FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA PAMPA

TRABAJO DE TESINA

Para optar al grado de

LICENCIADA EN QUIMICA

"ANÁLISIS DE CARBONO Y NITRÓGENO EN MUESTRAS DE SUELOS Y MATERIAL VEGETAL DE LA REGIÓN SEMIÁRIDA PAMPEANA EMPLEANDO EL MÉTODO INSTRUMENTAL DE OXIDACIÓN SECA"

María Micaela Pérez

SANTA ROSA (LA PAMPA) ARGENTINA

2013

PREFACIO

Esta Tesina es presentada como parte de los requisitos para optar al Grado Académico de Licenciada en Química de la Universidad Nacional de La Pampa y no ha sido presentada previamente para la obtención de otro título en esta Universidad ni en otra Institución Académica. Se llevó a cabo en el Laboratorio de Suelo y Agua, dependiente de la EEA Anguil "Ing. Ag. Guillermo Covas" INTA, durante el período comprendido entre el 01 de Abril de 2012 a la fecha, bajo la dirección del Dr. José Manuel Camiña y la co-dirección de la Lic. Nanci Soledad Kloster.

María Micaela Pérez

26 de Febrero de 2013

Laboratorio de Suelo y Agua, EEA Anguil "Ing. Ag. Guillermo Covas" INTA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales

Universidad Nacional de La Pampa

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a aquellas personas e instituciones que me permitieron haber realizado este trabajo y haber llegado al final de mi carrera.

Debo empezar por mi co-directora Lic. Nanci S. Kloster quien me ha apoyado y guiado con mucha dedicación y paciencia en el desarrollo de esta tesina y al Dr. José M. Camiña por aceptar ser el director de la misma y darme toda su confianza.

A mi familia que me guía, apoya y cuida en todo momento y con mucho amor. A mis amigas y amigos por alentarme, escucharme, aconsejarme y hacer que cada momento sea inolvidable. A mis compañeros de la Facultad por los años compartidos y a los del INTA, especialmente a Luis Cornejo quien me ayudo en el análisis de muestras. A los profesores, quienes me han enseñado tanto.

A la Facultad de Ciencias Exactas y Naturales por haberme dado un lugar y permitido formarme profesional y personalmente.

Al Laboratorio de Suelo y Agua de la EEA Anguil "Ing. Ag. Guillermo Covas" INTA por facilitarme los medios suficientes para llevar a cabo los análisis propuestos durante el desarrollo de esta tesis.

A todos los que de alguna manera directa e indirectamente estuvieron presente en este trabajo.

Eternamente, gracias a todos.

RESUMEN

Existe una fuerte motivación por el desarrollo de métodos precisos y exactos para determinar Carbono (C) y Nitrógeno (N) en suelos y materiales vegetales, debido a la importancia agronómica y medioambiental de estos elementos. En este trabajo se realizó un estudio de validación del método de oxidación seca para análisis de C y N en muestras de suelo y material vegetal de la Región Semiárida Pampeana y además, los resultados se compararon con los obtenidos por métodos clásicos: Kjeldahl y Walkley y Black. Se evaluaron los parámetros de calidad: linealidad, exactitud, precisión, límite de detección y cuantificación e incertidumbre. Los parámetros de calidad estuvieron dentro de los criterios de aceptación establecidos, a excepción de la linealidad para N en la matriz suelo. Al comparar los resultados con los métodos clásicos, se encontró diferencia en la cuantificación de C en muestras de suelo, lo cual se asoció a la presencia de concentraciones variables de C inorgánico en las muestras. Se observó una sobreestimación de los valores de N, lo cual es importante en el análisis de suelos, ya que esto puede implicar un cambio en el manejo agropecuario. Sin embargo, existe una buena correlación entre los métodos, la cual podría ser utilizada para realizar estimaciones rápidas del contenido de N total para propósitos prácticos. Estos resultados llevan a concluir que el método de combustión seca si bien posee mayores costos en relación con los métodos tradicionales, es apto para analizar C y N en diferentes matrices. Es necesario la investigación de un método que diferencia C orgánico e inorgánico en muestras de suelo de la Región Semiárida Pampeana

SUMMARY

There is a strong motivation for the development of accurate and reliable methods for determining carbon (C) and nitrogen (N) in soils and plant materials, due to agronomic and environmental relevance of these elements. This work includes a validation study of dry oxidation method for C and N analysis in soil samples and plant material from Semiarid Pampean Region. We assessed the quality parameters: linearity, accuracy and precision, limit of detection and quantification and uncertainty. Furthermore, the method results were compared with those obtained by conventional methods of wet oxidation, Kjeldahl and Walkley & Black. The quality parameters were within acceptance criteria except for N linearity in the soil matrix. When comparing the results with wet oxidation methods difference was found in the quantification of C in soil samples, which is associated with the presence of varying concentrations of inorganic C in the samples analyzed. Also observed an overestimation of the values of N, which could be particularly important in the analysis of soils, where a small overestimation could involve a change in the results interpretation. However, there is a good correlation between the methods of wet and dry oxidation so it could be used for rapid estimations of total N content for practical purposes. These results lead to the conclusion that although dry combustion method has higher costs relative to traditional methods, is suitable for analysis of C and N in all matrices studied. Further research is required to obtain methods to differentiate organic and inorganic C in soil samples from Semiarid Pampean Region.

INDICE

1. Introducción …… 7

1.1. Objetivos ……. 10

2. Materiales y Métodos …….. 11

2.1. Muestras ……. 11

2.2. Análisis Químico ……. 12

2.2.1. Método de Walkley y Black ……. 12

2.2.2. Método de Kjeldahl …….. 13

2.2.3. Método de oxidación seca / Principio de Dumas …… 15

2.3. Procedimiento de validación ……... 16

3. Resultados y Discusión …… 20

3.1. Validación …….…….. 20

3.1.1. Linealidad …….…… 20

3.1.2. Exactitud …….……. 22

3.1.3. Precisión …….……. 23

3.1.4. Límite de detección y de cuantificación …….…… 24

3.1.5. Incertidumbre ……...…… 25

3.2. Comparación de métodos …… 25

4. Conclusiones …… 30

5. Bibliografía …….. 31

6. Anexo …….. 34

1. INTRODUCCION

La productividad potencial de los suelos depende del contenido de materia orgánica. Las prácticas agrícolas, tales como siembra directa y manejo de residuos de cultivos, incrementan el contenido de materia orgánica del suelo, y por lo tanto permiten mejorar el uso del suelo. Sin embargo, la labranza de suelos vírgenes, en general reduce el contenido de materia orgánica, lo cual deriva en un deterioro del recurso (Bono et al 2008). El C orgánico del suelo representa un componente significativo del pool de C global y sus transformaciones regulan el contenido de dióxido de carbono en la atmósfera (Álvarez 2005).

La materia orgánica del suelo es la principal fuente de nutrientes para las plantas, actúa como material de intercambio iónico y sustancia quelante, promueve la agregación de los suelos y el desarrollo de raíces y mejora la infiltración de agua (Six et al 2002). El contenido de C orgánico esta correlacionado con el contenido de N orgánico. En los suelos alrededor del 98 % del N se encuentra bajo formas orgánicas.

En suelos calcáreos, tal como los suelos de tipo Haplustol Entico de la Región Semiárida Pampeana, el C total consiste de fuentes de C orgánico e inorgánico. Es por esto que al momento de realizar estudios de dinámica del C orgánico del suelo, se requiere un método que permita cuantificarlo sin interferencias de la fracción inorgánica (Ramnarine et al 2011). Al ser el C uno de los constituyentes más importantes de los suelos, su identificación y cuantificación permite clasificarlos, evaluar su fertilidad y estimar el peligro de erosión.

Por otra parte, el análisis de material vegetal es imprescindible cuando se desea estimar el nivel de nutrientes en planta. El análisis de N en planta al macollaje en los cultivos trigo y cebada es un buen indicador del estado nutricional de la planta y de la capacidad de aporte de N del suelo (Morón et al 2002). Los granos de cereales y oleaginosas están compuestos por hidratos de carbono, proteínas y aceites que contienen C y N en sus estructuras. La composición de aceite y proteínas varía entre especies y juegan un papel fundamental en determinar el valor económico y la calidad de los productos obtenidos a partir de esas semillas (Passarella & Savin 2003).

Existe una fuerte motivación por el desarrollo de métodos precisos y exactos que permitan determinar el contenido de C y N en suelos y materiales vegetales, debido a la importancia agronómica y medioambiental de estos elementos. Los métodos tradicionales de oxidación húmeda son el método de Kjeldhal (Bremner 1996) para N y el método de Walkley & Black (1934) para C. El método de Kjeldahl implica la conversión de N orgánico a N amoniacal (NH_3) por digestión de las muestras de suelo y material vegetal con ácido sulfúrico y catalizadores. Posteriormente se realiza la determinación de amoníaco en el digesto por destilación, recogiendo el destilado en ácido bórico (H_3BO_3) y titulando el borato ($H_2BO_3^-$) generado con ácido clorhídrico (HCl).

$$N_{org} + H_2SO_4 \longrightarrow (NH_4)_2SO_4$$

$$NH_4^+ + OH^- \longrightarrow NH_3 + H_2O$$

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4^+ + H_2BO_3^-$$

$$^{H+} + H_2BO_3^- \longrightarrow H_3BO_3$$

En el método de Walkley & Black el C orgánico del suelo se oxida con ión dicromato ($Cr_2O_7^{2-}$) en presencia de ácido sulfúrico (Ecuación 1) y posteriormente se determina el C oxidado por titulación con una sal ferrosa (Ecuación 2). Este último determina solo el C orgánico fácilmente oxidable, por lo que se requiere un factor de conversión para convertirlo en C orgánico total

$$2\ Cr_2O_7^{2-} + 3\ C^o + 16\ H^+ \longrightarrow 4\ Cr^{3+} + 3\ CO_2 + 8\ H_2O \quad \text{Ecuación 1.}$$

$$Cr_2O_7^{2-} + 14\ H^+ + 6Fe^{2+} \quad 2\ Cr^{3+} + 6\ Fe^{3+} + 7\ H_2O \quad \text{Ecuación 2.}$$

Los métodos de oxidación/digestión húmeda requieren instrumentación simple y son relativamente accesibles económicamente. Sin embargo presentan la desventaja de su laboriosidad, el empleo de reactivos peligrosos y la generación de un volumen de residuos importante.

El método de oxidación seca basado en el principio de Dumas (Bremner 1996) es una de las técnicas más importantes para determinar concentraciones de C y N en

materiales de origen orgánico y mineral (Wright & Bailey 2001). Involucra una oxidación seca de las muestras en atmósfera de oxígeno y muy altas temperaturas, generando gases como dióxido de carbono y óxidos de nitrógeno, los cuales son colectados y detectados mediante un detector IR y una celda de conductividad térmica respectivamente. A diferencia de los métodos tradicionales de oxidación húmeda, esta técnica es poco laboriosa, no utiliza reactivos tóxicos y el volumen de reactivos generados es mínimo. Sin embargo su efectividad en las distintas matrices y el capital inicial involucrado al momento de adquirir equipos automatizados, limitan su amplia adopción.

Los continuos avances en el diseño de los instrumentos comercialmente disponibles requieren la evaluación de su utilidad para diferentes matrices. Esto es de particular importancia porque los instrumentos usualmente no son desarrollados específicamente para suelo o material vegetal, sino que también se utilizan en matrices como leche, carnes, aceites, fertilizantes. Para cada matriz el método puede requerir modificaciones en los tiempos y temperaturas de oxidación, ciclos de oxidación, tamaño de partículas, masa de muestra entre otros (Kowalenko 2001). Debe demostrarse en cada laboratorio, cada equipo y cada matriz, si el método es apto para el uso previsto, es decir que el método debe validarse.

La validación de un método analítico es la confirmación, a través del examen y el aporte de evidencias objetivas, de que se cumplen los requisitos particulares para un uso previsto (ISO17025/IRAM301 2005). A nivel nacional, el Organismo Argentino de Acreditación (OAA) establece un procedimiento de validación que consiste de tres pasos: 1. Establecimiento de los parámetros de aceptación del método, 2. Determinación de los parámetros estadísticos del método y 3. Evaluación de los resultados de la validación por comparación de los parámetros obtenidos con las condiciones establecidas previamente (OAA 2008). Los parámetros estadísticos analizados durante un procedimiento de validación de elementos mayoritarios son: linealidad, selectividad, precisión, exactitud, límite de detección y cuantificación e incertidumbre (OAA, 2008; Eurachem 1998).

1.1. ***Objetivos:***

A partir de los antecedentes mencionados se plantean como objetivos del trabajo 1. Realizar la validación del método de oxidación seca para el análisis de C y N en muestras de suelo y material vegetal de la Región Semiárida Pampeana, empleando el equipo LECO Truspec; 2. Comparar los resultados obtenidos por el método de oxidación seca con los obtenidos a partir de métodos clásicos de oxidación húmeda.

2. MATERIALES Y METODOS

2.1. *Muestras:*

Para la calibración del equipo y las mediciones involucradas en la validación del método de oxidación seca se emplearon materiales de referencia certificados (MRC). Se analizó MRC de diferente naturaleza: suelo, alfalfa, harina de trigo y cebada (LECO Corp.), cuyas características se muestran en la Tabla 1. Es decir que se validó el método sobre 4 matrices diferentes. La determinación de exactitud se realizó además empleando el método del sobreagregado de un MRC (EDTA) sobre muestras no certificadas. Para evaluar la influencia del contenido de C inorgánico en la determinación de C orgánico en suelos por el método de oxidación seca, se determinó el porcentaje de recuperación de C de carbonato de calcio adicionado a una muestra de suelo.

Tabla 1. Características de materiales de referencia utilizados. (MEDIA ± 2DS*)

Identificación	Tipo de muestra	C_T (%) (× ± DS)	N_T (%) (× ± DS)
MR18	Suelo	1,26 ± 0,04	0,12 ± 0,02
MR20	Harina de Trigo	45,29 ± 0,17	2,75 ± 0,02
MR21	Alfalfa	44,30 ± 0,20	3,53 ± 0,06
MR22	EDTA	41,05 ± 0,13	9,58 ± 0,04
MR23	Cebada	44,72 ± 0,28	1,79 ± 0,03

*DS: Desvío Estándar.

Para realizar la comparación de métodos de cuantificación de C y N por oxidación húmeda y seca, se utilizaron muestras de suelo de textura franco arenosa de la Región Semiárida Pampeana, con contenidos variables de C inorgánico (n=12 para C y n=16 para N) y muestras de material vegetal denominadas: biomasa de alfalfa (n=6), biomasa de trigo (n=6), rastrojo de trigo (n=6) y harina de trigo (n=6), todas pertenecientes a ensayos realizados en la EEA INTA Anguil. Las muestras de suelo fueron secadas al aire y tamizadas a 0,5 mm, mientras que las muestras de material vegetal fueron secadas en estufa a 60 ºC, molidas y tamizadas a 0,5 mm previo a su análisis.

2.2. Análisis Químico

2.2.1. Método de Walkley y Black (Esquema 2 IRAM-SAGPyA 29571-2):

1_Reactivos:

Ácido Fosfórico concentrado, cH3PO4.

Dicromato de Potasio, K2Cr2O7..

Acido sulfúrico concentrado, cH2SO4 .

Sulfato de amonio y hierro (II) hexahidratado (sal de Mohr), Fe(NH4)2(SO4)2.6H2O.

Ácido difenilaminosulfónico 4-sal de bario

2_Soluciones:

Solución de Dicromato de Potasio 0,167 mol/L.

Solución de sal de Mohr 0,5 mol/L.

Solución indicadora de sal de bario 0,5 %.

3_Instrumental:

Balanza analítica, precisión 0,0001 g.

Dosificadores volumétricos

Erlermeyers

Matraces aforados

Bureta, precisión 0,01 mL.

Vasos de precipitación

4_Procedimiento de medida:

Se pesó 1,00 g de la muestra, se colocó en un erlermeyer de 100 mL, se añadieron 5 mL de solución de dicromato de potasio y se agregaron 10 mL de ácido sulfúrico, siempre agitando. Se dejó en reposo durante 30 min sobre una superficie de material aislante térmico, evitando la perdida rápida de calor. Luego se adicionaron 15 mL de agua y se dejó reposar hasta que alcance la temperatura ambiente. Para realizar la titulación del exceso de dicromato se agregaron 3 o 4 gotas de solución indicadora, 1

mL de ácido fosfórico y por último se añadió la solución de sal de Mohr hasta el viraje del indicador. Paralelamente se desarrolló el ensayo en blanco siguiendo el procedimiento descripto anteriormente, sin la muestra de suelo.

5_Cálculo:

Se calculó el contenido de carbono orgánico oxidable de la muestra de suelo en base seca empleando la siguiente ecuación:

$$C_{ox} = \frac{(V_b - V_m) \cdot C \cdot 0{,}3}{m}$$

Donde:

Cox: contenido de carbono orgánico oxidable, en %.

Vb: volumen de solución de sal de Mohr consumidos en la titulación del blanco, en mL.

Vm: volumen de solución de sal de Mohr consumidos en la titulación de la muestra, en mL.

C: concentración de la solución de sal de Mohr valorada, en mmol/mL.

0,3: factor de conversión del nivel de oxidación del carbono, en mg/mmol.

m: masa de la porción de ensayo, en g.

Para expresar el resultado como carbono orgánico total, se recomienda utilizar el factor de corrección o recuperación. Walkley & Black proponen un factor de 1,3 basado en una oxidación promedio del 77% del carbono orgánico total.

2.2.2. Método de Kjeldahl (Esquema A IRAM 29572-1):

1_Reactivos:

Sulfato de sodio, Na2SO4

Sulfato de cobre pentahidratado, CuSO4.5H2O

Acido sulfúrico concentrado, cH2SO4

Acido Bórico, H3BO3

Verde de bromocresol, C21H14Br4O5S

Rojo de metilo, C15H15N3O2

Etanol, C2H5OH

Hidróxido de sodio, NaOH

2_Soluciones:

Mezcla catalítica de sales. Se mezclan 94 g de sulfato de sodio y 6 g de sulfato de cobre.

Indicador mixto. Se disuelven 0,1 g de verde de bromocresol y 0,07 g de rojo de metilo en 100 mL de etanol.

Solución de ácido bórico 2 g/100 mL con 20 mL de indicador mixto.

Solución de hidróxido de sodio 40% (10 mol/L).

Solución de carbonato de sodio 0,02 N.

Solución de ácido clorhídrico 0,02 N.

3_Instrumental:

Balanza analítica, precisión 0,0001 g.

Bureta, precisión 0,01 mL.

Dosificadores volumétricos.

Destilador (TECATOR KJELTEC SYSTEM 1002)

Equipo de digestión (TECATOR DIGESTION SYSTEM 20 1015)

Erlermeyers de 100 mL.

Matraces aforados de 1000 mL.

Tubos para el equipo de digestión.

Vasos de precipitación.

4_Procedimiento de medida:

4.1_Digestión: se pesan en balanza analítica 0,5 g para muestras de suelo y 0,2 g para material vegetal y se colocan en un tubo de digestión, se agrega 1 g de mezcla catalítica (sulfato de sodio y sulfato de cobre) y 3 mL de ácido sulfúrico. Se coloca el tubo en el digestor y se calienta a 380 ± 20 ºC hasta que la mezcla de digestión alcance un color verde claro (60 min para suelo y 90 min para material vegetal). Luego se dejan entibiar los tubos y bajo agitación se añaden 20 mL de agua destilada lentamente.

4.2_Destilación: en un erlenmeyer se agregan 5 mL de solución de ácido bórico con indicador y se coloca a la salida del condensador, el tubo de vidrio con la muestra mineralizada o digerida se coloca a la salida del destilador y se añaden 20 mL de solución de hidróxido de sodio. Se destila durante 90 min.

4.3_Titulación: se titula el destilado con solución de ácido clorhídrico hasta el viraje del color del indicador de verde a gris rosado. Se registra el consumo de ácido en el ensayo en el blanco y en las muestras.

5_Cálculo:

El porcentaje de N en las muestras se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$N = \frac{(V_m - V_b) \cdot c(H^+) \cdot M_N \cdot 0{,}1}{m}$$

Donde:

N: contenido total de nitrógeno, en %.

Vm: mL de la solución de ácido consumidos en la titulación de la muestra.

Vb: mL de la solución de ácido consumidos en la titulación del blanco.

c(H+): concentración de H+ en la solución de ácido, en mmol/mL.

MN: peso de un mmol de nitrógeno, en mg/mmol (=14)

m: masa de la muestra, en g.

2.2.3. Método de oxidación seca / Principio de Dumas:

1_Reactivos:

Oxígeno 5.0

Helio 5.0

Anhidrona (501-171)

Lecosorb (502-174)

Reactivo de horno (501-609)

Alúmina (502-188)

Catalizador para N (502-049)

2_Instrumental y consumibles

Balanza analítica, precisión 0,0001 g.

LECO TruSpec CN

Tin Foil de Estaño

Crisoles porosos

Sticks de cobre

Lana de vidrio

3_Procedimiento de medida:

El análisis de muestras se llevó a cabo de acuerdo a los parámetros recomendados por el fabricante (LECO Corp. 2005) (Tabla 2). Previo al análisis de muestras incógnitas, el equipo fue calibrado para cada matriz empleando los MRC mencionados previamente: suelo, alfalfa, harina de trigo y cebada. Además se hizo la medición de blancos sin muestra. De acuerdo con las recomendaciones del fabricante, una regresión lineal fue utilizada para el ajuste de la curva de calibración.

Tabla 2. Parámetros de análisis de LECO TruSpec CN.

Parámetro	**Valor asignado**
Masa de muestra	0,1 g
Temperatura del horno de oxidación	950ºC
Temperatura post-horno	850ºC
Perfil de quema	30 seg
Tiempo mínimo de análisis	30 seg

2.3. Procedimiento de validación

Siguiendo los pasos recomendados por el OAA, en primer lugar se establecieron los criterios de aceptación del método (Tabla 3).

Tabla 3. Criterios de aceptación

Parámetro	Matriz	Criterio de aceptación	
		C	N
Linealidad	Todas	> 0,99	> 0,99
Exactitud ER% $t_{calc\ (0,05;\ 5)}$ Recuperación (%)	Todas	< 10 < t_{crit} 80-120	< 10 < t_{crit} 80-120
Precisión Repetibilidad (CV_R%) Precisión intermedia (CV_P%)	Todas	< 5 < 10	< 5 < 10
LOQ (%)	Suelo Material vegetal	≤ 0,5 ≤ 20,00	≤ 0,05 ≤ 1,00
Incertidumbre (%)	Todas	< 10	< 10

En segundo lugar se determinó cada uno de los parámetros del método de la siguiente manera:

Linealidad: se realizaron las curvas de calibración para cada una de las matrices analizadas para lo cual se pesaron muestras del MRC por triplicado (0,05 g; 0,075 g; 0,1 g; 0,125 g; 0,150 g; 0,175 g y 0,2 g). La linealidad se evaluó a partir del coeficiente de determinación (r^2).

Exactitud: Este parámetro se estudió a partir de dos vías, por medio del análisis de MRC y por medio del método de adición estándar a una muestra interna del laboratorio. En el primer caso se analizaron por sextuplicado los MRC de cada matriz y se estableció la igualdad entre el valor medio medido y el valor de referencia a partir de una prueba *t* de Student ($p<0,05$). Además se calculó del error relativo porcentual, que es la relación porcentual que existe entre el resultado promedio obtenido por el método y el valor real de dicho MRC. Se calcula a partir de la siguiente ecuación:

$$ER\% = \frac{(\%\ medio\ med.)-(\%\ MRC)\ \ x\ \ 100}{(\%\ MRC)}$$

Donde:

ER%: error relativo porcentual.

(% medio med.): Valor medio medido.

(% MRC): valor de referencia

En el método de Adición Estándar para determinar exactitud, se utilizaron muestras internas del laboratorio (una para cada matriz) y se adicionó una masa conocida del MRC EDTA. Cada muestra, con y sin agregado de EDTA, se pesó y analizó por sextuplicado. Luego se calculó el porcentaje de EDTA recuperado.

Precisión: Se evaluó realizando el análisis por sextuplicado de los MRC, dentro de un mismo día, y verificando la dispersión de los resultados mediante el análisis del coeficiente de variación porcentual de la repetibilidad (CV_R%). Además se calculó la precisión intermedia analizando los MRC por triplicado en tres días sucesivos, y verificando la dispersión de los resultados a partir del coeficiente de variación de la precisión intermedia (CV_P%).

Límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ): Tanto el LOD como el LOQ fueron analizados a partir del análisis por quintuplicado de la señal del blanco y el desvío estándar (DS) de dicha señal. Se define el LOD como el porcentaje de C o N, según corresponda, que proporciona una señal igual a la señal del blanco más 3,3 veces el DS del blanco (LOD = B + 3,3 DS). Mientras que el LOQ se define como el porcentaje de C o N que proporciona una señal igual a la señal del blanco más 10 veces el DS del blanco (LOQ = B + 10 DS).

Incertidumbre: la incertidumbre relativa (U_{rel}%) es calculada a partir de la exactitud y la precisión (CV%) como se expresa en la siguiente ecuación (Reyes & Cerezo 2009):

$$U_{rel}(\%) = 2 * \sqrt{\left(\frac{CV\,\%}{\sqrt{n_{dia}}}\right)^2 + \left(\frac{V\,\%}{\sqrt{3}}\right)^2}$$

Donde:

Urel: incertidumbre relativa expandida porcentual.

CV %: Coeficiente de variación porcentual entre días (precisión intermedia)

ndia: número de días en los que se analiza la precisión intermedia.

V %: veracidad porcentual o error relativo porcentual.

El análisis estadístico de resultados se realizó empleando el software Excel del paquete de Office 2007. Se utilizó la prueba *t* de Student ($p<0,05$) para el análisis de exactitud y análisis de regresión lineal para la comparación de métodos.

3. RESULTADOS Y DISCUSION

3.1. Validación

3.1.1. Linealidad

Se calcularon los valores de la pendiente y la ordenada al origen de cada recta de calibración. En las Tablas 4 y 5, se observan dichos parámetros para cada MRC y para cada analito (C y N).

Tabla 4. Parámetros de las rectas de calibrado de C.

Matriz	Ordenada al origen	pendiente	R^2
Suelo	-0,036	0,146	0,998
Alfalfa	-0,333	0,199	0,998
Harina de trigo	-0,166	0,193	0,999
Cebada	-0,272	0,196	0,999

Tabla 5. Parámetros de las rectas de calibrado de N.

Matriz	Ordenada al origen	pendiente	R^2
Suelo	0,000	0,073	0,986
Alfalfa	0,006	0,069	0,999
Harina de trigo	0,001	0,066	0,999
Cebada	-0,001	0,070	0,999

La linealidad se estudió mediante el coeficiente de determinación (R^2) el cual refleja en cierta medida el ajuste de la calibración a una recta a partir de la regresión. Las rectas de calibración se graficaron a partir de la señal instrumental, es decir el área integrada del pico, en función de los mg de analito, ya sea C o N. Los valores de R^2 obtenidos fueron superiores al criterio de aceptación (R^2>0,99) en todos los casos, a excepción de la recta de calibrado realizada para el MRC suelo, analito N. Esto implica un buen ajuste lineal en el rango de masas de muestra utilizadas en la mayoría de los casos. En la Figura 1 se observan las curvas de calibración para cada MRC (suelo, alfalfa, harina de trigo y cebada) y para cada analito (C y N).

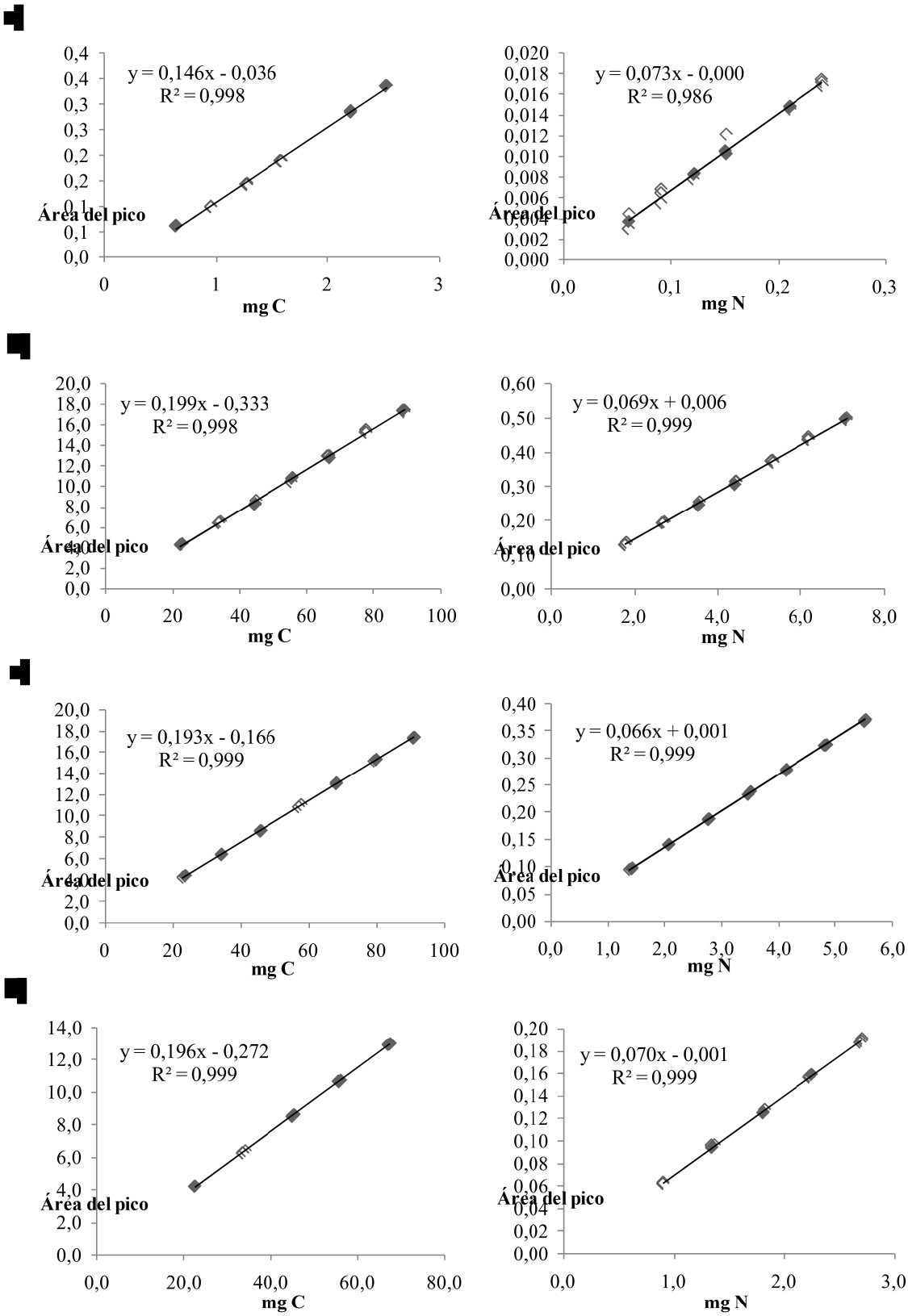


Figura 1. Rectas de calibrado obtenidas con el equipo LECO Truspec para los MRC: a) suelo (izquierda.C; derecha.N), b) alfalfa (izquierda.C; derecha.N), c) harina de trigo (izquierda.C; derecha.N) d) cebada (izquierda.C; derecha.N).

3.1.2. Exactitud

Los resultados obtenidos para el cálculo de exactitud del método para C y N se observan en las Tablas 6 y 7 respectivamente. La prueba *t* arrojó diferencias significativas ($p<0,05$) entre el valor medido y el valor certificado para el análisis de C en las matrices suelo y alfalfa. Sin embargo, el ER% calculado para este analito estuvo por debajo del criterio de aceptación en todos los casos, siendo incluso menor al 3%. Se considera que el método es apropiado para la determinación de C en las matrices suelo, alfalfa, harina de trigo y cebada, aun cuando el test estadístico arrojó diferencias significativas. Para el analito N, se observa una diferencia significativa ($p<0,05$) según la prueba *t* entre el valor medido y el valor certificado en la matriz alfalfa. No obstante, al igual que lo mencionado para el análisis de C, el ER% es inferior al criterio de aceptación en todos los casos, por lo que se considera que el método es exacto para la determinación de N en las 4 matrices estudiadas. Este resultado se condice con Etheridge et al (1998) quienes llegaron a la conclusión de que el método de Dumas presenta buena exactitud y precisión.

Tabla 6. Veracidad del método para C.

Matriz	**Valor certificado μ (%)**	**Valor medido x (%)**	**Desvío Estándar S**	t_{calc}	**ER%**
Suelo	1,260	1,224	0,003	25,805	2,802
Alfalfa	44,300	43,182	0,149	18,396	2,523
Harina de trigo	45,290	45,187	0,107	2,358	0,227
Cebada	44,720	44,493	0,257	2,168	0,509

Tabla 7. Veracidad del método para N.

Matriz	Valor certificado μ (%)	Valor medido x (%)	Desvío Estándar S	Valor t t_{calc} (*)	ER%
Suelo	0,120	0,118	0,005	1,083	1,978
Alfalfa	3,530	3,470	0,012	11,979	1,711
Harina de trigo	2,750	2,733	0,089	0,458	0,605
Cebada	1,790	1,776	0,024	1,395	0,762

*$t_{tabla(0.05,\ 5)}$=2,57

Los resultados de recuperación de EDTA en el estudio de exactitud del método a partir de la adición de un estándar se observan en la Tabla 8. La recuperación estuvo dentro del rango preestablecido como aceptable para el analito C en las matrices alfalfa y harina de trigo, y para el analito N en todas las matrices. Mientras que la misma estuvo por encima del valor fijado como aceptable para el C en la matriz suelo. No obstante, dado que la determinación de exactitud a partir del ER% arrojo resultados favorables, no se considera que este estudio de recuperación por adición estándar sea determinante en la afectación de exactitud.

Tabla 8. Porcentajes de Recuperación de C y N.

Matriz	Recuperación C (%)	Recuperación N (%)
Suelo	125,8	81,5
Alfalfa	95,2	100,5
Harina de trigo	97,6	103,6

3.1.3. Precisión

La precisión se expresa generalmente como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación porcentual, CV%) de una serie de medidas repetidas, lo cual indica la dispersión de las mismas. Los resultados del cálculo de repetibilidad, dentro del día, y precisión intermedia, entre días, del método se muestran en la Tabla 9. El método resultó ser preciso para la determinación de C y N en las diferentes matrices estudiadas (CV_R%<5 y CV_P%<10). A diferencia de lo esperado, el CV_P% entre días es menor que el CV_R% dentro del día, en la mayoría de los casos. Es importante destacar que si bien los CV% están dentro de los límites preestablecidos, estos son superiores a los especificados por el fabricante del equipo para C y N (CV% 0,5) (LECO Corp. 2006). Dhaliwal et al. (2011) exponen que los resultados obtenidos

con los autoanalizadores se ven afectados por una serie de factores tales como el tamaño de la partícula, cantidad y tipo de muestra, contenidos de C y N, y por eso debe llevarse a cabo la evaluación de la capacidad analítica de los analizadores automáticos en relación a esas variables. Esto refuerza la necesidad de realizar estudios de validación *in situ* de los métodos a utilizar en los laboratorios, para las matrices específicas sobre las cuales se utiliza el equipamiento.

Tabla 9_ Repetibilidad y precisión intermedia del método para C y N.

Matriz	**Repetibilidad (CV_R%)**		**Precisión Intermedia (CV_P%)**	
	C	**N**	**C**	**N**
Suelo	0,27	4,62	1,23	3,69
Alfalfa	0,34	0,36	-	-
Harina de trigo	0,24	3,25	<0,01	0,08
Cebada	0,58	1,35	<0,01	<0,01

3.1.4. Límite de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ)

Los resultados obtenidos para el LOD Y LOQ de los analitos C y N en las diferentes matrices se indican en las Tablas 10 y 11. Los valores de LOQ para C así como para N en las diferentes matrices están por debajo de los criterios de aceptación, lo que indica que el método es apto para el uso previsto.

Tabla 10. LOD y LOQ del método para C.

Matriz	**Señal del blanco**	**DS de la señal**	**LOD (%)**	**LOQ (%)**
Suelo	$-5{,}6.10^{-05}$	$8{,}4.10^{-05}$	0,25	0,25
Alfalfa	$-2{,}2.10^{-04}$	$1{,}4.10^{-04}$	1,67	1,68
Harina de trigo	$4{,}4.10^{-10}$	$1{,}3.10^{-04}$	0,86	0,87
Cebada	$-3{,}2.10^{-03}$	$6{,}9.10^{-03}$	1,49	1,72

Tabla 11. LOD y LOQ del método para N.

Matriz	Señal del blanco	DS de la señal	LOD (%)	LOQ (%)
Suelo	$-1{,}2.10^{-04}$	$4{,}7.10^{-04}$	0,01	0,05
Alfalfa	$6{,}7.10^{-03}$	$4{,}1.10^{-03}$	0,20	0,61
Harina de trigo	$-4{,}0.10^{-10}$	$7{,}0.10^{-04}$	0,02	0,09
Cebada	$5{,}7.10^{-04}$	$1{,}2.10^{-02}$	0,08	0,19

3.1.5. Incertidumbre

Los valores de incertidumbre relativa (U_{rel}%) en la determinación de C y N, calculados a partir de la exactitud y la precisión (CV_R%) se indican en la Tabla 12.

Tabla 12. Incertidumbre relativa en la determinación de C y N.

Matriz	C			N		
	Exactitud (ER	Precisión (CV_R	U_{rel}%	Exactitud (ER	Precisión (CV_R	U_{rel}%
Suelo	2,802	0,27	0,36	1,978	4,62	4,31
Alfalfa	2,523	0,34	0,40	1,711	0,36	0,29
Harina de trigo	0,227	0,24	0,03	0,605	3,25	0,93
Cebada	0,509	0,58	0,14	0,762	1,35	0,48

3.2. Comparación de métodos

La comparación de los métodos clásicos de medida de C y N con el método de oxidación seca se hizo a partir de gráficos de dispersión donde se correlacionaron los resultados obtenidos del análisis de muestras de diferentes matrices, frente a los métodos clásicos de oxidación húmeda (Walkley y Black para C en suelo, y Kjeldahl para N en suelo, alfalfa, harina de trigo y cebada). En la Figura 2 se muestra la correlación del método de oxidación seca en función del método de oxidación húmeda para la cuantificación de C en muestras de suelo. Se observa un coeficiente de correlación (r^2) bajo, lo cual puede asociarse a que los métodos analizados cuantifican compuestos de C de diferentes orígenes. Mientras que Walkley y Black determina C orgánico, el método de oxidación seca cuantifica C total, es decir C orgánico y C inorgánico. Las muestras de suelo utilizadas corresponden a distintos sitios de la Región Semiárida Pampeana, con contenidos variables de C inorgánico bajo la forma de carbonatos de calcio y magnesio, esto podría explicar el mayor contenido de C cuantificado con el equipo LECO. Esto coincide con los resultados reportados por

Abella & Zimmer (2007) quienes trabajando en suelos con presencia de $CaCO_3$ determinaron una baja asociación entre estas metodologías. A diferencia de Epherabide et al (2010) quienes hallaron una alta correlación para suelos no calcáreos (r^2 = 0,[illegible] – 0,[illegible]).

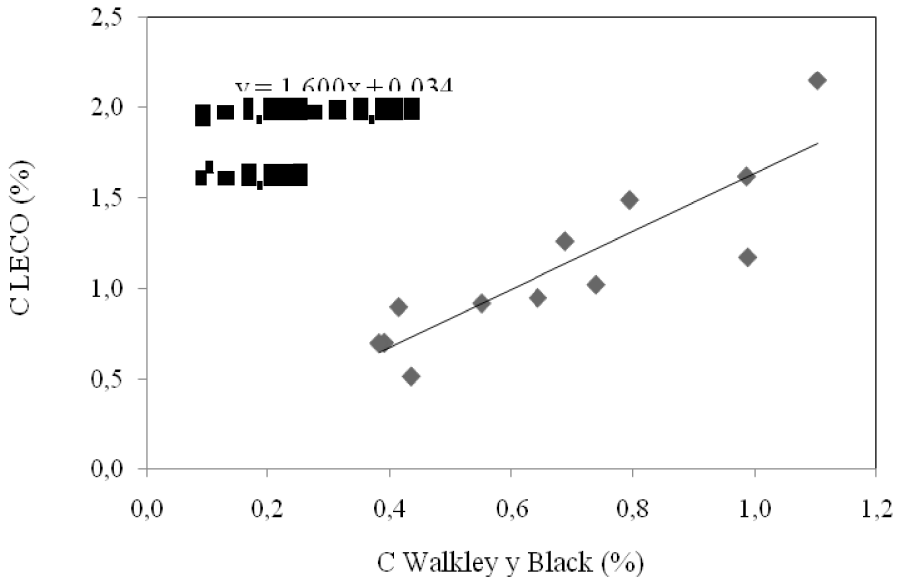


Figura 2. Correlación entre métodos para C en suelo.

Para evaluar la interferencia de C inorgánico en la determinación de C orgánico en muestras de suelo empleando el equipo LECO, se realizó un ensayo de adición de masas crecientes (desde 0,0010 g a 0,01[illegible] g) de $CaCO_3$ p.a. a una muestra de suelo. Esto debería indicar si la detección y cuantificación de C inorgánico es lineal a su concentración, es decir, si se cuantifica todo el C inorgánico presente en las muestras. En la Figura [illegible] se expone el C total detectado por el equipo LECO en función de la concentración porcentual de C inorgánico adicionado. Puede observarse que hay un incremento lineal (R^2 0,[illegible]) del C detectado por el LECO en función del agregado de concentraciones crecientes de C inorgánico.

En estudios realizados por Wright & Bailey (2001) se observó que los perfiles de incineración a temperaturas menores de 1000°C minimizan la descomposición de $CaCO_3$, mientras que a temperaturas de 1[illegible]00°C se maximizo la recuperación de C total. Esto coincide con los resultados de Matejovic (1[illegible]7), los cuales indicaron una mayor

recuperaci[redacted]n de C pro[redacted]eniente de carbonatos con el aumento de temperatura de o[redacted]idaci[redacted]n. Al encontrar que la cuantificaci[redacted]n de carbonatos es dependiente de la temperatura, as[redacted] como de la cantidad de muestra, la [redacted]elocidad de o[redacted]idaci[redacted]n [redacted] el flujo de o[redacted]geno, [redacted]ste conclu[redacted]e que la recuperaci[redacted]n de C[redacted]$CO_{[redacted]}^{[redacted]}$ debe ser [redacted]erificada para cada analizador.

Con el LECO Tru[redacted]pec CN (temperatura de o[redacted]idaci[redacted]n [redacted]0[redacted]C) la recuperaci[redacted]n m[redacted]nima de C pro[redacted]eniente del $CaCO_{[redacted]}$ fue de 17,07[redacted] correspondiente al menor agregado de la sal, mientras que el ma[redacted]or porcentaje de recuperaci[redacted]n fue de 11[redacted],22[redacted]. [redacted]e obse[redacted] en el conjunto de datos que la recuperaci[redacted]n oscila entre [redacted]0 [redacted] 100[redacted] en la ma[redacted]or[redacted]a de las muestras [redacted] que los bajos porcentajes de recuperaci[redacted]n corresponden a las muestras con menor agregado de carbonatos ([redacted] muestras de un total de 2[redacted]).

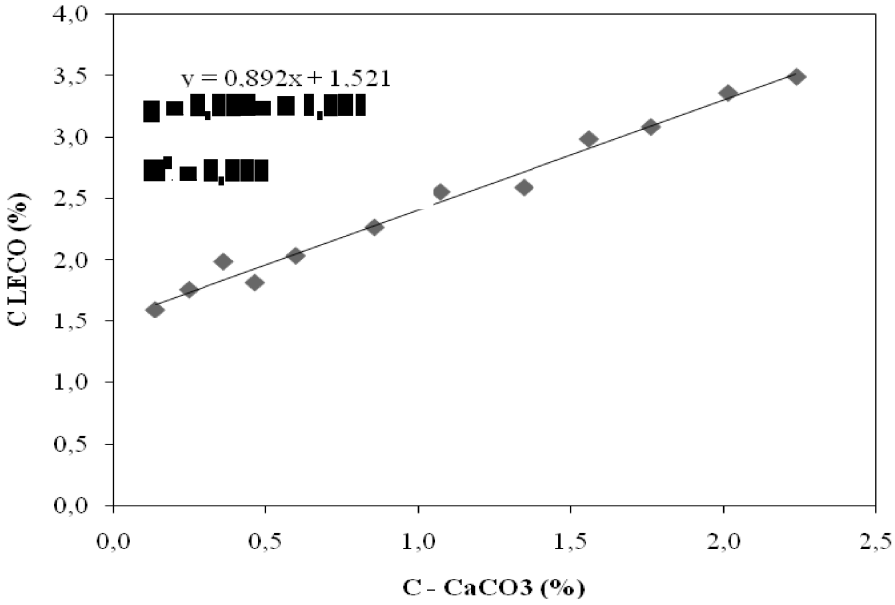
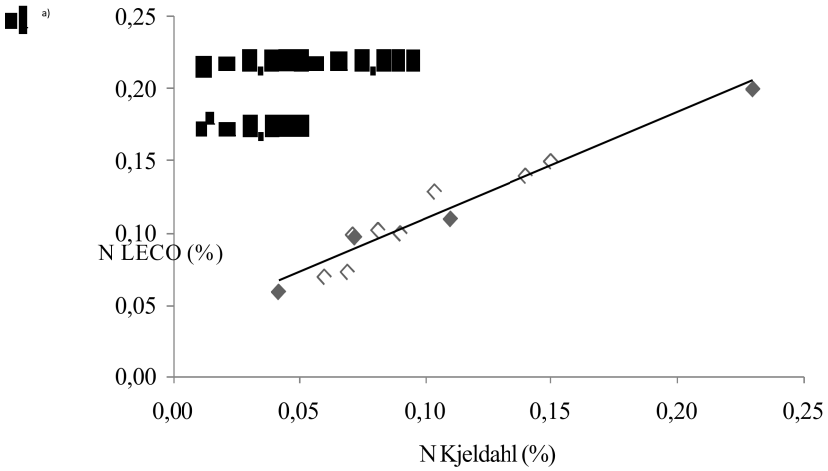
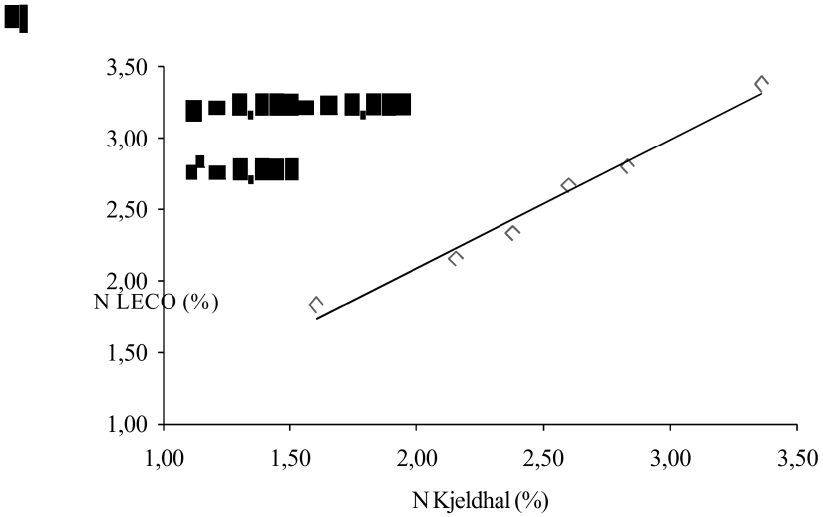


Figura [redacted]. [redacted]nterferencia de $CO_{[redacted]}^{[redacted]}$ en el m[redacted]todo de o[redacted]idaci[redacted]n seca.

En la Figura [redacted] se muestra la correlaci[redacted]n del m[redacted]todo de o[redacted]idaci[redacted]n seca en funci[redacted]n del m[redacted]todo de o[redacted]idaci[redacted]n h[redacted]meda para la cuantificaci[redacted]n de N en muestras de suelo, alfalfa [redacted] harina de trigo. Los coeficientes de correlaci[redacted]n son superiores a 0,[redacted]0 en los tres casos, es decir que ha[redacted] una buena correlaci[redacted]n entre los m[redacted]todos, lo que coincide con los resultados de [redacted]aint-[redacted]enis et al (200[redacted]), [redacted]iec[redacted]o[redacted] et al (2007) [redacted] O[redacted]enhanm et al (1[redacted]). [redacted]in embargo se obse[redacted]a que el contenido de N obtenido mediante o[redacted]idaci[redacted]n seca es le[redacted]emente superior al obtenido por el m[redacted]todo de [redacted]jeldahl. Estos resultados

coinciden con los publicados por Calvo et al (2005) y Dhaliwal et al (2011) quienes cuantificaron mayores contenidos de N con el analizador (0,166 a 0,171%) en comparación con Kjeldahl (0,146%), pero difieren con Kowalenko (2001) quien demostró que el porcentaje de recuperación de N en muestras de suelo empleando un equipo de digestión seca es alrededor de 10% menor al obtenido por digestión húmeda.





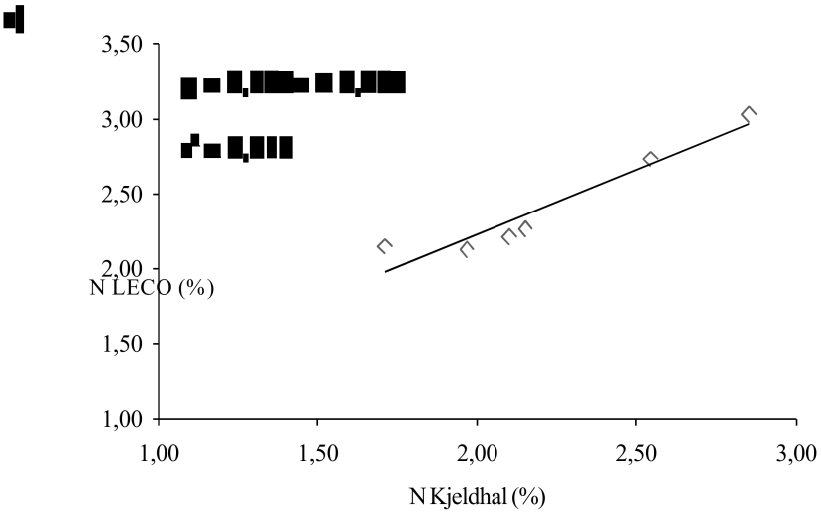


Fig W1_ Correlación entre método para Nitrógeno en Harina de

4. CONCLUSIONES

En base a los resultados del presente trabajo se concluye que:

1. El método de oxidación seca empleando el analizador LECO TruSpec CN proporciona resultados de C y N aptos para el uso previsto en muestras de suelo, alfalfa, harina de trigo y cebada. El mismo presenta ventajas prácticas como rapidez, exclusión de reactivos tóxicos y mínimo pretratamiento de muestra; sin embargo, presenta como principal desventaja el elevado costo de equipo y la dependencia de la disponibilidad del fabricante para la adquisición de los consumibles y gases importados.

2. Existe una baja correlación entre los resultados obtenidos en el análisis de C en muestras de suelo, empleando los métodos de oxidación húmeda y oxidación seca. Esto se asocia a que, a la temperatura de combustión utilizada (950 ºC), el equipo LECO TruSpec CN cuantifica el C total de la muestra, incluyendo gran proporción del C inorgánico proveniente del carbonato de la muestra, mientras que el método de oxidación húmeda sólo determina C orgánico fácilmente oxidable. Sin embargo, el uso de adición de patrón de carbonato, permite un adecuado ajuste del modelo y cuantificación aceptable.

3. El método de oxidación seca sobreestima el valor de N de las muestras. Esto es relevante sobre todo en muestras de suelo, donde una variación en el segundo decimal del resultado obtenido puede implicar diferencias en la interpretación de los datos. Se requiere mayor investigación de las variables de medida óptimas del instrumento (temperatura, tamaño de muestra, molienda de la muestra, volumen de gas producido almacenado para la medida). Sin embargo, existe una buena correlación entre los métodos de oxidación seca y húmeda por lo que la misma podría ser utilizada para realizar estimaciones rápidas del contenido de N total para muchos propósitos prácticos.

5. BIBLIOGRAFIA

Abella, S.R & Zimmer B.W. (2007). *Estimating organic carbon from loss-on-ignition in Northern Arizona Forest Soils*. SSSAJ. 71(2):545-550.

Alvarez, R. (2005). *A review of nitrogen fertilization and conservation tillage effects on soil C storage.* Soil Use Manage. 21:38-52.

Bono, A; Alvarez, R; Buschiazzo, DE & Cantet RJC. (2008). *Tillage effects on soil carbon balance in a semiarid agroecosystem.* Soil Sci. Soc. Am. J. 72:1140-1149.

Bremner, J.M. (1965). *Organic Forms of Nitrogen*. Methods of soil Analysis, Part 2, Chemical and Microbiological Properties. American Society of Agronomy, Madison, WI. 1238-1255.

Bremner, J.M. (1996). *Nitrogen Total*. In D.L. Sparks et al., Eds. Methods of Soil Analysis, Part 3, Chemical Methods. Soil Science Society of America, American Society of Agronomy, Madison, WI. 1149-1176.

Calvo, C; González, E; Andrade, A & Atienza, J. (2005). *Comparación de los resultados obtenidos para la determinación de proteína en material vegetal con el método Kjeldahl y con el analizador Leco CSN 2000*. Tercer Congreso Virtual Iberoamericano sobre Gestión de Calidad en Laboratorios. Instituto Tecnológico Agrario de Castilla y Léón. 115-117.

Dhaliwal, G; Gupta, N; Kukal, S & Kaur, M. (2011). *Standardization of Automated Vario EL III CHNS Analyzer for Total Carbon and Nitrogen Determination in Soils*. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 42:971-979.

Dieckow, J; Mielniczuk, J; Knicker, H; Bayer, C; Pinheiro Dick, D & Kogel-Knabner, I. (2007). *Comparison of carbon and nitrogen determination methods for samples of apaleudult subjected to no-till cropping systems.* Sci Agric. Brasil. 64:532-540.

Esquema 2 de la norma IRAM-SAGPyA 29571-2. Calidad ambiental. Calidad del suelo. *Determinación de materia orgánica en suelos. Parte 2- Determinacion de carbono orgánico oxidable por mezcla oxidante fuerte, escala semi-micro.*

Esquema A de la norma IRAM-SAGPyA 29572-1. Calidad ambiental. Calidad del suelo. *Determinación de nitrógeno en suelo por el método Kjeldahl modificado. Parte 1 - Escala semi-micro.*

Etheridge, R; Pesti, G & Foster, E. (1998). *A comparison of nitrogen values obtained utilizing the Kjeldahl nitrogen and Dumas combustion methodologies (Leco CNS 2000) on samples typical of an animal nutrition analytical laboratory*. Animal Feed Science and Technology. 73:21-28.

Eurachem Guide. (1998). *The Fitness for Purpose of Analytical Methods: A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. www.eurachem.org/guides/pdf/valid.pdf. Fecha del último acceso: 05/03/2012.

Eyherabide, M; Sainz Rozas, H; Echeverría, H & Barbieri, P. (2010). *Comparación de métodos para determinar carbono orgánico en suelo*. XXII Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Rosario. Argentina.

IRAM 301. ISO/IEC 17025. (2005). *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.*

Kowalenko, G. (2001). *Assessment of LECO-2000 analyzer for simultaneously measuring total carbón, nitrogen and sulphur in soil*. Communications in Soil Science and Plant Analysis. Canada. 32:2065-2078.

LECO Corporation. (2005). *Organic Application Note: Carbon and Nitrogen in soil and sediments*. Disponible en: www.leco.com. Fecha de último acceso 13/02/13.

LECO Corporation. (2006). *TruSpec CN Carbon/Nitrogen*. Instruction Manual.

Matejovic, I. (1997). *Determination of Carbon and Nitrogen in Samples of Various Soils by the Dry Oxidación*. Communications in Soil Science and Plant Analysis. Slovakia. 28:1499-1511.

Morón, A; Cozzolino, D; García, A & Sawchik, J. (2002). Avances en la determinación rápida de nitrógeno en planta para cebada y trigo para diagnóstico de refertilización. Informaciones Agronómicas de Cono Sur. Nº13.

Organismo Argentino de Acreditación OAA. (2008). *Guía para validación de métodos de ensayo*. Código: DC-LE-05. Versión: 2.

Oxenham, D; Catchpoole, V & Dolby, G. (1983). *A comparison of dry oxidación and acid digestion for the determination of nitrogen in soil and plant material*. Communications in Soil Science and Plant Analysis. Australia. 14:153-160.

Passarella, VS & Savin, R. (2003). *Características físico-químicas de los harina de trigos y usos principales.* En: Pascale, A.J. (ed). Producción de harina de trigos, bases funcionales para su manejo. 11-22. Editorial Facultad de Agronomía. UBA.

Ramnarine, R; Voroney, RP; Wagner Riddle, C & Dunfield, KE. (2011). *Carbonate removal by acid fumigation for measuring the 13C of soil organic carbon.* Can. J. Soil Sci. 91:247-250.

Reyes, M & Cerezo, MJ. (2009). *Consideraciones sobre la evaluación de la incertidumbre*. V Congreso Virtual Iberoamericano. Gestión de Calidad en Laboratorios.http://www.iberolab.org/opencms/opencms/comunicaciones/Comunicaciones/. Fecha de último acceso: 18/02/13.

Saint-Denis, T & Goupy, J. (2004). *Optimization of a nitrogen analyzer based on the Dumas method*. Analytica Chimica Acta.. 515:191-198.

Six, J; Conant, RT; Paul, EA & Paustian, K. (2002). *Stabilization mechanisms of soil organic matter: Implications for C-saturation of soils*. Plant and Soil. 241:155-176.

Walkley, A & Black, IA. (1934). *An examination of the Degtjareff method for determining soil organic matter, and a proposed modification of the chromic acid titration method*. Soil Sci. 37:29-38.

Wright, A & Bailey, J. (2001). *Organic carbon, total carbon, and total nitrogen determinations in soils of variable calcium carbonate contents using a Leco CN-2000 dry oxidación analyzer.* Communications in Soil Science and Plant Analysis. UK. 32:3243-3258.

6. ANEXO

Definiciones de Parámetros de Calidad

Exactitud: se define como la diferencia entre una medida o el resultado de una medida y el valor real del mensurando, expresada como un error.

Precisión: grado de concordancia entre una serie de resultados obtenidos sobre la misma muestra aplicando de forma repetida e independiente el mismo método analítico. El parámetro estadístico que se utiliza normalmente para expresar la precisión es la desviación estándar, ya sea en términos absolutos o relativos. El número de factores que pueden afectar a la precisión de los resultados es elevado. Esto permite caracterizar la *repetibilidad* y *precisión intermedia,* definiéndose ambas como la precisión obtenida bajo las mismas condiciones operativas (aplicando un mismo método a un mismo material, en el mismo laboratorio, con los mismos equipos y reactivos, el mismo operador) pero se diferencian en que la repetibilidad es en un intervalo de tiempo corto (una sesión de trabajo) y la precisión intermedia contempla variaciones intralaboratorio (por ejemplo: análisis en diferentes días, con diferente equipamiento, diferente analista).

Linealidad: es la capacidad del método para proporcionar resultados que son directamente proporcionales a la concentración del analito en la muestra dentro de un rango establecido.

Límite de detección (LOD): corresponde a la concentración más baja de analito que puede detectarse en una muestra bajo condiciones experimentales establecidas.

Límite de cuantificación (LOQ): Este corresponde a la menor concentración de analito que puede cuantificarse de manera confiable en una muestra, bajo las condiciones experimentales establecidas.

Sensibilidad: capacidad de diferenciar dos cantidades o dos concentraciones de analito muy parecidas. Este concepto es aplicable a cualquier técnica analítica, ya sea clásica o instrumental y a cualquier nivel de concentración.

Rango dinámico: intervalo de concentraciones en el que el método presenta una sensibilidad apropiada a la utilización que del mismo se quiere hacer.

Incertidumbre: Este es un parámetro, asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían ser razonablemente atribuidos al "mesurado" (magnitud sujeta a medida). Al ser muchas las contribuciones que afectan el cálculo de incertidumbre global del método su cálculo resulta engorroso, es por eso

que a partir del modelo de “caja negra” se puede calcular la incertidumbre relativa porcentual (U_{rel}%) a partir de la exactitud (ER%) y precisión (CV_P).