orgánica edáfica. Solo una pequeña fracción se encuentra en combinaciones inorgánicas, fundamentalmente como NH_4^+ en su forma catiónica, y como NO_2^- y NO_3^- en su forma aniónica.¹¹

2.2.1. Fijación del Nitrógeno

La fijación del nitrógeno (N_2) es un proceso que realizan algunos microorganismos, esta habilidad da la ventaja de no depender de otras especies disponibles de nitrógeno.

- Amonificación: es la transformación del nitrógeno en amonio. El nitrógeno orgánico se encuentra en el suelo en forma de proteínas. El amonio obtenido puede ser utilizado por los microorganismos que lo utilizan como fuente de nitrógeno, incorporarse al *humus*, es utilizado por plantas y puede continuar con la nitrificación. Del valor de pH del suelo depende si se encuentra como amoniaco (NH_3) en suelos neutro/alcalino o como ion amonio (NH_4^+) en pH neutro/ácido.
- Nitrificación: el amonio producido en la amonificación continúa con la oxidación y se transforma en NO_2^- y luego en NO_3^- . Este proceso es realizado por Nitrobacter y es una fuente de H^+ hacia la solución del suelo que provoca paulatina acidificación.

¹¹ PELLEGRINI, Andrea Edith. *Nitrógeno del suelo*. <https://scholar.google.com/scholar?cluster=4660790784258549879&hl=en&oi=scholar>.

- Desnitrificación: reducción de NO_3^- y NO_2^- por medio de bacterias del suelo, son transformados en gases de NO , N_2O , N_2 , pasando del suelo a la atmósfera. Las bacterias desnitrificadoras son anaeróbicas.
- Inmovilización microbiana: es la asimilación por los microorganismos de nutrientes inorgánicos. Los microorganismos utilizan el nitrógeno para construir sus propias fuentes de energía. Al agregar abono orgánico se produce un decaimiento del contenido de N inorgánico del suelo, ya que los organismos necesitan, para aprovechar la energía contenida en los restos orgánicos y sintetizar sus propias estructuras.

2.2.2. Impacto del nitrógeno

Las altas tasas de nitrógeno inorgánico en sistemas agrícolas han tenido muchas consecuencias para el funcionamiento del suelo y la salud ambiental. Los altos aportes de nitrógeno agotan el carbón del suelo, atrofian su capacidad para retener agua y agotan el N del suelo. El manejo de nitrógeno es clave para construir carbón en el suelo. El carbón no se puede formar en presencia de altas tasas de nitrógeno inorgánico.¹²

Se considera que el 65 % del nitrógeno es utilizado por los cultivos que provienen de la fijación biológica. Gran parte del nitrógeno utilizado en agricultura deriva del proceso del nitrógeno atmosférico que se transforma en amoníaco con ayuda de bacterias fijadoras del nitrógeno. “Las moléculas vitales para la fertilidad del suelo son los aminoácidos y *humus*, las cuales contienen amoníaco que se incorpora en estas moléculas orgánicas”.¹³

¹² JONES, Christine. *Nitrógeno, la espada de doble filo*. <http://www.amazingcarbon.com/>.

¹³ *Ibíd.*

2.2.3. El nitrógeno en las plantas

El amonio y nitrato son absorbidos por la planta que contienen nitrógeno, convertidos en aminoácidos. En las raíces ocurre la metabolización del amonio con demanda de oxígeno, y el nitrato se metaboliza en las hojas. “La absorción de amonio y nitrato afecta de manera diferente el entorno de las raíces y la absorción de otros nutrientes”.¹⁴ Para aprovechar esta absorción la permeabilidad se debe mejorar en la estructura del suelo y la capacidad de este de retener agua y nutrientes.

La función más importante del nitrógeno en los cultivos es formar parte de las proteínas vegetales y como reserva de energía, “las plantas deficientes en nitrógeno exhiben un crecimiento pobre. Las hojas más viejas se vuelven de un color verde pálido y más pequeño, como resultado del contenido reducido de clorofila”.¹⁵

2.3. Suelo

El suelo es un ente natural organizado e independiente con unos constituyentes que son resultado de la actuación de una serie de factores activos como el clima, organismos y tiempo sobre la roca madre. “Es la fina capa de material fértil que recubre la superficie de la Tierra. Es una capa delgada situada en el límite entre la atmósfera y la zona continental de la corteza terrestre.”¹⁶ Es considerado como medio para el desarrollo de las plantas, regulador del contenido de agua y nutrientes.

¹⁴ SELA, Guy. *El nitrógeno en las plantas*. <https://croipaia.com/es/blog/nitrogeno-en-las-plantas/>.

¹⁵ *Ibíd.*

¹⁶ LÓPEZ, Antonio Jordán. *Manual de Edafología*. <https://docplayer.es/15622146-Manual-de-edafologia-por-antonio-jordan-lopez.html>.

2.3.1. Composición del suelo

Se pueden diferenciar tres fases de suelo; fase sólida: agregados minerales y orgánicos; fase líquida: agua de la solución del suelo y fase gaseosa: atmósfera del suelo contenida en el espacio poroso. La fase sólida ocupa aproximadamente el 50 % del total.

2.3.2. La fase sólida

Es la responsable del comportamiento del suelo, formada por dos tipos de componentes, el componente mineral del material original y el componente orgánico procedente de los restos de los seres vivos. “La fase sólida representa la fase más estable del suelo y por tanto es la más representativa y la más ampliamente estudiada”.¹⁷ Un suelo cultivado contiene, aproximadamente un 45 % de materia mineral, un 5 % de materia orgánica, un 15-35 % de agua y el resto de aire. La parte sólida del suelo proviene de la descomposición de las rocas y de los residuos vegetales y es relativamente estable en cuanto a su composición y organización. Dicha estabilidad suele servir para la caracterización.

2.3.3. Componentes de la materia orgánica del suelo

La materia orgánica del suelo se compone de vegetales, animales y microorganismos vivos, sus restos y las resultantes de su degradación fisicoquímica. Durante el proceso degradativo de los restos se obtiene el contenido medio final en el *humus* que está alrededor del 5 % de nitrógeno.

¹⁷ LÓPEZ, Antonio Jordán. *Manual de Edafología*. <https://docplayer.es/15622146-Manual-de-edafologia-por-antonio-jordan-lopez.html>.

- Compuestos hidrocarbonados: formados por carbono, hidrógeno y oxígeno, como azúcares solubles, almidón, celulosa, lignina, grasas, resinas, entre otros.
- Sustancias nitrogenadas: en forma de aminoácidos, péptidos, proteínas, amino azúcares, entre otros. Son sustancias que se componen de carbono, hidrógeno, oxígeno, nitrógeno, fósforo y azufre.
- Productos transitorios: son sustancias resultantes de la degradación y la descomposición de las moléculas orgánicas complejas.

2.4. Cuantificación de nitrógeno total

La cuantificación de nitrógeno total cobra importancia en distintos ámbitos, resultando ser un parámetro de decisión para cultivo y reproducción de plantas; como también para establecer si un cuerpo de agua es apto para el consumo humano. La fase final de valoración en el método Kjeldahl requiere de alta precisión y repetitividad en los resultados obtenidos. Con el sistema de titulación y el electrodo combinado se optimiza esta determinación con curvas de titulación definidas y punto final exacto al tratarse de un valor potenciométrico. Adicionalmente se disminuye el consumo de reactivos tales como indicadores los cuales pueden tener costos elevados y una baja efectividad al momento de la detección del punto final.

2.5. Método de Dumas

Es un método completo que sirve para determinar el contenido total de nitrógeno en una matriz habitualmente orgánica. “La muestra se combustiona a una temperatura alta en una atmósfera de oxígeno”.¹⁸ A través de subsiguientes

tubos de oxidación y reducción, el óxido de nitrógeno se convierte cuantitativamente en N_2 . El resto de los productos volátiles de la combustión se aíslan o se separan.

Un detector de conductividad térmica mide el gas nitrógeno. En el detector de conductividad se produce un cambio de transferencia de calor desde una localización a través de la muestra a un sumidero de calor (pared del detector). Una temperatura alta causa mayor resistencia a la conductividad eléctrica del mismo, este cambio modifica el equilibrio del sistema y puede medirse el nitrógeno. “Los resultados se indican en forma de porcentaje o en mg de nitrógeno”.¹⁹

2.5.1. Fundamento método Dumas

Este método se caracteriza por pirolisis completa de la muestra y medición del contenido de nitrógeno de los gases de combustión. “El nitrógeno puede ser medido con manómetro después de absorber el dióxido de carbono en una solución alcalina o por conductividad térmica en métodos automatizados”.²⁰

¹⁸ MULLER, Jurgén. *Dumas o Kjeldahl para el análisis de referencia*. <http://www.fossanalytics.com>. Consulta: 21 de marzo 2020. p 2.

¹⁹ *Ibíd.* p. 4.

²⁰ ROMERO, Nalda. *Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos*. p. 165-175.

- Ventaja

Muestra equivalencias satisfactorias al compararlo con el método de Kjeldahl en análisis de muestras, aunque con valores levemente mayores.²¹

- Desventaja

Requiere pequeñas cantidades de muestra, finamente dividida y homogénea para minimizar el error de muestreo. “Este método no puede aplicarse a material húmedo por lo que debe efectuarse un secado previo”.²²

Con relación a la selectividad, las interferencias y la susceptibilidad a la adulteración, hay que tener en cuenta que el método Dumas recupera cuantitativamente todas las formas de nitrógeno, orgánico e inorgánico, durante el análisis y es específico del nitrógeno total. El método es susceptible de adulteración por parte de todos los compuestos orgánicos e inorgánicos que contienen nitrógeno”.²³

2.6. Equipo Dumatherm

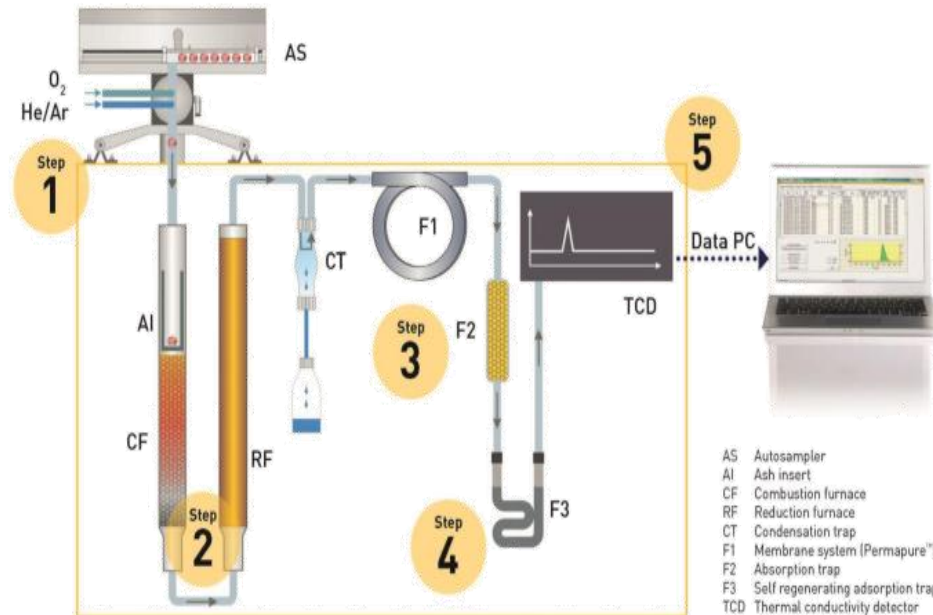
El equipo contiene un reactor de alta temperatura sin cromo que realiza una combustión catalítica sin residuos de las muestras, se utilizan gases como helio y oxígeno de alta pureza para determinar con precisión los porcentajes de nitrógenos más bajos.

²¹ ROMERO, Nalda. *Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos*. p. 167.

²² *Ibíd.* p. 168.

²³ *Ibíd.* p. 169.

Figura 2. Esquema del funcionamiento del equipo Dumatherm



Fuente: GERHARDT, D. Manual Dumatherm. 14 p.

- Paso 1: la muestra se pesa y envuelve en estaño para evitar la contaminación con el nitrógeno del aire y eliminar error en los resultados. La muestra pasa por el auto muestreador con ayuda de He/Ar.
- Paso 2: la muestra cae por gravedad al inserto de ceniza. Los productos de combustión gaseosos pasan a la columna de combustión y reaccionan completamente a los óxidos deseados con ayuda de catalizadores. El óxido de nitrógeno resultante se reduce en la columna de reducción y pasa a su estado de nitrógeno elemental.
- Paso 3: el producto generado de agua queda atrapado en la trampa de absorción de agua.

- Paso 4: el producto generado de CO₂ queda atrapado en la trampa de absorción autoregenerante.
- Paso 5: el nitrógeno elemental junto con el gas acarreador He/Ar pasa por el detector de conductividad térmica (TCD) y luego se obtienen los datos mediante el *software manager*.²⁴

2.7. Reacciones de oxidación-reducción

Son procesos que llevan a la modificación del estado de oxidación de los compuestos. Las reacciones redox se consideran como reacciones de transferencia de electrones. Abarcan desde la combustión de combustibles fósiles hasta la acción de los blanqueadores domésticos. “El término de reacción de oxidación se refiere a la semirreacción que implica la pérdida de electrones. Una reacción de reducción es una semirreacción que implica una ganancia de electrones”.²⁵

En la oxidación existe una pérdida de electrones o un aumento de número de oxidación y en la reducción existe una ganancia de electrones o disminución de su número de oxidación, “[...] en una reacción redox existe el agente reductor el cual dona electrones al oxígeno y hace que se reduzca. El oxígeno se reduce y actúa como agente oxidante porque acepta electrones”.²⁶

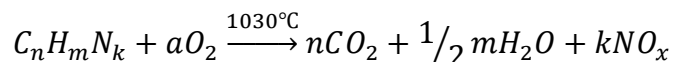
²⁴ GERHARDT, D. *Manual Dumatherm*. p. 14-25.

²⁵ CHANG, Raymond. *Química*. p. 116.

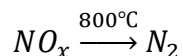
²⁶ *Ibíd.* p. 120.

La reacción de combustión es la reacción química exotérmica de una sustancia llamada combustible con el oxígeno, “una reacción de combustión es una reacción en la cual la sustancia reacciona con el oxígeno, por lo general con la liberación de calor para producir una flama”,²⁷ se caracteriza porque se forma una llama la cual emite luz y calor que se encuentra en contacto con el combustible.

Reacción de combustión (Oxidación)



Reacción de reducción



2.8. Validación de un método

Es el proceso de establecer las características de desempeño y limitaciones de un método y la identificación de las influencias que pueden modificar esas características y hasta qué punto. Es el proceso de verificación de que un método es adecuado a su propósito, o sea, para resolver un problema analítico particular. “En el proceso de validación del método deberán utilizarse equipos que estén trabajando correctamente dentro de su especificación y adecuadamente calibrados”.²⁸

²⁷ CHANG, Raymond. *Química*. p. 121.

²⁸ EURACHEM. *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. p. 10.

En el inciso 5.4.5.1 de la Norma Coguanor NGR/ISO/IEC 17025, en su primer inciso, establece que “La validación es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencia objetiva, que se cumplen los requisitos particulares para un uso específico previsto”.²⁹

2.9. Verificación de un método

Comprueba que el laboratorio domina el método de ensayo normalizado y lo utiliza adecuadamente. “Si el laboratorio ha modificado un método normalizado, requerirá únicamente que se realicen pruebas que indican que la variación realizada no afecta el ensayo”.³⁰

Los pasos para seguir serán los mismos que para una validación, especificando que el método de ensayo está únicamente siendo verificado, así como las variables que serán analizadas.

Asimismo, en el inciso 5.4.5.2 de la Norma Coguanor NGR/ISO/IEC 17025 menciona que el laboratorio debe validar los métodos no normalizados, los métodos que diseña o desarrolla, los métodos normalizados empleados fuera del alcance previsto, así como las ampliaciones y modificaciones de los métodos normalizados para confirmar que los métodos son aptos para el uso previsto. La validación debe ser tan amplia como sea necesario para satisfacer las necesidades de la aplicación o del campo de aplicación dado. El laboratorio debe registrar los resultados obtenidos, el procedimiento utilizado para la validación y una declaración que si el método es apto para el uso previsto.³¹

²⁹ COGUANOR. NTG/ISO/IEC 17025. Guatemala. 2001. p. 21.

³⁰ EURACHEM. Op. Cit. p. 7.

³¹ COGUANOR. Op. Cit. p. 21.

2.10. Parámetros de verificación

Para realizar la verificación se requiere de ciertas características que necesitan ser evaluadas y que corresponden a los siguientes parámetros según la guía de validación Eurachem.

- Especificidad: la capacidad de un método para determinar exacta y específicamente el analito de interés en presencia de otros componentes en una matriz de muestra bajo las condiciones de prueba establecidas.
- Exactitud: es la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado.
- Precisión: es la proximidad de concordancia entre los resultados de pruebas independientes obtenidos bajo condiciones estipuladas.
- Reproducibilidad: precisión bajo condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores, usando diferentes equipos.
- Repetibilidad: precisión en condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones según las cuales los resultados independientes de una prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en el mismo laboratorio, por el mismo operador, usando el mismo equipo y dentro de intervalos de tiempo cortos.

- Veracidad: es la proximidad de concordancia entre el valor promedio obtenido de una serie grande de resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.
- Sesgo: es la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado.
- Linealidad: define la habilidad del método para obtener resultados de la prueba proporcionales a la concentración del analito.
- Robustez: en un procedimiento analítico es una medida de su capacidad de permanecer inalterado por variaciones pequeñas pero deliberadas en los parámetros del método y proporciona una indicación de su confiabilidad durante su uso normal.
- Incertidumbre: parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse razonablemente al mensurado.

- Incertidumbre tipo A

Evaluación de un componente por un análisis estadístico de los valores de mediciones obtenidos en condiciones de medición definidas. Por ejemplo, realizar varias mediciones en condiciones de repetibilidad.

- Incertidumbre tipo B

Evaluación de un componente incertidumbre de la medición realizada por otros medios distintos a los del tipo A. Por ejemplo, la evaluación basada en la

información, obtenidos a partir de un certificado de calibración, derivados a partir de los límites deducirse a través de personal, la experiencia, entre otros. La incertidumbre está dada por los errores sistemáticos y aleatorios presentes en el ensayo analítico.

La determinación de incertidumbre corresponde a la determinación de las fuentes, expresar los componentes en una incertidumbre estándar, combinar las diferentes incertidumbres y determinar la incertidumbre expandida, es decir, multiplicar la incertidumbre combinada por un factor de cobertura de $k=2$, a fin de entregar un 95 % de confianza, y así establecer el intervalo entorno al resultado de la medición, el resultado se representa como $a \pm 2U$.

2.10.1. Uso de los datos de verificación para diseñar el control de calidad

El aseguramiento de calidad se refiere a todas las medidas tomadas por el laboratorio para asegurar y regular la calidad, mientras que “el control de calidad describe las medidas individuales que se relacionan con el seguimiento y control de operaciones analíticas particulares”.³²

La validación de un método da una idea de las capacidades de desempeño y de las limitaciones del método que pueden ser experimentadas durante el uso rutinario, mientras el método esté bajo control. “En el uso cotidiano, es necesario aplicar controles específicos al método para verificar que continúa bajo control, es decir, que se está desempeñando de acuerdo con lo esperado”.³³

³² EURACHEM. *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. p. 34.

³³ *Ibíd.* p. 35.

El control de calidad interno incluye la utilización de blancos, calibrantes químicos, muestras adicionadas, muestras ciegas, réplicas de análisis y muestras de control de calidad. Se recomienda el uso de cartas de control particularmente para llevar un seguimiento de los resultados de las muestras de control de calidad.

Los tipos de control de calidad adoptados deben estar suficientemente demostrados para asegurar la validez de los resultados. Las muestras de control de calidad son muestras típicas las cuales son suficientemente estables y homogéneas, en un período de tiempo dado, para dar el mismo resultado (sujetas a variaciones aleatorias en el desempeño del método analítico) y están disponibles en cantidades suficientes para poder realizar análisis repetidos.

Para un laboratorio, el control de calidad externo es una manera reconocida de llevar un seguimiento de su desempeño en contra de sus propios requisitos, así como de los de laboratorios pares, es mediante la participación periódica en esquemas de pruebas de desempeño.³⁴

2.10.2. Declaración de incertidumbre

Los laboratorios deben estimar las incertidumbres de medición para todas las calibraciones y las mediciones incluidas en el alcance de acreditación y deben conocer la incertidumbre asociada a una medición, ya sea incluida, o no, en el informe o certificado enviando a la Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA).³⁵

³⁴ EURACHEM. *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. p. 36.

³⁵ OGA-GEC-015. *Política de la incertidumbre de medición para laboratorios de ensayo y de calibración y laboratorios de análisis clínicos*. p. 3.

2.11. Material de referencia certificado

Uno de los elementos para asegurar la calidad de los resultados de ensayo y de calibración según la norma ISO/IEC 17025 es el uso regular de materiales de referencia certificados.

Son muestras altamente homogéneas y estables para unas propiedades específicas que se acompañan de un certificado que declara los valores. Además, tienen una incertidumbre asociada y se relacionan con patrones de medida. Un laboratorio puede someter a ensayo periódicamente a estos ítems para comprobar la exactitud de los resultados que está obteniendo.

Tabla I. **Porcentaje de nitrógeno total para los materiales de referencia, certificados para esta investigación**

Matriz	Material de referencia	% N total	Límite superior (95 %)	Límite inferior (95 %)
Foliales	Wepal Palma 188	2,57	2,58	2,55
	Wepal Banano 103	2,51	2,56	2,46
Suelos	ASS 1809-2	1,19	1,72	0,70
	ASS 1809-4	0,14	0,15	0,11

Fuente: WEPAL. *Certificados Wepal SOILCHEK. Soil Chek Series Summary.*
<http://www.wepal.nl/website/products/RefMatIPE.htm>
Consulta: 15 de febrero 2020.

2.12. Análisis estadístico

Es el procedimiento para realizar diversas operaciones estadísticas, recopilación de datos, interpretación de datos y validación de datos. Para el análisis estadístico se evaluaron los siguientes aspectos:

- Promedio
- Varianza
- Desviación estándar
- Análisis de varianza

3. DISEÑO METODOLÓGICO

3.1. Variables independientes

- Porcentaje de nitrógeno total
- Muestra (gramos)

3.2. Delimitación de campo de estudio

El campo de estudio se limita en el equipo Dumatherm que se encuentra dentro del laboratorio de suelos, plantas y aguas. Dicho estudio favorece al laboratorio y le brinda confiabilidad a los caficultores de Guatemala.

3.3. Recursos humanos disponibles

- Investigador

Virginia Pinto es la responsable de llevar a cabo la investigación, validación y verificación del método Dumas, tomando los datos correspondientes, realizando modificaciones si fuera necesario y efectuando el análisis respectivo para dicha validación.

- Especialista área de suelos y plantas

Encargado de orientar durante la investigación y verificar si se está realizando el método adecuadamente.

- Asesor

Ingeniero Químico José Carlos Leppe, encargado de asesorar y brindar los conocimientos para la mejora en los procedimientos y metodología de la investigación.

3.4. Recursos materiales disponibles (equipo, cristalería, reactivos)

A continuación, se describe el equipo, cristalería y los reactivos utilizados en la investigación.

3.4.1. Equipo

Equipo Dumatherm del Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas

- DumaReact – reactor de combustión
- DumaTube – tubo de cuarzo para reactor
- DumaCollect – contenedor de cenizas
- Trampas de adsorción para agua
- Absorbente para trampa de absorción de agua
- Adsorbente para CO₂

3.4.2. Materiales/reactivos

- Muestras de suelo, foliares y abonos
- Cobre para reducción
- Estaño
- EDTA
- Almohadillas de cuarzo

3.5. Técnica cuantitativa

La metodología de investigación cuantitativa se basa en el uso de técnicas estadísticas para conocer ciertos aspectos, en este caso de las muestras analizadas. Se necesitan resultados numéricos para interpretarlos y poder realizar la validación y verificación del método.

Medición de nitrógeno total en suelos y plantas por medio del analizador de nitrógeno por método Dumas.

El método Dumas consiste en que la muestra se combustiona a una temperatura alta en presencia de oxígeno. Por medio de tubos de oxidación y reducción, el nitrógeno se convierte cuantitativamente en N_2 . El resto de los productos de la combustión se aíslan. El detector de conductividad térmica mide el gas nitrógeno. Los resultados se obtienen en forma de porcentaje o miligramos de nitrógeno.

Descripción del método Dumas en el equipo, según el manual Dumatherm:

- La muestra se pesa y envuelve en estaño para evitar la contaminación con el nitrógeno del aire y eliminar error en los resultados. La muestra pasa por el auto muestreador con ayuda de He/Ar.
- La muestra cae por gravedad al inserto de ceniza. Los productos de combustión gaseosos pasan a la columna de combustión y reaccionan completamente a los óxidos deseados con ayuda de catalizadores. El óxido de nitrógeno resultante se reduce en la columna de reducción y pasa a su estado de nitrógeno elemental.
- El producto generado de agua queda atrapado en la trampa de absorción de agua.
- El producto generado de CO₂ queda atrapado en la trampa de absorción autoregenerante.
- El nitrógeno elemental junto con el gas acarreador He/Ar pasa por el detector de conductividad térmica (TCD) y luego se obtienen los datos mediante el *software manager*.

3.5.1. Selección del método

Se obtuvieron los registros del método utilizado anteriormente (Método de Kjeldahl) y se compararon los resultados obtenidos con los resultados del método Dumas.

3.5.2. Realización de las pruebas con el Dumatherm

Se pesó la muestra y se envolvió en estaño para evitar la contaminación con el nitrógeno del aire y eliminar error en los resultados. La muestra pasó por el auto muestreador con ayuda de He/Ar.

La muestra cayó al inserto de ceniza. Los productos de la combustión gaseosa pasaron a otra columna que contienen los catalizadores, reaccionando con los óxidos deseados. El óxido de nitrógeno resultante se redujo en la columna de reducción y pasa a su estado de nitrógeno elemental.

El nitrógeno elemental junto con el gas acarreador He/Ar pasaron por el detector de conductividad térmica y luego se obtuvo los datos mediante el *software manager*.

Se analizaron 10 muestras de cada matriz, realizando dos lecturas diferentes para cada una. Se eligió un método específico en el equipo Dumatherm para determinar el porcentaje de nitrógeno total ya que cada matriz requiere de una cantidad diferente de oxígeno para la combustión.

Los métodos utilizados fueron los siguientes:

- En foliares se utilizó el método B 0,8 el cual contiene un factor de oxígeno 0,8 ml/mg y un flujo de 300 ml/mg de oxígeno.
- Para el análisis de abono se utilizó el método B 0,5 el cual contiene un factor de oxígeno de 0,5 ml/mg y un flujo de 300 ml/min de oxígeno.

- Para el análisis de suelo se creó el método %N-suelos el cual contiene un factor de 0,7 ml/mg de oxígeno y un flujo de 300 ml/min de oxígeno.

3.5.3. Cálculos de parámetros de desempeño

Se procedieron a realizar los cálculos correspondientes para los parámetros de desempeño y el análisis estadístico.

3.5.4. Verificación y declaración de incertidumbre

Los datos obtenidos con el análisis estadístico fueron utilizados para elaborar el informe de verificación.

La información recolectada fue tabulada en hojas de cálculo para el análisis estadístico.

3.6. Recolección y ordenamiento de la información

A continuación, se presentan las tablas con los datos obtenidos del método Dumas utilizando el equipo Dumatherm, las cuales muestran el trabajo realizado durante la investigación. Para cada matriz se utilizaron 10 muestras, cada muestra de 50 mg.

Tabla II. **Datos obtenidos aplicando el método Dumas con el equipo Dumatherm en foliares**

Matriz	No.	Fecha de análisis	Peso de muestra (mg)	Nitrógeno total (%)	Método de Dumatherm	Área Nitrógeno (mV*s)
EDTA	1	24/01/2020	50,100	9,607	B 0,8	18 721,7
	2	24/01/2020	50,200	9,420	B 0,8	18 393,4
	3	24/01/2020	50,500	9,633	B 0,8	18 922,5
	4	24/01/2020	50,100	9,600	B 0,8	18 708,7
	5	24/01/2020	49,800	9,604	B 0,8	18 603,5
	6	24/01/2020	50,500	9,665	B 0,8	18 985,8
	7	24/01/2020	50,300	9,636	B 0,8	18 853,5
	8	24/01/2020	50,500	9,596	B 0,8	18 849,5
	9	24/01/2020	50,100	9,626	B 0,8	18 757,8
	10	24/01/2020	50,400	9,587	B 0,8	18 794,5
Wepal Palma	11	24/01/2020	50,100	2,609	B 0,8	5 071,5
	12	24/01/2020	50,300	2,538	B 0,8	4 954,2
	13	24/01/2020	50,500	2,469	B 0,8	4 836,8
	14	24/01/2020	50,500	2,421	B 0,8	4 743,0
	15	24/01/2020	50,200	2,384	B 0,8	4 641,9
	16	24/01/2020	50,400	2,361	B 0,8	4 615,7
	17	24/01/2020	50,400	2,347	B 0,8	4 588,0
	18	24/01/2020	50,000	2,366	B 0,8	4 588,6
	19	24/01/2020	49,000	2,448	B 0,8	4 652,8
	20	24/01/2020	50,300	2,372	B 0,8	4 627,8
	22	24/01/2020	50,000	2,498	B 0,8	4 846,9
	23	24/01/2020	50,000	2,544	B 0,8	4 935,2

Continuación tabla II.

Matriz	No.	Fecha de análisis	Peso de muestra (mg)	Nitrógeno total (%)	Método de Dumatherm	Área Nitrógeno (mV*s)
	24	24/01/2020	49,600	2,489	B 0,8	4 790,0
	25	24/01/2020	49,900	2,472	B 0,8	4 786,3
	26	24/01/2020	50,000	2,501	B 0,8	4 851,2
	27	24/01/2020	50,100	2,453	B 0,8	4 768,6
	28	24/01/2020	49,900	2,464	B 0,8	4 769,6
	29	24/01/2020	50,000	2,419	B 0,8	4 692,9
	30	24/01/2020	50,400	2,438	B 0,8	4 767,1
EDTA	31	28/01/2020	50,500	9,549	B 0,8	18 756,7
	32	28/01/2020	49,800	9,601	B 0,8	18 597,7
	33	28/01/2020	50,500	9,595	B 0,8	18 847,4
	34	28/01/2020	50,100	9,622	B 0,8	18 750,9
	35	28/01/2020	50,200	9,540	B 0,8	18 628,5
	36	28/01/2020	50,000	9,616	B 0,8	18 514,3
	37	28/01/2020	49,900	9,587	B 0,8	18 608,3
	38	28/01/2020	50,300	9,649	B 0,8	18 879,0
	39	28/01/2020	50,200	9,640	B 0,8	18 823,7
	40	28/01/2020	50,500	9,713	B 0,8	19 079,8
Wepal Palma	41	28/01/2020	49,600	2,408	B 0,8	4 634,0
	42	28/01/2020	50,000	2,397	B 0,8	4 648,9
	43	28/01/2020	49,500	2,380	B 0,8	4 570,6
	44	28/01/2020	49,800	2,366	B 0,8	4 570,0
	45	28/01/2020	50,000	2,358	B 0,8	4 572,5
	46	28/01/2020	49,600	2,418	B 0,8	4 653,3

Continuación tabla II.

	47	28/01/2020	50,500	2,334	B 0,8	4 571,6
	48	28/01/2020	49,700	2,331	B 0,8	4 493,0
	49	28/01/2020	50,200	2,339	B 0,8	4 555,3
	50	28/01/2020	50,100	2,375	B 0,8	4 616,1
Wepal Banano	51	28/01/2020	50,200	2,517	B 0,8	4 903,4
	52	28/01/2020	50,100	2,522	B 0,8	4 901,6
	53	28/01/2020	50,000	2,473	B 0,8	4 797,5
	54	28/01/2020	50,000	2,536	B 0,8	4 920,7
	55	28/01/2020	50,300	2,475	B 0,8	4 829,6
	56	28/01/2020	50,000	2,462	B 0,8	4 776,8
	57	28/01/2020	50,500	2,466	B 0,8	4 832,7
	58	28/01/2020	50,400	2,470	B 0,8	4 828,9
	59	28/01/2020	50,500	2,451	B 0,8	4 802,7
	60	28/01/2020	50,200	2,473	B 0,8	4 815,6

Fuente: elaboración propia.

Tabla III. **Datos obtenidos aplicando el método Dumas con el equipo Dumatherm en abonos**

Matriz	No.	Fecha de análisis	Peso de muestra (mg)	Nitrógeno total (%)	Método de Dumatherm	Área Nitrógeno (mV*s)
Abono 1998	1	29/01/2020	49,500	2,992	B 0,5	5 748,3
	2	29/01/2020	50,100	3,019	B 0,5	5 871,7

Continuación tabla III.

	3	29/01/2020	49,800	3,032	B 0,5	5 860,9
	4	29/01/2020	50,200	2,991	B 0,5	5 828,5
	5	29/01/2020	49,800	2,952	B 0,5	5 706,6
	6	29/01/2020	50,300	2,968	B 0,5	5 794,7
	7	29/01/2020	50,200	2,947	B 0,5	5 742,4
	8	29/01/2020	50,000	2,959	B 0,5	5 742,5
	9	29/01/2020	50,200	2,939	B 0,5	5 727,9
	10	29/01/2020	50,000	2,948	B 0,5	5 721,4
Abono 1999	11	29/01/2020	50,000	2,896	B 0,5	5 620,6
	12	29/01/2020	50,000	2,871	B 0,5	5 571,9
	13	29/01/2020	50,500	2,826	B 0,5	5 538,7
	14	29/01/2020	50,100	2,823	B 0,5	5 488,8
	15	29/01/2020	49,800	2,762	B 0,5	5 337,6
	16	29/01/2020	49,900	2,825	B 0,5	5 471,0
	17	29/01/2020	50,000	2,768	B 0,5	5 370,9
	18	29/01/2020	50,500	2,858	B 0,5	5 602,4
	19	29/01/2020	49,700	2,844	B 0,5	5 485,5
	20	29/01/2020	50,100	2,858	B 0,5	5 558,3
Abono 1998	21	31/01/2020	49,800	2,960	B 0,5	5 722,1
	22	31/01/2020	49,800	3,001	B 0,5	5 802,3
	23	31/01/2020	50,500	3,002	B 0,5	5 884,6
	24	31/01/2020	50,400	2,985	B 0,5	5 839,8
	25	31/01/2020	49,600	2,993	B 0,5	5 763,0
	26	31/01/2020	49,900	3,024	B 0,5	5 858,6
	27	31/01/2020	50,300	2,904	B 0,5	5 669,2

Continuación tabla III.

	28	31/01/2020	50,300	2,982	B 0,5	5 822,3
	29	31/01/2020	50,000	2,939	B 0,5	5 704,9
	30	31/01/2020	50,100	2,947	B 0,5	5 730.5
Abono 1999	31	31/01/2020	50,000	2,888	B 0,5	5 605.2
	32	31/01/2020	50,200	2,825	B 0,5	5 504.3
	33	31/01/2020	50,300	2,867	B 0,5	5 597.8
	34	31/01/2020	50,300	2,831	B 0,5	5 526.8
	35	31/01/2020	50,500	2,821	B 0,5	5 529.5
	36	31/01/2020	50,200	2,753	B 0,5	5 364.4
	37	31/01/2020	49,700	2,819	B 0,5	5 438.4
	38	31/01/2020	50,000	2,787	B 0,5	5 408.6
	39	31/01/2020	50,000	2,762	B 0,5	5 360.3
	40	31/01/2020	50,500	2,882	B 0,5	5 650,3

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Datos obtenidos aplicando el método Dumas con el equipo Dumatherm en suelos**

Matriz	No.	Fecha de análisis	Peso de muestra (mg)	Nitrógeno total (%)	Método de Dumatherm	Área Nitrógeno (mV*s)
Suelo ASS 1809-2	1	26/02/2020	50,500	1,117	%N-suelos	2 362,5
	2	26/02/2020	49,900	1,153	%N-suelos	1 536,2

Continuación de la tabla IV.

	3	26/02/2020	50,000	1,181	%N-suelos	1 235,1
	4	26/02/2020	50,500	1,136	%N-suelos	1 163,8
	5	26/02/2020	49,700	1,138	%N-suelos	1 307,8
	6	26/02/2020	50,000	1,119	%N-suelos	1 195,8
	7	26/02/2020	49,500	1,112	%N-suelos	1 259,7
	8	26/02/2020	50,100	1,109	%N-suelos	1 268,4
	9	26/02/2020	50,200	1,121	%N-suelos	1 213,3
	10	26/02/2020	50,100	1,112	%N-suelos	1 257,7
Suelo ASS 1809-4	11	26/02/2020	50,500	0,144	%N-suelos	306,7
	12	26/02/2020	49,900	0,143	%N-suelos	296,9
	13	26/02/2020	49,800	0,131	%N-suelos	275,3
	14	26/02/2020	50,500	0,141	%N-suelos	297,9
	15	26/02/2020	49,900	0,149	%N-suelos	286,7
	16	26/02/2020	50,400	0,147	%N-suelos	287,8
	17	26/02/2020	49,700	0,138	%N-suelos	263,0
	18	26/02/2020	50,000	0,141	%N-suelos	282,5
	19	26/02/2020	50,400	0,135	%N-suelos	305,9
	20	26/02/2020	50,400	0,138	%N-suelos	268,2
Suelo ASS 1809-2	21	27/02/2020	50,200	1,103	%N-suelos	1 227,3
	22	27/02/2020	50,000	1,111	%N-suelos	1 216,0
	23	27/02/2020	50,300	1,118	%N-suelos	1 146,8

Continuación de la tabla IV.

	24	27/02/2020	50,000	1,113	%N-suelos	1 253,6
	25	27/02/2020	50,500	1,121	%N-suelos	1 290,3
	26	27/02/2020	50,100	1,183	%N-suelos	1 234,4
	27	27/02/2020	50,000	1,121	%N-suelos	1 166,2
	28	27/02/2020	49,900	1,121	%N-suelos	1 241,2
	29	27/02/2020	49,800	1,178	%N-suelos	1 165,0
	30	27/02/2020	49,800	1,119	%N-suelos	1 221,8
Suelo ASS 1809-4	31	27/02/2020	49,900	0,131	%N-suelos	278,7
	32	27/02/2020	50,000	0,138	%N-suelos	290,9
	33	27/02/2020	50,300	0,142	%N-suelos	275,7
	34	27/02/2020	49,500	0,140	%N-suelos	274,6
	35	27/02/2020	49,900	0,147	%N-suelos	274,6
	36	27/02/2020	49,500	0,140	%N-suelos	275,9
	37	27/02/2020	50,500	0,143	%N-suelos	266,8
	38	27/02/2020	50,500	0,138	%N-suelos	281,7
	39	27/02/2020	49,900	0,136	%N-suelos	276,7
	40	27/02/2020	50,500	0,146	%N-suelos	291,0

Fuente: elaboración propia.

3.7. Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos obtenidos se realizó con el cálculo del promedio de los resultados y la varianza. Se evaluó lo siguiente:

3.7.1. Desviación estándar

Para la determinación de precisión, repetibilidad y precisión intermedia.

3.7.2. Regresión lineal

Se analizó la relación entre las variables de peso de la muestra en mg con el área de nitrógeno integrado en mV*s para el peso de muestra.

3.7.3. Análisis de varianza (Anova)

Para evaluar la precisión de los resultados y determinar si existe diferencia entre las concentraciones certificadas y un material de referencia con las concentraciones determinadas en el laboratorio.

3.7.4. Diseño experimental

Tratamientos: 5

Repeticiones: 10

3.8. Plan de análisis de los resultados

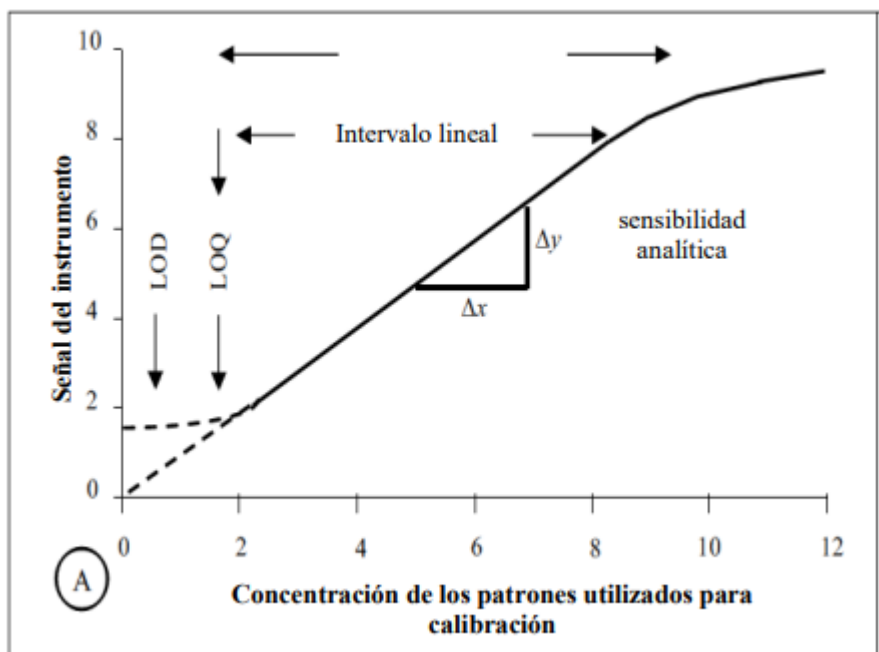
A continuación, se describe el plan de análisis de los resultados para el presente informe.

3.8.1. Métodos y modelos de los datos según tipo de variables

3.9.1.1. Cálculo de desviación estándar

Se realizó el cálculo de desviación estándar de los resultados para estimar la precisión, repetibilidad, precisión intermedia y veracidad.

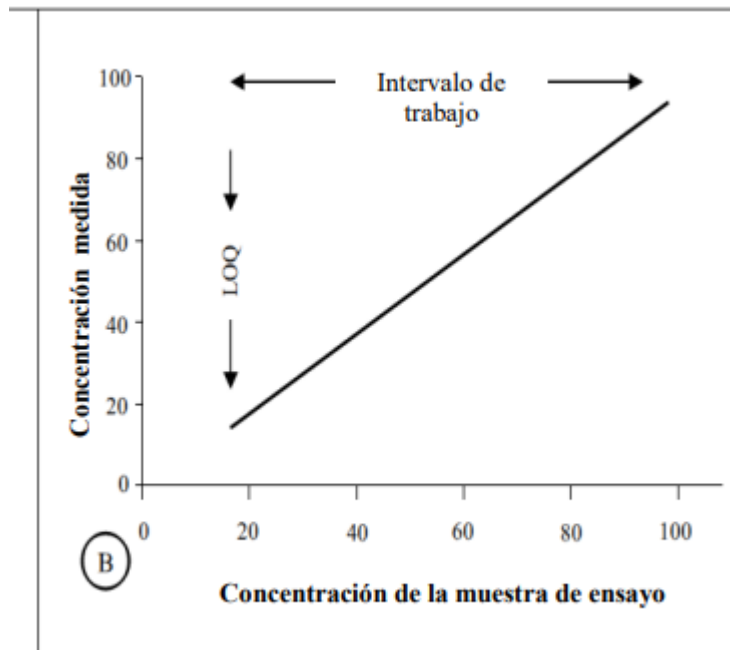
Figura 1. Intervalo de trabajo, intervalo lineal, sensibilidad analítica, límite de detección y cuantificación



Fuente: EURACHEM. *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*.

Consulta: marzo 2020.

Figura 2. **Intervalo de trabajo y límite de cuantificación para concentración medida en función de la concentración de muestra de ensayo**



Fuente: EURACHEM. *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*.
Consulta: marzo 2020.

3.9.1.2. **Análisis de Varianza**

Se realizó Anova el cual permitió comparar más de dos medidas entre sí, se compararon las diferencias entre cada grupo y las observaciones realizadas para evaluar la precisión y veracidad de los resultados.

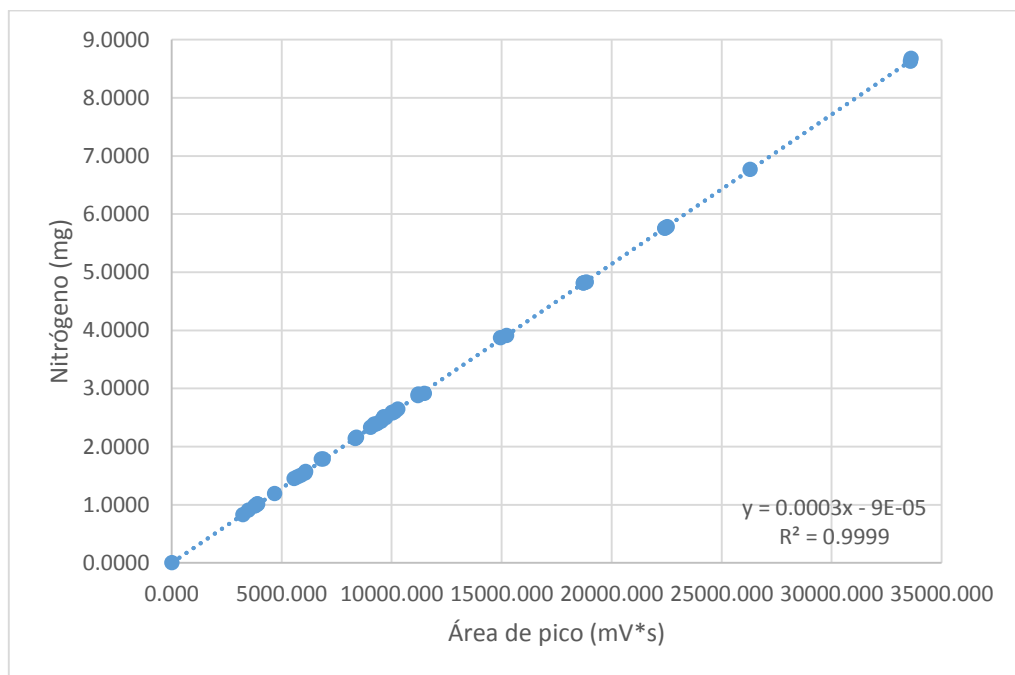
3.9.1.3. **Programas para utilizar análisis de datos**

Para el análisis de datos será utilizado el programa Microsoft Excel, módulo de análisis de datos.

4. RESULTADOS

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos de la investigación realizada, se demuestran los parámetros de verificación para el método por medio del análisis de varianza.

Figura 3. **Curva de calibración del equipo Dumatherm**



Fuente: elaboración propia.

4.2. Datos para la verificación del método Dumas por el equipo Dumatherm

A continuación, se presentan los resultados obtenidos para la verificación del método Dumas.

4.2.1. Precisión

- Repetibilidad

Expresada en términos de desviación estándar y porcentaje de coeficiente de variación.

Tabla V. Resultados de repetibilidad

Matriz		σ	% C.V.
Foliares	EDTA	0,0594	0,62
	Wepal palma	0,0647	2,70
	Wepal banano	0,0358	1,44
Abono	1998	0,0341	1,15
	1999	0,0447	1,58
Suelos	ASS 1809-2	0,0254	2,26
	ASS 1809-4	0,0051	3,64

Fuente: elaboración propia.

- Precisión intermedia

Expresada como porcentaje de coeficiente de variación.

Tabla VI. **Resultados de precisión intermedia**

Matriz		Σ	% C.V.
Foliares	EDTA	0,0579	0,60
	Wepal palma	0,0749	3,12
	Wepal banano	0,0339	1,37
Abono	1998	0,0323	1,09
	1999	0,0429	1,52
Suelos	ASS 1809-2	0,0242	2,26
	ASS 1809-4	0,0048	3,46

Fuente: elaboración propia.

4.2.2. Veracidad

- Sesgo y exactitud

Expresada en porcentajes de recuperación.

Tabla VII. **Resultados de sesgo y exactitud**

Matriz		Media	% Exactitud	% Sesgo
Foliares	EDTA	9,606	100,2	0,2
	Wepal palma	2,401	93,4	6,6
	Wepal banano	2,483	98,9	1,1
Suelos	ASS 1809-2	0,631	94,9	5,1
	ASS 1809-4	0,150	104,0	4,0

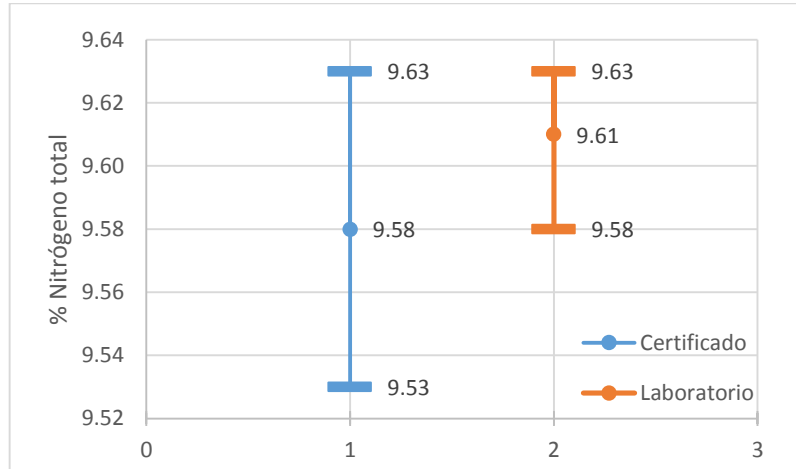
Fuente: elaboración propia.

Tabla VIII. **Cálculos de exactitud para EDTA (foliares)**

	Certificado (1)	Medida del laboratorio (2)
Promedio	9,58	9,61
Límite superior (95 %)	9,63	9,63
Límite inferior (95 %)	9,53	9,58

Fuente: elaboración propia.

Figura 4. Sesgo para EDTA en foliares



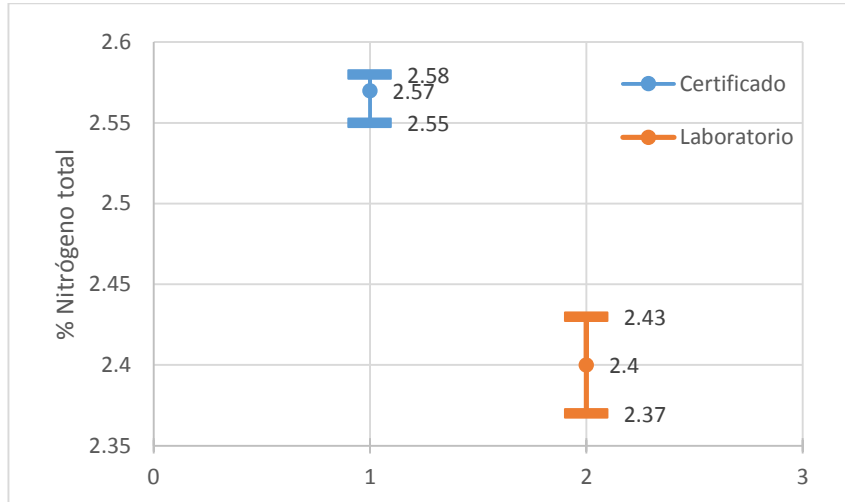
Fuente: elaboración propia.

Tabla IX. Cálculos de exactitud para Wepal palma (foliares)

	Certificado (1)	Medida del laboratorio (2)
Promedio	2,57	2,40
Límite superior (95 %)	2,58	2,43
Límite inferior (95 %)	2,55	2,37

Fuente: elaboración propia.

Figura 5. **Sesgo para Wepal palma en foliares**



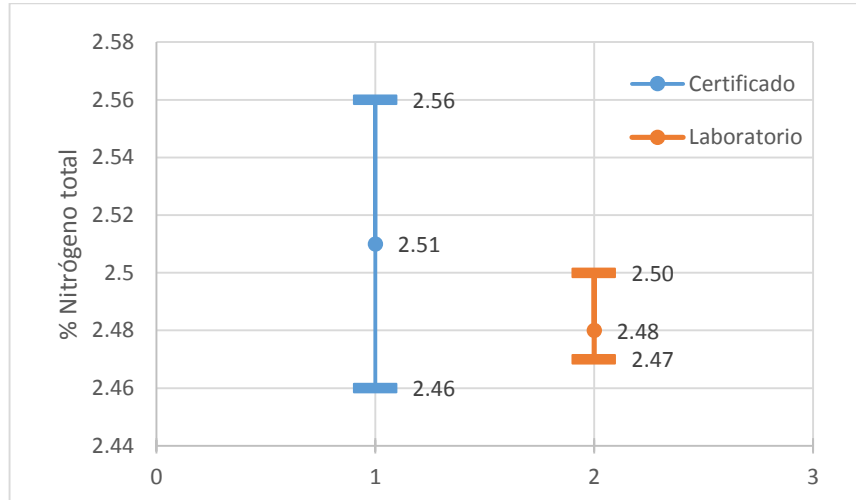
Fuente: elaboración propia.

Tabla X. **Cálculos de exactitud para Wepal banano (foliares)**

	Certificado (1)	Medida del laboratorio (2)
Promedio	2,51	2,48
Límite superior (95 %)	2,56	2,50
Límite inferior (95 %)	2,46	2,47

Fuente: elaboración propia.

Figura 6. Sesgo para Wepal banano en foliares



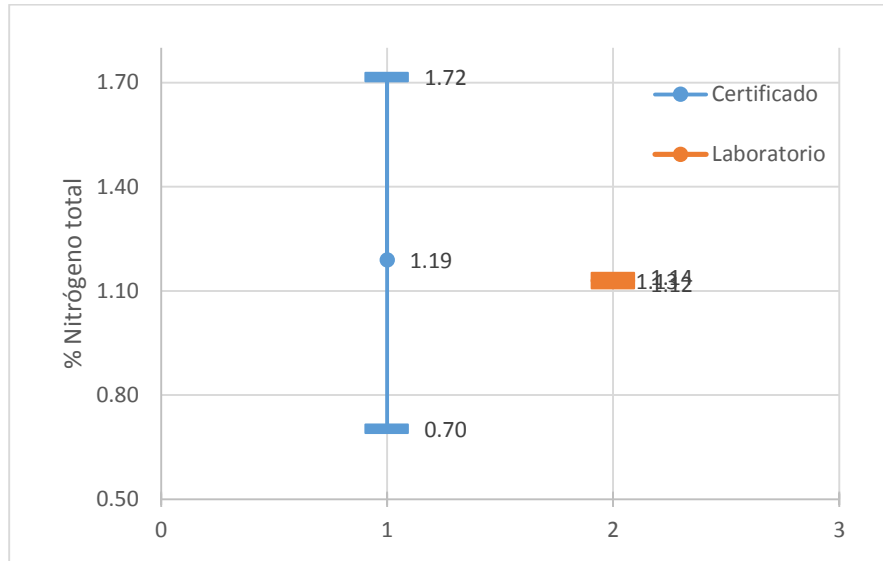
Fuente: elaboración propia.

Tabla XI. Cálculos de exactitud para ASS 1809-2 (suelo)

	Certificado (1)	Medida del laboratorio (2)
Promedio	1,19	1,13
Límite superior (95 %)	1,72	1,14
Límite inferior (95 %)	0,70	1,12

Fuente: elaboración propia.

Figura 7. **Sesgo para suelo ASS 1809-2**



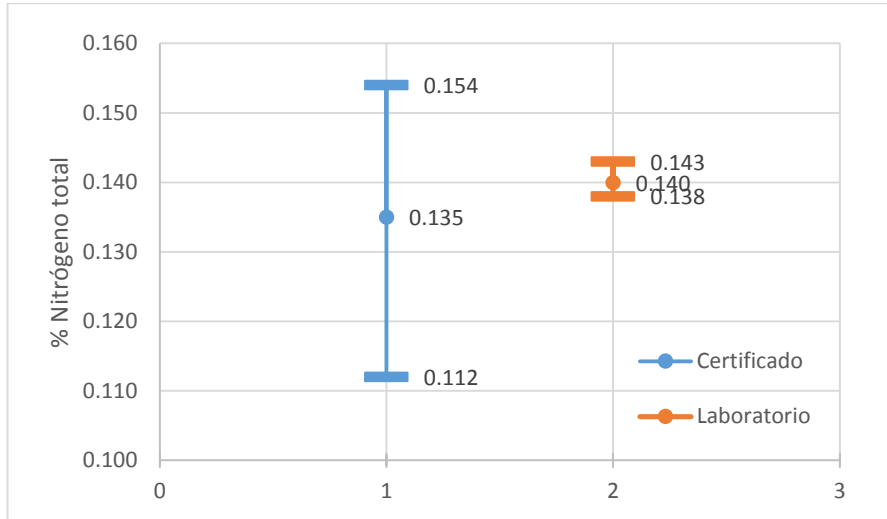
Fuente: elaboración propia.

Tabla XII. **Cálculos de exactitud para ASS 1809-4 (suelo)**

	Certificado (1)	Medida del laboratorio (2)
Promedio	0,135	0,140
Límite superior (95 %)	0,154	0,143
Límite inferior (95 %)	0,112	0,138

Fuente: elaboración propia.

Figura 8. Sesgo para suelo ASS 1809-4



Fuente: elaboración propia.

4.2.3. Incertidumbre

A continuación, se presentan los resultados de incertidumbre.

Tabla XIII. Incertidumbre para cada matriz analizada

Matriz		Incertidumbre U % Total de Nitrógeno	Resultado de la muestra % Total de Nitrógeno	Intervalo % Total de Nitrógeno
Foliales	EDTA	0,026	9,607 ± 0,026	9,581 - 9,633
	Wepal palma	0,032	2,401 ± 0,032	2,369 - 2,433
	Wepal banano	0,016	2,483 ± 0,016	2,467 - 2,499
Abonos	1998	0,015	2,974 ± 0,015	2,959 - 2,989

Continuación tabla XIII.

	1999	0,020	$2,828 \pm 0,020$	2,808 - 2,848
Suelos	ASS 1809-2	0,011	$1,129 \pm 0,011$	1,118 - 1,140
	ASS 1809-4	0,003	$0,140 \pm 0,003$	0,137 - 0,143

Fuente: elaboración propia.

5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

La elaboración de esta investigación se realizó con el objetivo de verificar el método Dumas para la determinación de nitrógeno total y demostrar que es un método el cual se obtienen resultados confiables para su uso en el laboratorio.

El primer parámetro analizado es la precisión. En las tablas V y VI se muestra el dato calculado de la repetibilidad y de la precisión intermedia respectivamente, expresado como porcentaje de coeficiente de variación y la desviación estándar para cada matriz analizada. Se observa que los porcentajes de coeficiente de variación no superan el 10 %, establecido como criterio de aceptación, por lo que dichos resultados se consideran válidos y confiables, determinando que los resultados emitidos reflejan el grado de seguridad deseado para la verificación.

El siguiente parámetro analizado fue la veracidad, siendo éste el porcentaje de recuperación el cual debe estar entre 90 % y 110 % por lo tanto, el sesgo no debe ser mayor a 10 %.³⁶ La tabla VII se observa que los resultados obtenidos están entre el criterio de aceptación para el porcentaje de recuperación en muestras de foliares y suelos, esto distingue el rendimiento del método analítico. Además, se puede ver que el sesgo no es mayor al 10 %, por lo tanto, se considera que el método tiene la veracidad esperada.

³⁶ OGA. *Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA) Para la selección y validación de métodos de ensayo.* <https://www.oga.org.gt/descargas/>.

A continuación, se puede observar en las tablas VIII, IX, X, XI y XII una comparación con el material de referencia y las medidas obtenidas en el laboratorio. A partir de dichas tablas se representa el sesgo para cada muestra analizada en las figuras 6, 7, 8, 9 y 10, demostrando que las medidas obtenidas en el laboratorio se encuentran dentro del rango del material certificado. Se estima que el sesgo reportado se encuentra dentro de un rango aceptable.

En la tabla XIII se demuestra la credibilidad de los resultados de ensayo por medio del cálculo de la incertidumbre, incluyendo el valor de la cantidad medida y la incertidumbre expandida asociada U para cada matriz analizada. La incertidumbre expandida de la medición reportada está declarada como incertidumbre estándar de la medición, multiplicado por el factor de cobertura $k=2$ correspondiente a la probabilidad de cobertura de aproximadamente el 95 %.

Según los resultados obtenidos de la investigación, el método cumplió con el desempeño esperado para el uso previsto según los parámetros evaluados. Por tanto, se declaró válido.

CONCLUSIONES

1. Las concentraciones estimadas en el laboratorio se encuentran dentro del rango de aceptación de las concentraciones certificadas del material de referencia.
2. Los parámetros de desempeño del método: precisión, repetibilidad y precisión intermedia son aceptables, ya que se encuentran dentro del criterio de aceptación con un porcentaje de coeficiente de variación menor al 10 %. La veracidad representada con exactitud y sesgo se encuentra entre el criterio de aceptación, con valores entre 90 % y 100 % para la exactitud, y un sesgo menor al 10 %.

RECOMENDACIONES

1. Secar la muestra antes de pesarla e ingresarla en el equipo Dumatherm debido a que la humedad puede afectar el resultado del porcentaje de nitrógeno total.
2. Esperar a que el equipo Dumatherm estabilice a la temperatura de 1030 °C, checar que el inserto de ceniza no sobre pase el límite de muestras y que las perlas de la trampa absorbente de agua no se encuentren decoloradas, cambiarlas si es necesario. Realizar las pruebas de fugas antes de iniciar con la lectura de muestras.
3. Utilizar el método adecuado del equipo Dumatherm para cada muestra a analizar, la cantidad del factor de oxígeno y el flujo de oxígeno es indispensable para cada lectura al realizar la combustión.
4. Al analizar muestras de suelo tomar en cuenta que el nitrógeno es volátil en el suelo o se encuentran en cantidades muy pequeñas, por lo que el equipo Dumatherm cuantificará el porcentaje de nitrógeno total, sin embargo, el valor no puede ser el deseado.

BIBLIOGRAFÍA

1. ANACAFÉ. *Anacafé*. [en línea]. <<https://www.anacafe.org/Servicios/Analab>>. [Consulta: 25 de febrero de 2020].
2. ANACAFÉ. *Asociación Nacional del Café*. [en línea]. <https://www.anacafe.org/uploads/file/a750889e55144d9c8cf95df69096d67f/Ley_Reglamento_Decretos.pdf>. [Consulta: 10 de febrero de 2020].
3. ARAYA, Carlomagno. *Estadística para laboratorista químico*. 1a ed. Costa Rica: Universidad de Costa Rica. 2004. ISBN 9977-67-849-9. 218 p.
4. CAMPBELL, Neil A., MITCHELL, Lawrence G. *Biología, conceptos y relaciones*. 3a ed. México: Pearson. 2001. ISBN 0-8053-6585-0. 807 p.
5. CHANG, Raymond. *Química*. 7a ed. México: McGraw-Hill Interamericana. 2007. ISBN 0-07-365601-1. 1004 p.
6. COGUANOR. *NTG/ISO/IEC 17025*. Guatemala: 2001. 37 p.
7. DAUB, G. William, SEESE, William S. *Química*. 7a ed. México: Pearson. 2006. ISBN 968-880-790-7. 645 p.

8. DORANTES, Brenda Carolina. *Validación y comparación de dos métodos analíticos por espectrofotometría visible para determinar boro en suelos*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2016. 142 p.
9. EURACHEM. *Guía de laboratorio para la validación de métodos y temas relacionados*. 2a ed. México: 2005. CNM-MRD-PT-030. 53 p.
10. GERHARDT, DUMAS. *Manual Dumatherm*. 20 de marzo de 2009. 45 p.
11. JONES, Christine. *Nitrógeno, la espada de doble filo*. [en línea]. <<http://www.amazingcarbon.com/>>. [Consulta: 15 de marzo de 2020].
12. LABASTIDA, Jaime; RUIZ, Rosaura. *Enciclopedia de Conocimientos Fundamentales UNAM Siglo XXI*. 1a ed. Vol. 4. México: D.R. 2010. ISBN 978-607-02-1760-9. 715 p.
13. LÓPEZ, Antonio Jordán. *Manual de Edafología* [en línea]. <<https://docplayer.es/15622146-Manual-de-edafologia-por-antonio-jordan-lopez.html>>. [Consulta 20 marzo 2020].
14. MULLER, Jurgen. *Método Dumas o Kjeldahl para el análisis de referencia*. [en línea]. <<http://www.fossanalytics.com>>. [Consulta 21 de marzo 2020].
15. OGA. *Oficina Guatemalteca de Acreditación (OGA) Para la Selección y Validación de Métodos de Ensayo*. [en línea].

<https://www.oga.org.gt/wp-content/uploads/2018/07/OGA-GEC-016politica_selecci%C3%B3n_y_valid_metodos.pdf>.
[Consulta marzo 2020].

16. OGA-GEC-015. *Política de la incertidumbre de medición para laboratorios de ensayo y de calibración y laboratorios de análisis clínicos.* [en línea]. https://www.oga.org.gt/wp-content/uploads/2019/09/OGA-GEC-015politica_incertidumbre_medicion.pdf>. [Consulta marzo 2020].
17. PALMA, Laura María. *Diseño de la investigación para la evaluación de agua miel para riego en plantillas de café en el beneficio húmedo cooperativa nuevo sendero en la Aldea Chapas, Nueva Santa Rosa, Guatemala, C.A.* Trabajo de graduación de Ing. Química. Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2013. 125 p.
18. PELLEGRINI, Andrea Edith. *Nitrógeno del suelo.* [en línea]. <<https://scholar.google.com/scholar?cluster=4660790784258549879&hl=en&oi=scholar>>. [Consulta: 10 marzo 2020].
19. RAMIREZ CAMPOS, José Luis. *Validación y obtención de la incertidumbre para la determinación del porcentaje de proteína en harina de pescado, por el método Dumas (combustión).* Trabajo de graduación de Ing. Química. Universidad Nacional de Ingeniería Perú. 2010. 115 p.

20. ROMERO, Nalda. *Métodos de análisis para la determinación de nitrógeno y constituyentes nitrogenados en alimentos*. 1a ed. Chile: Inta. 2017. 385 p.
21. SELA, Guy. *El nitrógeno en las plantas*. [en línea]. <<https://cropaia.com/es/blog/nitrogeno-en-las-plantas/>>. [Consulta: 20 de marzo de 2020].
22. SULCA CARDENA, Edber Abel. *Validación y estimación de la incertidumbre en la determinación del contenido de nitrógeno total en harina de pescado empleando la técnica de combustión y detector de conductividad térmica*. Trabajo de graduación de Ing. Química. Universidad Nacional de Ingeniería de Perú. 2014. 95 p.

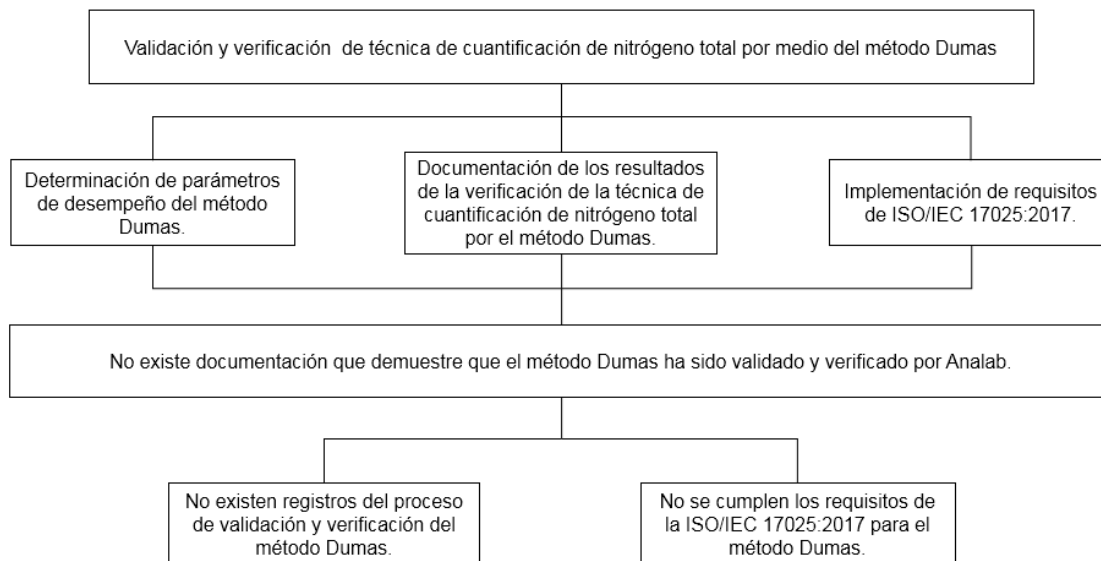
APÉNDICES

Apéndice 1. Requisitos académicos

Área	Cursos	Temas
Química	<ul style="list-style-type: none">• Química 3• Química 4• Análisis cuantitativo• Química ambiental	<ul style="list-style-type: none">• Manejo de equipo de laboratorio• Reacciones redox• Métodos analíticos• Datos estadísticos en el laboratorio• Ciclo del nitrógeno
Operaciones unitarias	<ul style="list-style-type: none">• Transferencia de masa (IQ-4)	<ul style="list-style-type: none">• Fundamentos de transferencia de masa
Complementaria	<ul style="list-style-type: none">• Estadística 1 y 2	<ul style="list-style-type: none">• Medidas de tendencia central• Ensayos de hipótesis• Modelo de regresión lineal

Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. Diagrama de problemas



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 3. Análisis de varianza para cada matriz

1. Foliares (EDTA)

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,00172	1	0,0017298	0,4894	0,493113	4,413873
Dentro de los grupos	0,06361	18	0,0035341			
Total	0,06534	19				

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

2. Foliares (Wepal banano)

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	2,88E-05	1	2,88E-05	0,022488	0,882461	4,413873
Dentro de los grupos	0,02305	18	0,001280			
Total	0,023080	19				

Fuente: elaboración propia.

3. Foliares (Wepal palma)

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,018544	1	0,018544	4,428670	0,04965636	4,41387342
Dentro de los grupos	0,0753709	18	0,00418727			
Total	0,09391495	19				

Fuente: elaboración propia.

Continuación apéndice 3.

4. Suelos (ASS 1809-2)

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	5E-06	1	5E-06	0,00770865	0,93100592	4,41387342
Dentro de los grupos	0,0116752	18	0,00064862			
Total	0,0116802	19				

Fuente: elaboración propia.

5. Suelos (ASS 1809-4)

ANÁLISIS DE VARIANZA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,8E-06	1	1,8E-06	0,06908316	0,79566124	4,41387342
Dentro de los grupos	0,000469	18	2,6056E-05			
Total	0,0004708	19				

Fuente: elaboración propia.

ÁNEXO

Anexo 1. Cálculos para el análisis estadístico

- Promedio

Para el promedio de los resultados obtenidos se calculará con la ecuación:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

\bar{x} = media aritmética

x_i = valor lectura

n = número de lecturas

- Varianza

Es una medida de la dispersión de los valores de una distribución alrededor del valor medio.

$$S^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

S^2 = varianza

\bar{x} = media aritmética

x_i = valor lectura

n = número de lecturas

Continuación anexo 1.

- Desviación estándar

Conocida como desviación típica, medida de dispersión respecto del promedio. Se utilizará la siguiente ecuación:

$$S = \frac{\sqrt{\sum(x_i - \bar{x})^2}}{n-1} \text{ Ecuación 3}$$

Donde:

S = desviación estándar

\bar{x} = media aritmética

x_i = valor lectura

n = número de lecturas

Fuente: ARAYA, Carlomagno. *Estadística para laboratorista químico*. p.21.