

Validación del nitrógeno total y amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos por el método
Kjeldahl

Sebastián Quintero Barón

Trabajo de Grado para Optar al Título de Químico

Director

Luz Yolanda Vargas Fiallo

Química, MSc. Escuela de Química

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Química

Bucaramanga

2025

Agradecimientos

Primero agradecer al apoyo ejercido por mis padres con su contante insistencia para que terminara este escrito; a mi madre que me preguntaba todos los días por la fecha del grado, con su preocupación y cariño y a mi padre quien fue mi sustento y sin él no sería posible el ostentar a este título. A ustedes dos mil y un gracias los amo.

A mi gordita la persona que más me ayudo en este escrito a completarlo, me apoyo todos los días desde que inicie mi plan de proyecto y fue mi apoyo incondicional en todo momento.

A todas las personas que están y estuvieron en mi paso por LQCI y LQS que fueron fundamentales para el desarrollo de este escrito; a Natis con su amabilidad, comprensión y disposición para ayudar en todo momento; a Bibi con su particular personalidad divertida (el chavito); a Kevin por su guía ante cualquiera de mis preguntas; a Mary con su manera de filosofar por todo; a Jhoncito con quien nos tocó afrontar nuevos retos y juntos fuimos mejorando poco a poco dentro del laboratorio; a Karina quien me guio y apoyo constantemente durante toda la parte experimental y mi escrito; a Lina con su comprensión, paciencia y exigencia en el trabajo y por último la profe quien fue la que me permitió ingresar en el laboratorio, me ayudo a mejorar mi forma de ver las cosas dentro del laboratorio y a aprender a desenvolverse dentro del laboratorio (Doña Luz).

A mis amigos con quienes desde la pandemia nos unimos y afrontamos la mayoría de materias juntos; a Sofia con su particular tranquilidad; a Thalía siendo una mamá y ayudándome cuando no quería escribir en clase y a Juan José (el gran JJ) la persona con la que más tiempo pase, mi amigo y pana, la persona con la que mejor me llevo y uno de mis mejores amigos.

A mi familia quienes siempre estuvieron pendientes y me ayudaban en todo lo que necesitara y pidiera; a Nicolás y Juanfer mis hermanos, amigos y compañeros; mi tía mona siendo mi segundo hogar; mi tía Kata dándome ánimos desde la distancia; mi tío Michael con el que más recocho y tengo una relación más de amistad; mis primitos Majo y Juli a quienes amo y tengo siempre presente; mi tía Adriana y Juandi que siempre han estado atentos de mí; mi abue Fany que en paz descansa siempre le tengo en mi memoria y mi abue Magda el amor de mi vida y la señora que más ame y adore.

Por último, pero no menos importante a todas las personas externas como lo son mis jefes del trabajo en logística Sigi y Cami con los que aprendí sobre el mundo laboral y al profe Gabriel que fue una guía fundamental para terminar este escrito, por eso y mucho más gracias y mil gracias a todos.

Tabla de Contenido

	Pág.
Introducción	12
1. Planteamiento del problema.....	14
2. Objetivos	16
2.1 Objetivo General.....	16
2.2 Objetivos Específicos.....	16
3. Marco Teórico.....	17
3.1 Generalidades del suelo	17
3.2 Generalidades del nitrógeno	17
3.3 Usos y aplicaciones del nitrógeno.....	18
3.4 Nitrógeno total	19
3.5 Nitrógeno inorgánico	19
3.6 Métodos para determinar el nitrógeno total.....	19
3.6.1 Método Kjeldahl	20
3.7 Otros métodos para la determinación del nitrógeno total	21
3.8 Métodos para determinar el nitrógeno amoniacal.....	22
3.8.1 4500–NH ₃ B Nitrógeno amoniacal	22
3.8.2 Método kjeldahl nitrógeno amoniacal	23
3.9 Otros métodos para la determinación del nitrógeno amoniacal.....	23
3.10 Fertilizantes.....	23
3.10.1 Fertilizantes sólidos	24
3.10.2 Fertilizantes líquidos.....	24

3.10.3 Tipos de fertilizantes.....	25
3.11 Validación de métodos analíticos	26
3.11.1 Validación interna.....	26
3.11.2 Figuras de mérito	26
3.12 Blanco y matriz fortificados.....	30
4. Metodología	31
4.1 Equipos y reactivos	32
4.1.1 Equipos	32
4.1.2 Reactivos.....	33
4.2 Estandarización de la solución HCl 0,1N	33
4.3 Procedimiento experimental	34
4.3.1 Determinación del nitrógeno total en muestras sólidas	34
4.4 Determinación del nitrógeno total en muestras líquidas.....	36
4.5 Determinación del nitrógeno amoniacal en muestras sólidas y líquidas	37
4.6 Validación	38
4.6.1 Rechazo de datos.....	38
4.7 Rango de trabajo	39
4.8 Limite de detección y de cuantificación	40
4.9 Veracidad	41
4.9.1 Sesgo	41
4.9.2 Porcentaje de recuperación	41
4.10 Precisión.....	42
4.10.1 Repetibilidad.....	42

4.10.2 Precisión intermedia.....	42
4.11 Robustez.....	43
4.12 Incertidumbre.....	43
5. Resultados y discusión.....	45
5.1 Estandarización de la solución de HCl al 0,1 N.....	45
5.2 Rechazo de datos.....	46
5.3 Intervalo de trabajo.....	47
5.4 Limite de detección y cuantificación.....	48
5.5 Veracidad.....	49
5.5.1 Sesgo.....	49
5.5.2 Porcentaje de recuperación.....	50
5.6 Precisión.....	54
5.6.1 Repetibilidad.....	54
5.6.2 Precisión intermedia.....	55
5.7 Robustez.....	58
5.8 Incertidumbre.....	60
6. Conclusiones.....	61
Referencias Bibliográficas.....	62
Apéndices.....	65

Lista de Tablas

	Pág.
Tabla 1 Resultados de la estandarización de la solución de HCl al 0,1 N.....	45
Tabla 2 Datos utilizados para la prueba estadística de Grubbs para nitrógeno total en fertilizantes solidos por dos analistas.....	46
Tabla 3 Resultados para la prueba estadística de Grubbs para nitrógeno total en fertilizantes solidos por dos analistas.....	46
Tabla 4 Intervalo de trabajo para nitrógeno total en fertilizantes solidos.....	47
Tabla 5 Resultados obtenidos para el LMC de la determinación del nitrógeno total en fertilizantes solidos	48
Tabla 6 Datos y resultados para la determinación del sesgo para nitrógeno total en fertilizantes solidos	49
Tabla 7 Datos para evaluación del % de recuperación de rango bajo para nitrógeno total en fertilizantes solidos	50
Tabla 8 Datos para evaluación del % de recuperación de rango medio para nitrógeno total en fertilizantes solidos	51
Tabla 9 Datos para evaluación del % de recuperación de rango alto para nitrógeno total en fertilizantes solidos	52
Tabla 10 Datos para la determinación de ANOVA para nitrógeno total en fertilizantes solidos bajo la figura de mérito de veracidad.....	52
Tabla 11 Análisis de varianza de un solo factor para nitrógeno total en fertilizantes solidos bajo la figura de mérito de veracidad.....	53

Tabla 12 Análisis de varianza para nitrógeno total en fertilizantes solidos bajo la figura de mérito de veracidad	54
Tabla 13 Datos y resultados para evaluar la repetibilidad del método para nitrógeno total en fertilizantes solidos	54
Tabla 14 Datos para evaluar la precisión intermedia para nitrógeno total en fertilizantes solidos	55
Tabla 15 Porcentaje de recuperación de los analistas para las 3 muestras de concentración conocidas RB, RM y RA para nitrógeno total en fertilizantes solidos	56
Tabla 16 Análisis de varianza de un factor para nitrógeno total en fertilizantes solidos bajo la figura de mérito de precisión	57
Tabla 17 Análisis de varianza para nitrógeno total en fertilizantes solidos bajo la figura de mérito de precisión	57
Tabla 18 Evaluación de robustez para nitrógeno total en fertilizantes solidos.....	58
Tabla 19 Análisis de varianza de un factor para nitrógeno total en fertilizantes solidos bajo la figura de mérito de robustez	59
Tabla 20 Análisis de varianza para nitrógeno total en fertilizantes solidos bajo la figura de mérito de robustez	59
Tabla 21 Resultados del análisis de la estimación de la incertidumbre.....	60

Lista de Apéndices

	pág.
Apéndice A. Tablas de validación del nitrógeno total en fertilizantes líquidos y nitrógeno amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos.	65

Resumen

Título: Validación del nitrógeno total y amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos por el método Kjeldahl*

Autor: Sebastián Quintero Barón **

Palabras Clave: Validación, Nitrógeno, Fertilizantes, Nitrógeno total, Nitrógeno amoniacal, Método Kjeldahl.

Descripción: Los fertilizantes son compuesto químicos o naturales que se añaden al suelo para suministrar sustancias nutritivas para el crecimiento de las plantas. En la agricultura, el suelo es la base fundamental para los propósitos productivos de alimentos y la conservación de los ecosistemas, sin embargo, muchos suelos carecen de los nutrientes esenciales que las plantas requieren para desarrollarse de manera óptima. En consecuencia, esta investigación se trató de la validación del nitrógeno presente en fertilizantes sólidos y líquidos y el cómo esto tiene relevancia en la industria agrícola, ya que el nitrógeno es uno de los nutrimentos que se caracteriza por que en el suelo está sometido a una permanente dinámica de transformación y síntesis de carácter bioquímico, que incluye procesos de ganancia y pérdida del elemento en periodos relativamente cortos. La metodología fue de tipo experimental, con los parámetros establecidos en el método Kjeldahl para la validación del nitrógeno total y amoniacal, a partir de ensayos fundamentados en los requisitos de la norma NTC 370 del 2011 y la 4500-NH₃ B del Standard Methods. En términos generales la muestra para el desarrollo investigativo tuvo en cuenta los fertilizantes minerales que se pueden presentar en forma sólida o líquida y se encuentran clasificados en los siguientes grandes grupos: nitrogenados simples, fosfatados simples, potásicos simples, abonos compuestos (complejos y de mezcla), abonos con nutrientes secundarios y abonos con micronutrientes. En conclusión, se demuestra el cumplimiento de los parámetros establecidos en el método Kjeldahl para la validación del nitrógeno total y amoniacal haciendo uso de las figuras de mérito como exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre, verificando los criterios de aceptación.

* Trabajo de Grado en modalidad de investigación

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Química. Director: Luz Y. Vargas Fiallo. MSc. En Química

Abstract

Title: Validation of Total and Ammoniacal Nitrogen in Solid and Liquid Fertilizers by the Kjeldahl Method*

Author(s): Sebastián Quintero Barón**

Key Words: Nitrogen, Validation, Kjeldahl Method, Fertilizers, Total Nitrogen, Ammoniacal Nitrogen.

Description: Fertilizers are chemical or natural compounds that are added to the soil to provide nutrients for plant growth. In agriculture, the soil is the fundamental basis for productive food purposes and the conservation of ecosystems. However, many soils lack the essential nutrients that plants require to develop optimally. Consequently, this research focused on the validation of nitrogen present in solid and liquid fertilizers and how this is relevant to the agricultural industry, as nitrogen is one of the nutrients characterized by being subjected to a constant dynamic of transformation and biochemical synthesis in the soil, which includes processes of gain and loss of the element in relatively short periods. The methodology was experimental, following the parameters established in the Kjeldahl method for the validation of total and ammoniacal nitrogen, based on tests aligned with the requirements of the NTC 370 standard of 2011 and the 4500-NH₃ B method from the Standard Methods. In general terms, the sample used for the research considered mineral fertilizers, which can be found in solid or liquid form and are classified into the following major groups: simple nitrogen fertilizers, simple phosphate fertilizers, simple potassium fertilizers, compound fertilizers (complex and mixed), fertilizers with secondary nutrients, and fertilizers with micronutrients. In conclusion, the study demonstrates compliance with the parameters established in the Kjeldahl method for the validation of total and ammoniacal nitrogen, using merit figures such as accuracy, precision, detection limit, quantification limit, and uncertainty, verifying the acceptance criteria.

* Degree Work in Research Mode

** Science Faculty, Chemistry School. Director: Luz Y. Vargas Fiallo. Chemistry MSc.

Introducción

La validación de métodos analíticos es un requisito importante en la práctica del análisis químico. Su realización proporciona un alto grado de confianza en el método analítico y en la calidad de los resultados, al disminuir el número de fallos y repeticiones. Los datos obtenidos son pruebas documentales que proporcionan un alto grado de seguridad y cumplimiento de los criterios legales (Nicado et al, 2023, p.2).

En las determinaciones cuantitativas de los componentes elementales de los compuestos orgánicos, la determinación de nitrógeno tiene una importancia especial y significativa. Las cuantificaciones de nitrógeno son muy comunes en trabajos analíticos realizados en laboratorios de investigación práctica, estaciones experimentales de agricultura e institutos de fisiología (Laboratorio Carlsberg, 1883).

“Los fertilizantes o abonos son todo material orgánico o inorgánico, cuya función principal es proporcionar nutrientes a las plantas, capaces de mejorar su crecimiento en un momento dado” (Navarro y navarro, 2014, p.46). “Pueden estar constituidos por uno o varios elementos, o nutrientes, esenciales, es decir, son responsables de la fertilidad adquirida en el suelo” (p.47). Estos productos contienen elementos vitales como el nitrógeno, el fósforo y el potasio (N, P, K), siendo el nitrógeno especialmente significativo para la fertilidad del suelo. El nitrógeno destaca por su papel preponderante en el incremento del rendimiento de las plantas, mejorando la absorción de nutrientes tanto en el suelo como en la vegetación (Navarro y navarro, 2014).

El nitrógeno orgánico se define funcionalmente como nitrógeno unido orgánicamente en el estado de oxidación trinegativo. Analíticamente, el nitrógeno orgánico y el amoníaco se

pueden determinar juntos y se han denominado "nitrógeno de Kjeldahl", un término que refleja la técnica utilizada en su determinación (Baird et al, 2017). "Para determinar nitrógeno total se utilizan modalidades analíticas basadas principalmente en dos métodos: el método Kjeldahl, que consiste en una oxidación o combustión húmeda y el método Dumas, basado fundamentalmente en una técnica de combustión seca" (Castillo, 1989, p.22). Aunque esta última opción es más exacta, más rápida y menos riesgosa.

En esta investigación se ha empleado el método Kjeldahl como herramienta en la determinación del nitrógeno total en fertilizantes sólidos y líquidos, debido a que las modalidades analíticas basadas en la combustión húmeda son las más difundidas y factibles de aplicar en los laboratorios, ya que requieren equipos más comunes y sencillos. (Castillo, 1989). Para determinar nitrógeno amoniacal también son utilizadas metodologías como el método Kjeldahl y la 4500-NH₃ B de Standard Methods. Por tanto, el objetivo de este proyecto tiene como finalidad validar el nitrógeno total y amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos a partir del método Kjeldahl y la 4500-NH₃ B verificando los resultados a partir de las figuras de mérito.

1. Planteamiento del problema

Los fertilizantes son compuestos químicos o naturales que se añaden al suelo para suministrar sustancias nutritivas necesarias para el crecimiento de las plantas. Estos nutrientes, que incluyen nitrógeno, fósforo, potasio y otros elementos menores, son vitales para el desarrollo de las plantas, ya que intervienen en procesos biológicos esenciales como la fotosíntesis, la respiración y la síntesis de proteínas y ácidos nucleicos.

Los suelos son la base fundamental para el crecimiento de las plantas y, por ello, para la producción de alimentos y la conservación de los ecosistemas, sin embargo, muchos suelos carecen de los nutrientes esenciales que las plantas requieren para desarrollarse de manera óptima. Esta deficiencia puede deberse a múltiples factores, como la erosión, el cultivo intensivo y la degradación del suelo, que agotan los minerales y la materia orgánica. En este contexto, el uso de fertilizantes se convierte en una herramienta crucial para la agricultura (Ciampitti y Garcia, 2008).

Así la validación del nitrógeno presente en fertilizantes sólidos y líquidos tiene relevancia en la industria agropecuaria, ya que “el nitrógeno es uno de los nutrimentos que se caracteriza por que en el suelo está sometido a una permanente dinámica de transformación y síntesis de carácter bioquímico, que incluye procesos de ganancia y pérdida del elemento en periodos relativamente cortos” (Castillo, 1989, p.1). Por tal razón el uso de fertilizantes con este nutriente mejora significativamente el crecimiento de las plantas y cultivos, es por esto que como iniciativa táctica el Laboratorio Químico de consultas industriales toma la decisión de ampliar el alcance de la acreditación, con los parámetros establecidos en el método Kjeldahl para la

validación del nitrógeno total y amoniacal, creándose la necesidad de ensayos fundamentados en los requisitos de la norma NTC 370 del 2011 y la 4500-NH₃ B del Standard Methods.

2. Objetivos

2.1 Objetivo General

Validar el nitrógeno total y amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos por el método Kjeldahl.

2.2 Objetivos Específicos

- Desarrollar la metodología establecida a partir de la NTC 370 de 2011 para la determinación del nitrógeno total en fertilizantes sólidos y líquidos.
- Implementar una metodología combinando los métodos de la NTC 370 del 2011 y la 4500-NH₃ B de Standard Methods para la determinación del nitrógeno amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos.
- Determinar las figuras de mérito como exactitud, precisión, límite de detección, límite de cuantificación, selectividad e incertidumbre para llevar a cabo la validación del nitrógeno total y amoniacal.
- Interpretar los resultados obtenidos en cada uno de los parámetros, utilizando técnicas estadísticas verificando el cumplimiento de los criterios de aceptación.

3. Marco Teórico

3.1 Generalidades del suelo

El suelo constituye un recurso único, irremplazable y esencial para todos los organismos terrestres, incluido el hombre. Pero el suelo, independientemente de su origen, tiene una función: soportar una vegetación, y en él se deben dar las condiciones necesarias para el desarrollo de las plantas. Bajo el punto de vista agrícola, el suelo puede considerarse como un *sistema disperso constituido por tres fases: sólida, líquida y gaseosa, que constituye el soporte mecánico y, en parte, el sustento de las plantas*. Según este concepto, el estudio del suelo debe dirigirse hacia dos objetivos fundamentalmente (Navarro y Navarro, 2014, p.1).

3.2 Generalidades del nitrógeno

“La aplicación de fertilizantes en la agricultura se realiza con el objeto de suministrar a la planta aquellos elementos que el suelo, por su naturaleza o por agotamiento, no tiene capacidad de suministrar” (Meléndez et al, 2017, p. 251).

La determinación de las dosis de fertilizante y de los momentos de aplicación a los cultivos es un proceso complejo que depende del cultivo, del rendimiento esperado, de los nutrientes disponibles en el suelo y de sus transformaciones a lo largo del ciclo de cultivo, y de las condiciones climáticas. Las necesidades de nitrógeno dependen de la especie, de la variedad, del rendimiento potencial y de la calidad de la cosecha (García et al, 2009, p.68).

Ya que el nitrógeno es un elemento esencial para todos los seres vivos, presente en la mayor parte de las combinaciones orgánicas de las plantas y totalmente volátil por la calcinación.

El nitrógeno en los suelos se presenta de varias formas, algunas disponibles para las plantas, pues es un factor limitante común para el crecimiento, y cuando hay un deficiente suministro de este elemento se pueden provocar notables descensos en la producción vegetal, los iones nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) son especies absorbidas por las raíces y luego empleadas en las síntesis de proteínas y de otros compuestos orgánicos (Navarro y Navarro, 2003).

En la planta, el nitrógeno se encuentra fundamentalmente bajo forma orgánica. Las materias nitrogenadas de reserva están esencialmente constituidas por proteínas, que difieren según las especies vegetales. Pero el nitrógeno no se encuentra solo bajo forma proteica, sino también en forma de compuestos más simples, que constituyen los intermediarios entre los compuestos nitrogenados minerales absorbidos y las sustancias proteicas de síntesis (Navarro y Navarro, 2003, p.166).

3.3 Usos y aplicaciones del nitrógeno

El nitrógeno tiene ventajas con respecto a sus aplicaciones, su principal utilidad es la elaboración de amoniaco en la industria mediante el método de “Haber”, donde este compuesto se emplea en la producción de fertilizantes, ácido nítrico, urea, hidracina, aminas y explosivos. Las sales de ácido nítrico involucran la síntesis de importantes compuestos como el nitrato de potasio (empleado en la fabricación de pólvora) y el nitrato de amonio (sustancia principal de los fertilizantes). El amoniaco también es utilizado en la elaboración del óxido nitroso, gas incoloro conocido popularmente como gas de la risa, este mezclado con oxígeno, se utiliza como anestésico en cirugías. Los compuestos orgánicos como nitroglicerina y trinitrotolueno suelen ser explosivos, la hidracina y sus derivados se utilizan como combustible en cohetes. Por otra parte, desde el punto de vista metabólico, el óxido nítrico es un mensajero vital del cuerpo, útil en la relajación de los músculos, está involucrado en el sistema nervioso central, periférico,

cardiovascular e inmunitario, donde la enzima que produce esta sustancia, la óxido-nítrico-sintasa es abundante en el cerebro (Cruz et al, 2019).

3.4 Nitrógeno total

El nitrógeno total Kjeldahl es definido como la suma de amonio libre y compuestos orgánicos nitrogenados que son convertidos a sulfato de amonio, después de la digestión de la muestra con ácido sulfúrico y en presencia de un catalizador. El amonio es destilado en medio alcalino y recuperado nuevamente para su cuantificación. De acuerdo con ello, hay que diferenciar entre nitrógeno total Kjeldahl (NTK, que comprende el nitrógeno orgánico y el amoniacal) y el nitrógeno total (NT), que abarca el NTK, además de los nitritos y los nitratos, como formas oxidadas del nitrógeno (Espinoza et al, 2013, p.3).

3.5 Nitrógeno inorgánico

Es la fracción disponible en las plantas y su contenido es generalmente menor al 10% del total. Las raíces de las plantas captan el nitrógeno desde el suelo principalmente como iones disueltos de nitrato (NO_3^-) y amonio (NH_4^+).

El NO_3^- es la principal forma de absorción por las plantas. Es muy móvil en el suelo, simple de perderse por lavado en virtud de la ausencia de mecanismos de adsorción o precipitación y forma compuestos muy solubles.

El NH_4^+ es absorbido preferencialmente por los microorganismos y por algunos vegetales como arroz y azaleas. El NH_4^+ intercambiable no supera el 2% del N total (Benimeli et al, 2019).

3.6 Métodos para determinar el nitrógeno total

Existen diferentes modalidades analíticas que permiten determinar el contenido de nitrógeno total presente en el suelo, plantas, fertilizantes, biomásas, foliares, entre otras. Una de

las más utilizadas es el análisis químico conocido como método Kjeldahl el cual consiste en determinación del nitrógeno total.

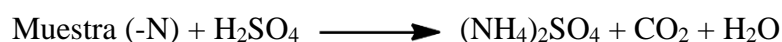
3.6.1 Método Kjeldahl

La explicación metodológica al respecto, como lo explica la revista PanReac Applichem (2009) en su apartado “Determinación del nitrógeno” en las páginas 2-3, se describe en los siguientes párrafos, pues se considera método oficial y descrito en múltiples normativas: AOAC, USEPA, ISO, DIN, Farmacopeas y distintas Directivas Comunitarias.

Desde hace más de 100 años se está utilizando el método Kjeldahl para la determinación del nitrógeno en una amplia gama de muestras. La determinación del nitrógeno por el método Kjeldahl se realiza en alimentos y bebidas, carne y cereales para el cálculo de contenido en proteínas. También se utiliza el método Kjeldahl para la determinación de nitrógeno en aguas residuales, suelos, fertilizantes y otras muestras (“Determinación del nitrógeno,”2009, p.2).

El método Kjeldahl consta de tres etapas: la digestión, donde el nitrógeno orgánico se convierte en NH_4^+ , la destilación, allí el NH_3 es destilado y recogido en una solución receptora, y finalmente la valoración en donde se determina el nitrógeno

3.6.1.1 Digestión. El objetivo es romper todos los enlaces de nitrógeno de la muestra y convertir todo el nitrógeno unido orgánicamente en iones amonio (NH_4^+) (p.2).



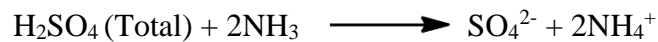
3.6.1.2 Destilación. Durante el proceso los iones amonio (NH_4^+) se convierten en amoniaco (NH_3) mediante la adición de un reactivo alcalino (NaOH) (p.3).



El vaso receptor para el destilado se llena con una solución receptora para capturar el gas amoniaco disuelto, formando iones de amonio solvatados.

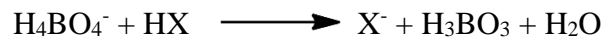


También pueden utilizarse otros ácidos, dosificados con precisión, como el ácido sulfúrico o clorhídrico para capturar el amoniaco en forma de iones amonio solvatados (p.3).



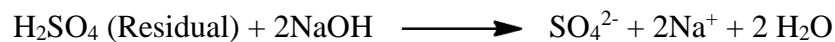
3.6.1.3 Valoración. La concentración de iones amonio capturado puede determinarse por dos tipos de valoración:

Cuando se utiliza el ácido bórico como solución absorbente, seguidamente se hace una valoración ácido-base utilizando una solución estandarizada de ácido sulfúrico o clorhídrico y una mezcla de indicadores (p.3).



HX = ácido fuerte (X=Cl⁻, etc.)

Cuando se utiliza una solución valorada de ácido sulfúrico como solución absorbente, el ácido sulfúrico residual se valora con una solución estandarizada de hidróxido sódico y la cantidad de amoniaco se calcula por diferencia. Esta valoración es llamada valoración indirecta o por retroceso (p.3).



3.7 Otros métodos para la determinación del nitrógeno total

El método Dumas, que se caracteriza por una pirólisis completa de la muestra y medición del contenido de nitrógeno de los gases de combustión, El nitrógeno debe ser medido con

manómetro después de absorber el dióxido de carbono en una solución alcalina o por conductividad térmica en métodos automatizados (Araya, s.f).

Dalal y Henry (1986) propusieron el uso de la espectrofotometría de reflectancia difusa de infrarrojo cercano (NIR) para la estimación simultánea del N total, la humedad y el C orgánico en suelos secados al aire. Esta técnica permitiría la estimación rápida y no destructiva del N total presente en el suelo, aunque parece ser útil sólo para el análisis rutinario de suelos finamente molidos que tienen un rango limitado en color y poseen cantidades moderadas de materia orgánica (0,3-2,5% de C).

Han propuesto dos métodos que involucran el uso de persulfato para la oxidación del N orgánico a nitrato para el análisis de N total en suelos. En uno de estos, la muestra se digiere con una solución de persulfato de potasio y el digesto se trata con aleación de Devarda para disminuir el nitrato a amonio, que se determina a través de un procedimiento colorimétrico, en el otro, la muestra de suelo se digiere con persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$) y solución de hidróxido de sodio en una autoclave y se analiza el nitrato por medio de un procedimiento espectrofotométrico (Bremner, 1996).

3.8 Métodos para determinar el nitrógeno amoniacal

Se dan diferentes modalidades para la determinación del contenido de nitrógeno amoniacal presente en fertilizantes entre ellas se encuentran:

3.8.1 4500-NH₃B Nitrógeno amoniacal

Los dos principales factores que influyen en la selección del método para determinar el amoniaco son la concentración y la presencia de interferencias. En el caso de los abonos y fertilizantes la concentración de NH_3-N es superior a 5 mg/l por tal razón es necesario el uso de una destilación y una titulación para cuantificar los niveles de contenido de nitrógeno amoniacal.

La muestra se tampona a pH 9.5 con un buffer de borato para disminuir la hidrólisis de cianatos y compuestos de nitrógeno orgánicos. El amoniaco en el destilado se determina titrimétricamente con ácido bórico y un indicador mixto (Baird et al, 2017).

3.8.2 Método kjeldahl nitrógeno amoniacal

Consiste en convertir el nitrógeno presente en el fertilizante en sulfato de amonio por digestión con ácido sulfúrico concentrado y en presencia de un catalizador. El amonio formado se libera por adición de hidróxido de sodio en exceso y es destilado con arrastre de vapor sobre una solución receptora de ácido sulfúrico o ácido clorhídrico en exceso. El exceso de ácido se titula con una solución valorada de hidróxido de sodio o potasio (NTC 370, 2011, p.14).

3.9 Otros métodos para la determinación del nitrógeno amoniacal

“El método cuantitativo por titulación previo tratamiento con formaldehído consiste en hacer reaccionar la sal de amonio con el formaldehído para liberar ácido mineral el cual se titula con una solución estandarizada de hidróxido de Sodio o Potasio” (NTC 4150, 1997, p.6).

La utilización de reactivo de Nessler consiste en que la sal NH_4^+ disuelta, reacciona con el reactivo de Nessler alcalino, elevándose el pH del medio, por medio del cual se obtiene amonio, esta reacción produce una coloración gradual de amarillo a pardo, en la medida que aumenta la concentración de amoníaco. Posteriormente se lee en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 425 nm (Adbaquim, 2024).

3.10 Fertilizantes

Un fertilizante es un material orgánico, inorgánico, natural o sintético que se aplica al suelo o a la planta para suministrarles uno o más de los elementos químicos que son necesarios para su normal crecimiento. La aplicación de fertilizantes en la agricultura es realizada con el

objetivo de suministrar a la planta dichos elementos que el suelo por su naturaleza o por agotamiento, no tiene capacidad de suministrar (Meléndez, 2017).

3.10.1 Fertilizantes sólidos

Los fertilizantes sólidos se presentan en forma granulada y cristalina, a estos últimos también se le denominan fertilizantes hidrosolubles por su elevada pureza y solubilidad en agua, estos se encuentran clasificados en simples y compuestos (Meléndez et al, 2017).

3.10.1.1 Fertilizantes simples. “Son aquellos que contienen solo uno de los tres macronutrientes esenciales principales. Son los abonos nitrogenados, fosfatados o potásicos con un contenido declarable de un único nutriente principal” (Navarro y Navarro, 2014, p.47).

3.10.1.2 Fertilizantes compuestos. Son aquellos obtenidos químicamente, por mezcla, o por combinación de ambos, con un contenido declarable de, al menos, dos de los nutrientes principales. De acuerdo con el número de elementos que aporten pueden ser *ternarios* cuando es un compuesto con un contenido declarable de los tres elementos principales (NPK), o *binarios*, si el número de elementos que aportan es al menos de dos (NP, NK, PK) de los nutrientes principales (Navarro y Navarro, 2014).

3.10.2 Fertilizantes líquidos

Los fertilizantes líquidos son principalmente disoluciones de fertilizantes en agua. En esta clasificación, se incluyen los fertilizantes líquidos claros, los fertilizantes líquidos que poseen sólidos en suspensión, y fertilizantes líquidos que contienen un gas disuelto como el amoníaco (NH_3). Asimismo, se conocen como fertilizantes fluidos o en disolución, ya que se permite un manejo como fluido (Meléndez et al, 2017).

3.10.3 Tipos de fertilizantes

Tradicionalmente los fertilizantes minerales se pueden presentar en forma sólida o líquida, clasificando en los siguientes grandes grupos:

- Nitrogenados simples
- Fosfatados simples
- Potásicos simples
- Abonos compuestos (complejos y de mezcla)
- Abonos con nutrientes secundarios
- Abonos con micronutrientes

Seguidamente se tratará sobre los nitrogenados simples

3.10.3.1 Nitrogenados simples. Los fertilizantes nítricos amoniacales son uno de los tipos de fertilizantes más utilizados en la agricultura debido a que reúnen las ventajas de contener nitrógeno nítrico, de disponibilidad inmediata, y nitrógeno amoniacal, de acción más prolongada ya que debe sufrir el proceso de nitrificación, aquí se encuentra:

3.10.3.1.1 La urea. Se presenta en dos formas con características físicas y químicas diferenciadas, la granulada o prilada, para aplicación al suelo y la urea cristalina, completamente soluble y no corrosiva, especialmente indicada para su aplicación foliar y uso en fertirrigación.

3.10.3.1.2 Sulfato amónico. Fertilizante nitrogenado sólido amoniacal, se presenta en forma de cristales uniformes de muy alta solubilidad y es poco higroscópico. Es utilizado en la elaboración de abonos de mezcla preparándose en forma de cristales de mayor tamaño.

3.10.3.1.3 Nitrogenados líquidos. Hay unos susceptibles de ser empleados pulverizados sobre el suelo y otros cuya principal utilización es en fertirrigación. (Navarro y Navarro, 2014).

3.11 Validación de métodos analíticos

“Los resultados de un análisis químico, requieren un grado de confianza respecto a la veracidad y exactitud del valor reportado, garantizando la fiabilidad del método empleado, demostrando por medio de la validación que la medición cuenta con las siguientes características” (Adarme, 2014, p.25).

3.11.1 Validación interna

El laboratorio debe aplicar métodos que sean apropiados para los ensayos dentro de su alcance, y que estén debidamente validados. Por tal razón se debe realizar pruebas experimentales bajo las condiciones del laboratorio, y obtener los valores de los parámetros que servirán como criterios de confianza del método analítico. Así mismo, se debe documentar toda la evidencia adquirida según el sistema de gestión de calidad del laboratorio y constar por escrito que dicho proceso está validado y autorizado por el director de laboratorio para su aplicación.

3.11.2 Figuras de mérito

Son los parámetros que caracterizan el desempeño de un método de análisis, son consideradas las siguientes características de fiabilidad: Rechazo de datos atípicos, Intervalo de trabajo, Prueba T-Student, Anova, límite de detección y límite cuantificación, Veracidad, Precisión, Robustez e Incertidumbre de la medición (Adarme, 2014).

3.11.2.1 Rechazo de datos atípicos. Un dato anómalo es un valor extremo que es considerado inusual en una muestra estadística, se apartan de los demás valores en la muestra, y cambian su promedio muestral y su desviación estándar. Las pruebas de datos anómalos estiman la probabilidad del evento que un dato tan extremo se originara por efecto del error aleatorio. Las pruebas más usuales de este tipo son la prueba de Dixon y las pruebas de Grubbs (Ahumada et al, 2023).

3.11.2.1.1 Prueba de Dixon. La prueba de Dixon evalúa si un dato en una muestra estadística (el más grande o el más pequeño) es anómalo, es útil cuando la muestra presenta un único dato anómalo en solo uno de los dos extremos de la serie (Ahumada et al, 2023).

3.11.2.1.2 Prueba de Grubbs. “En muchos casos una muestra estadística puede presentar dos datos anómalos en un mismo extremo, o dos anómalos cada uno en cada extremo, entre otras posibilidades” (Ahumada et al, 2023, p.12). Partiendo de un conjunto de datos se calcula el promedio de estos y su desviación estándar. Se calcula el valor t mínimo y máximo de los datos, donde los valores de t calculado y t tabulado se comparan para n mediciones y nivel de confianza deseado (Ardila, 2022).

3.11.2.2 Intervalo de trabajo. El intervalo de trabajo corresponde al conjunto de concentraciones del analito en la muestra dentro de las cuales el método permite obtener valores de medición confiables o adecuados para el propósito; al tratarse de un intervalo, se encuentra compuesto por un límite inferior o límite de cuantificación (LC) y un límite superior o máxima concentración que puede ser cuantificada (Ahumada et al, 2023, p.45).

3.11.2.3 Prueba T-Student. La distribución t de Student se utiliza para modelar las medias aritméticas de muestras estadísticas pequeñas que proceden de poblaciones con distribución normal. En esta prueba se pueden realizar comparaciones de la media de una muestra estadística contra un valor de referencia o contra la media aritmética de otra muestra estadística. Para hacer comparación entre las medias aritméticas con más de dos muestras estadísticas al tiempo se debe realizar un Análisis de Varianza (ANOVA) (Ahumada et al, 2023).

3.11.2.4 Análisis de varianza (ANOVA). El Análisis de Varianza (ANOVA) se utiliza para comparar varias medias muestrales a la vez. La hipótesis nula del ANOVA indica que todas las muestras estadísticas provienen de la misma población, con lo que todas las medias

poblacionales serían iguales entre sí. La hipótesis alternativa declara que hay diferencia estadísticamente significativa entre al menos dos de las medias de las poblaciones de las que provienen las muestras consideradas:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_K \quad H_1: \mu_i \neq \mu_j, \text{ para al menos una de las parejas } (i, j)$$

Donde

H_0 = hipótesis nula.

H_1 = hipótesis alternativa.

El ANOVA es una prueba de comparación de medias, pero se llama análisis de varianza, porque la hipótesis de que todas las muestras estadísticas provienen de la misma población se evalúa en función de la dispersión de los datos: Si las muestras estadísticas provienen de la misma población, la dispersión de los datos entre grupos debería ser similar a la dispersión de los datos dentro de los grupos. En el ANOVA las medidas de dispersión utilizadas son las sumas de cuadrados y los cuadrados medios (Ahumada et al, 2023).

3.11.2.5 Limite de detección (LOD) y límite de cuantificación (LOQ). El límite de detección se define como la cantidad mínima de analito detectable por un método bajo un nivel de confianza establecido y el límite de cuantificación es la cantidad mínima de analito que puede ser cuantificada bajo unos criterios de reproducibilidad aceptables con operaciones de rutina, es decir, que la precisión de los resultados tenga un desempeño satisfactorio (Ardila, 2022, p.33-34).

3.11.2.6 Veracidad. Veracidad de medición es una expresión de la proximidad de la media de un número infinito de resultados (producidos con el método) a un valor de referencia. Puesto que no es posible realizar un número infinito de mediciones, no se puede medir la veracidad. Sin embargo, podemos realizar una evaluación práctica de la veracidad. Por lo

general, esta evaluación se expresa cuantitativamente en términos de sesgo y porcentaje de recuperación (B. Magnusson, 2014).

3.11.2.6.1 Sesgo. “El sesgo se define como la diferencia entre el valor esperado de los resultados de prueba y un valor de referencia aceptado” (Ahumada et al, 2023, p.56).

3.11.2.6.2 Porcentaje de recuperación. La recuperación hace referencia a la relación entre la cantidad medida de analito y la cantidad conocida o añadida a la muestra, expresada como porcentaje; es decir, la recuperación hace referencia a la estimación del error sistemático y, al igual que para el caso del sesgo, la recuperación puede tener valores superiores al 100% (errores positivos) y valores inferiores al 100% (p.57).

3.11.2.7 Precisión. La precisión se expresa en términos de dispersión, generalmente por desviación estándar, desviación estándar relativa y depende de las condiciones en las que se ejecute el estudio, precisión intermedia y repetibilidad (Ahumada et al, 2023).

3.11.2.7.1 Precisión intermedia. La precisión en condiciones intermedias evalúa la dispersión de resultados entre ensayos mutuamente independientes utilizando el mismo método aplicado a la misma muestra, en el mismo laboratorio bajo diferentes condiciones: distintos operadores, diferente equipamiento o distintos días. Este parámetro hace referencia al grado de coincidencia o de variación de los resultados dentro del mismo laboratorio, pero en días distintos con analistas y equipos diferentes (Ahumada et al, 2023, p.49).

3.11.2.7.2 Repetibilidad. La precisión en condiciones de repetibilidad hace referencia a la variación del método en condiciones donde los resultados de medición son obtenidos sobre muestras de ensayo idénticas (alícuotas de una muestra suficientemente

homogénea), en el mismo laboratorio, por el mismo operador, utilizando el mismo equipo dentro de intervalos de tiempo cortos (p.49).

3.11.2.8 Robustez. La robustez de un método analítico es la capacidad que se tiene para reproducir el método en diversas circunstancias, sin que se presenten diferencias inesperadas o significativas en los resultados obtenidos. La evaluación de la robustez del método muestra el efecto de las variaciones sobre la precisión y veracidad del método en función de variables propias del método (Ahumada et al, 2023).

3.11.2.9 Incertidumbre de la medición. La incertidumbre es un intervalo asociado con un resultado de medida que expresa el intervalo de valores que razonablemente pueden atribuirse a la cantidad que se está midiendo. Una estimación de la incertidumbre debe tener en cuenta todos los efectos reconocidos que operan en el resultado. Las incertidumbres asociadas con cada efecto se combinan de acuerdo con procedimientos bien establecidos (B. Magnusson, 2014, p.38).

3.12 Blanco y matriz fortificados

El blanco y matriz fortificados de Laboratorio son las variables que evalúan la eficiencia de extracción del analito con el procedimiento que se está realizando, ya sea en un blanco de reactivos o en una muestra de rutina (Baird et al, 2017).

4. Metodología

Esta investigación se ha desarrollado a partir de la metodología planteada en la Norma Técnica Colombiana-NTC 370:2011, la cual contempla tres (3) modelos: el método A, Nitrógeno Total: nitrógeno amoniacal, nitrógeno nítrico, nitrógeno ureico y nitrógeno orgánico; el método B, Nitrógeno amoniacal, nitrógeno ureico y nitrógeno orgánico, también conocido como nitrógeno total kjeldahl y el método C, nitrógeno ureico.

Para el desarrollo experimental, cabe aclarar que no se contempló el método A y C de la NTC 370, ya que el método A sugiere la implementación de la aleación Devarda como reactivo reductor de las especies nitratos y nitritos a amoniacal. Dicha aleación se compone de una mezcla de cobre, aluminio y zinc por lo que el uso de estos metales genera más residuos contaminantes. Adicionalmente, los equipos utilizados en esta práctica experimental no están diseñados para soportar la aleación necesaria en el método A, como recomendación del proveedor.

En el caso del método C, la norma indica que se usa para cuando se conoce la composición de la muestra ya que el método no aplica en productos que contengan nitrógeno orgánico. Para el laboratorio químico de consultas industriales la utilización de este método conlleva a preguntar al cliente la composición de su abono en lo que la mayoría no aceptaría en revelar la fórmula si se quiere llevar dicho abono al mercado.

En consecuencia, el método pertinente empleado para el desarrollo de esta investigación fue el método B, también conocido como nitrógeno total kjeldahl: Determinación del nitrógeno amoniacal, orgánico y ureico. La implementación del método fue modificada con el fin de adaptarse a las condiciones del laboratorio, por lo que fue necesario realizar un criterio de evaluación de robustez.

El procedimiento experimental consistió en 3 etapas: la primera, de preparación de reactivos y muestras, en la que se homogeniza las muestras sólidas a partir de su consistencia y se preparan las soluciones y estandarizaciones necesarias para el desarrollo de la experimentación; la segunda, de determinación del porcentaje de nitrógeno y gramos de nitrógeno sobre litro, a partir del procedimiento experimental de cada especie nitrogenada y la tercera, de validación que permitió evidenciar por medio de las figuras de mérito y criterios de aceptación si el método cumple con los parámetros establecidos por el laboratorio.

Dentro de las consideraciones para la implementación experimental del nitrógeno amoniacal se usó el método B de la normativa NTC 370:2011 y la 4500-NH₃ B del Standard Methods. Otra particularidad es que se hizo una combinación de las normativas propuestas. Para ambos análisis se utilizó como matrices fertilizantes sólidos y líquidos.

Adicionalmente, se emplearon las unidades de digestión BUCHI K-424; Scrubber BUCHI B-414; Unidad de destilación BUCHI K-650 y se determinó el porcentaje de nitrógeno y los gramos de nitrógeno sobre litro presente por medio de una valoración directa ácido-base. Por último, se realizaron pruebas estadísticas para determinar las figuras de mérito y criterios de evaluación para realizar la validación de las especies nitrogenadas en las diferentes matrices.

4.1 Equipos y reactivos

4.1.1 Equipos

- Unidad de digestión BUCHI K-424
- Unidad de Scrubber BUCHI B-414
- Unidad de destilación BUCHI K-650
- Balanza analítica Mettler Toledo

4.1.2 Reactivos

- Ácido sulfúrico concentrado (Merck).
- Mezcla aceleradora: Pulverizar 20 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ con 480 g de Na_2SO_4 anhidro previamente pulverizado.
- Solución de NaOH al 30%: disolver 1 kg de Soda cáustica laminada en 3,3 L de agua destilada.
- Solución de ácido bórico al 4%: Pesar 40 g de ácido bórico en 1 L de agua destilada.
- Indicador rojo de metilo.
- Indicador azul de metileno.
- Solución estandarizada de ácido clorhídrico al 0,1 N: disolver 8,29 ml de HCl en 1 L de agua destilada.
- Solución NaOH 0,1 N: Pesar 4 g de NaOH y disolver en 1 L de agua destilada.
- Solución buffer de tetraborato de sodio: Adicionar 88 ml de solución NaOH al 0,1 N en 500 ml de solución de tetraborato de sodio ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$) al 0,025 M (9,5 g $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O/L}$) y diluir hasta 1 L.
- Carbonato de sodio (Na_2CO_3) al 99,9% de pureza.
- Urea Granulada ($\text{CH}_4\text{N}_2\text{O}$).
- Cloruro de Amonio (NH_4Cl).
- Patrón amoniacal ($\text{NH}_3\text{-N}$).

4.2 Estandarización de la solución HCl 0,1N

Para la estandarización del HCl al 0,1 N se realizó de la siguiente manera:

- Pesar 0,2 g de Na_2CO_3 y diluir en 10 ml de agua destilada. Realizar la medición por triplicado.

- Adicionar entre 4 a 5 gotas de rojo de metilo a la solución (debe virar a color amarillo).
- Realizar una valoración directa con el HCl previamente preparado.
- Anotar el volumen de HCl utilizado para virar de color (debe virar a color rojo).
- Calentar la solución en placa de calentamiento hasta las primeras burbujas de ebullición y observar si volvió a virar el color.
- En caso de cambio de color por el calentamiento, volver a titular y sumar la cantidad de HCl utilizado al volumen de HCl anotado previamente.
- Realizar los cálculos pertinentes a partir de la siguiente ecuación:

$$NHCl = \left(\frac{WNa_2CO_3 \times 99,9\% \text{ Pureza} \times 1000}{53 \times VHCl \times 100} \right) \quad (1)$$

Dónde:

N HCl = Normalidad de la solución de tiosulfato de sodio.

W Na₂CO₃ = Peso del Carbonato de sodio.

V HCl = Volumen de HCl gastado en la titulación.

4.3 Procedimiento experimental

4.3.1 Determinación del nitrógeno total en muestras sólidas

Para las muestras sólidas, se tomó un peso de muestra y se traspasó a un tubo de muestra BUCHI. Se adiciono un peso de mezcla catalizadora. Se adiciono un volumen de H₂SO₄ concentrado (Adicionar el ácido de manera lenta y controlada por las paredes del tubo de muestra). Ubicar los tubos de muestra en la unidad de digestión BUCHI K-424 previamente calentado y realizar el montaje descrito en el manual del equipo junto a la unidad de Scrubber BUCHI B-414. Dejar la muestra en calentamiento fuerte por quince minutos, bajar a temperatura media por dos horas aproximadamente o hasta que la solución tome un color verde o transparente. Dejar enfriar a temperatura ambiente. Calibrar la unidad de destilación BUCHI K-

650 según el manual del equipo y ajustar el equipo para el análisis que se va a realizar, para esto se debe determinar la cantidad de NaOH en exceso que se va a adicionar a la muestra, los cálculos deben desarrollarse a partir de la siguiente fórmula:

$$mL \text{ de } NaOH = \left(\frac{V_{H_2SO_4} \times \% \text{ Pureza de } H_2SO_4}{[NaOH]} \times 2 + \text{exceso} \right) \quad (2)$$

Dónde:

ml de NaOH = Cantidad de NaOH que se debe suministrar a la muestra.

V H₂SO₄ = Volumen de H₂SO₄ que se le adiciono a la muestra.

[NaOH] = concentración de NaOH preparada.

2 = #eq-g del H₂SO₄.

Exceso = Al resultado sumar entre diez a quince mililitros más de NaOH.

Se adicionó agua destilada al tubo de muestra para ayudar con la destilación y rápidamente se llevó a la unidad de destilación para evitar pérdidas de nitrógeno. Se preparo una solución receptora con H₃BO₃ y se adiciono rojo de metilo como indicador, el cual toma un color rojizo, ubicar la solución en la unidad de destilación e iniciar el proceso de destilado. La solución receptora cambia a color amarillo al recibir el destilado. Una vez obtenido el amoniaco se pasó a titular con HCl estandarizado. Registrar el volumen de titulante utilizado, la solución retoma al color rojizo. Por último, se realizó los cálculos pertinentes para determinar el porcentaje de Nitrógeno presente en la muestra, para ello seguir la siguiente ecuación:

$$\% N = \left(\frac{1,4 \times N_{HCl} \times V_{HCl}}{W_{muestra}} \right) \quad (3)$$

Dónde:

% N = Porcentaje de Nitrógeno.

$1,4 = \#eq-g$ de Nitrógeno.

$N HCl =$ Concentración del HCl.

$V HCl =$ Volumen de HCl gastado en la titulación.

W muestra = Peso de la muestra.

4.4 Determinación del nitrógeno total en muestras líquidas

Para muestras líquidas, se midió un volumen de muestra según consistencia de esta. Traspasar volumen a un tubo de muestra BUCHI. Adicionar un peso de mezcla catalizadora. Adicionar H_2SO_4 concentrado (Adicionar el ácido de manera lenta y controlada por las paredes del tubo de muestra). Ubicar los tubos de muestra en la unidad de digestión BUCHI-K424 y realizar el montaje descrito en el manual del equipo junto a la unidad de Scrubber BUCHI B-414. Dejar la muestra a calentamiento medio por una hora, aumentar a temperatura fuerte por quince minutos y bajar a temperatura media hasta completar las dos horas aproximadamente o hasta que la solución tome un color verde o transparente. Dejar enfriar a temperatura ambiente. Calibrar la unidad de destilación BUCHI K-650 según el manual del equipo y ajustar el equipo para el análisis que se va a realizar. Calibrar a partir de la ecuación 2. Adicionar agua destilada al tubo de muestra para ayudar con la destilación y rápidamente llevar a la unidad de destilación para evitar pérdidas de nitrógeno. Preparar una solución receptora con H_3BO_3 y se adiciono rojo de metilo como indicador, el cual toma un color rojizo, ubicar la solución en la unidad de destilación e iniciar el proceso de destilado. La solución receptora cambia a color amarillo al recibir el destilado. Obtenido el amoniaco pasar a titular con HCl estandarizado. Registrar el volumen de titulante utilizado, la solución retoma al color rojizo. Realizar los cálculos pertinentes para determinar los gramos de nitrógeno sobre litro presente en la muestra, para ello seguir la siguiente ecuación:

$$g N/L = \left(\frac{14 \times N_{HCl} \times V_{HCl}}{W_{muestra}} \right) \quad (4)$$

Dónde:

g N/L = Gramos de Nitrógeno sobre litro de muestra.

14 = Unidad de conversión.

N HCl = Concentración del HCl.

V HCl = Volumen de HCl gastado en la titulación.

W muestra = Peso de la muestra.

4.5 Determinación del nitrógeno amoniacal en muestras sólidas y líquidas

Para las muestras sólidas, se tomó un peso de muestra. Para muestras líquidas, se midió un volumen de muestra según consistencia de esta. Traspasar peso o volumen a un tubo de muestra BUCHI. Adicionar solución de buffer de Borato. Adicionar gotas de NaOH para aumentar el pH de la muestra. Adicionar agua destilada para las muestras sólidas. Llevar el tubo de muestra a la unidad de destilación BUCHI K-650 según el manual del equipo y ajustar el equipo para el análisis que se va a realizar (en este caso solo se realiza un destilado de la muestra por lo tanto no es necesario la adición de NaOH). Preparar una solución receptora con H_3BO_3 y empleando un indicador mixto adicionando rojo de metilo y azul de metileno formando una coloración morada, ubicar la solución receptora en la unidad de destilación e iniciar el proceso de destilado. Obtenido el amoniaco pasar a titular con HCl estandarizado. La solución en presencia de nitrógeno amoniacal vira a un color verde. Registrar el volumen de titulante utilizado (la solución retoma al color morado). Realizar los cálculos pertinentes para determinar el porcentaje de nitrógeno y los gramos de nitrógeno sobre litro presente en la muestra, siguiendo las ecuaciones 3 y 4 para cada matriz.

4.6 Validación

4.6.1 Rechazo de datos

Para el rechazo de datos se realizaron 5 ensayos a partir de dos muestras de concentraciones conocidas, estas pruebas se realizaron entre dos analistas. Se calculó la media aritmética o promedio (\bar{x}) y la desviación estándar de la muestra (S) descrita en la ecuación 5 y 6. Seguidamente se empleó la ecuación 7 para determinar el valor de T mínimo y máximo de Grubbs.

$$\bar{x} = \frac{\sum_{i=1}^n x_i}{n} \quad (5)$$

Dónde:

\bar{x} = Promedio.

$\sum_{i=1}^n x_i$ = Sumatoria de x valores.

n = Número de datos.

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n-1}} \quad (6)$$

Dónde:

S = Desviación estándar muestral.

$\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2$ = Es la suma de x valores menos el promedio elevado al cuadrado.

n = número de datos.

$$t = \frac{x - \bar{x}}{s} \quad (7)$$

Dónde:

X = Valor mínimo o máximo de los datos.

Una vez obtenido el t calculado se comparó con el t tabulado en la literatura para el nivel de confianza deseado y con n número de mediciones realizadas. Por lo tanto, si el t calculado es mayor al t tabla se considera que el dato es anómalo y debe corregirse.

4.7 Rango de trabajo

Se determinó el rango máximo de analito que se ha determinado en el histórico del laboratorio. Se utilizó una muestra de concentración conocida y se fortificó con urea granulada. Se realizaron 10 mediciones a las que obtenido el porcentaje de nitrógeno se determinó el porcentaje de recuperación descrito en la ecuación 8. Teniendo estos datos se determinó la desviación estándar (s) y el promedio (\bar{x}) de la ecuación 5 y 6. Se realizó la prueba t-student descrita en la ecuación 9 a los valores de porcentaje de recuperación.

$$\%R = \left(\frac{C_e - C_0}{C_a} \right) \times 100 \quad (8)$$

Dónde:

C_e = concentración experimental.

C_0 = concentración del blanco.

C_a = concentración teórica.

$$t_{\text{calc}} = \frac{100 - \bar{x}}{s \times \sqrt{n}} \quad (9)$$

Dónde:

\bar{x} = Promedio.

S = Desviación estándar muestral.

n = Número de datos.

De la misma manera que en el inciso 4.6.1 se realiza una comparativa entre el t cal con el t de tabla al nivel de confianza de deseado y los n datos utilizados. Por último, se determinó el

%CV de *Pearson* a partir de ecuación 10 en donde el valor determinado se debe encontrar en un valor $\leq 10\%$.

$$\%CV = \left(\frac{s}{\bar{x}}\right) \times 100 \quad (10)$$

4.8 Limite de detección y de cuantificación

Este parámetro está relacionado con la sensibilidad del método. El límite de detección (LDM) se define como la cantidad de analito presente que se deriva de la menor señal analítica que puede detectarse con certeza razonable.

$$LDM = \frac{(k \times S_B)}{m} \quad (11)$$

Dónde:

LDM = Limite de detección del método.

K = Nivel de confianza.

S_B = Desviación estándar de los blancos.

m = Pendiente proveniente de la curva de calibración.

Para que el límite de detección sea válido este debe ser menor al valor del primer patrón y al multiplicarlo por 10 debe ser mayor a este primer patrón.

$$LDM < C_{\min} < 10 * LDM \quad (12)$$

Donde

C_{min} = Concentración mínima

De Igual forma el límite de cuantificación se define como la cantidad mínima de analito que puede ser cuantificado a partir del método.

$$S'_0 = S_0 \sqrt{\frac{1}{n} + \frac{1}{n_b}} \quad (13)$$

Dónde:

S'_0 = Desviación estándar de los blancos.

S_0 = Desviación estándar de cada resultado.

n = Número de réplicas de muestra.

n_b = Número de réplicas del blanco.

$$\text{LCM} = k_Q * S'_0 \quad (14)$$

Dónde:

S'_0 = Desviación estándar de los blancos.

k_Q = Según IUPAC $k_Q = 10$.

Dicha concentración del límite de cuantificación debe ser verificada fortificando un blanco y debe realizarse el análisis mínimo 7 veces.

4.9 Veracidad

4.9.1 Sesgo

Se realizaron 6 mediciones a una muestra de concentración conocida a la que se le determinó el sesgo el cual se define como el valor de concentración experimental menos el valor teórico conocido ($x - x_a$). Se determinó el promedio (\bar{x}) y la desviación estándar de la muestra (S) para realizar la prueba t student descritos en la ecuación 9.

4.9.2 Porcentaje de recuperación

Se fortificaron tres muestras de concentraciones conocidas con urea granulada a la que se le determinó el porcentaje de recuperación. Se calculó los promedios y la desviación estándar de los porcentajes de recuperación y se realizó la prueba t-student como en el inciso 5.7. Teniendo los porcentajes de recuperación, se utilizó la herramienta análisis de datos en el software Microsoft Excel para realizar el análisis de varianza (ANOVA) con el fin de determinar si las

varianzas entre los conjuntos de datos son estadísticamente iguales. Para ello se procedió de la siguiente manera:

- Se selecciona la pestaña datos y se ingresa en la pestaña Análisis de datos.
- Se ingresa en la opción Análisis de varianza de un factor y se selecciona aceptar.
- Se coloca el rango de entrada que en este caso corresponde a los valores del porcentaje de recuperación calculados.
- Se ubica un rango de salida deseado es decir la casilla donde se guste ver los resultados.
- Se ingresa el valor del alfa en este caso de 0,05 correspondiente al nivel de confianza deseado y se selecciona aceptar.

Una vez obtenido el Análisis de varianza, se analiza el valor de F con respecto al valor de F crítico en donde $F < F_{\text{crítico}}$.

4.10 Precisión

4.10.1 Repetibilidad

A una misma muestra de concentración conocida se le determinó el porcentaje de recuperación y a partir de este se realizó el promedio y la desviación estándar para utilizar el %CV el cual debe estar en un rango $\leq 10\%$ como se indica en el inciso 4.7.

4.10.2 Precisión intermedia

Se tomaron tres muestras de concentraciones conocidas a las que se les fortifico con urea granulada. Se realizaron pruebas durante no menos de 3 días y no más de 7 entre dos analistas. Se calculó los promedios y la desviación estándar de los porcentajes de recuperación y se realizó la prueba t-student. Teniendo los porcentajes de recuperación, se utilizó la herramienta análisis de datos en el software Microsoft Excel para realizar el análisis de varianza (ANOVA) como se describe en el inciso 4.9.2.

4.11 Robustez

Para esta prueba se realizaron 16 pruebas experimentales para la misma muestra de concentración conocida entre las cuales 8 de estos se realizaron a partir del método normalizado bajo los lineamientos de la norma NTC 370:2011 (método 1) y los otros a partir del método modificado (método 2). Se determinó el porcentaje de recuperación y se realizó la prueba ANOVA como criterio de aceptación.

4.12 Incertidumbre

Para estimar la incertidumbre del método se identificaron las diferentes fuentes de incertidumbres inmersas dentro de la metodología.

Se identifican los componentes: Procedimiento (μ_{proc}): Está determinada por la precisión y trazabilidad (μ_{traz}): Está determinada por el sesgo.

Para esto se hizo uso de las siguientes ecuaciones:

$$\mu_{\text{proc}} = \sqrt{\left(\frac{S_r}{\sqrt{n_r}}\right)^2 + \left(\frac{S_R}{\sqrt{n_R}}\right)^2} \quad (15)$$

Dónde:

S_r = Desviación de la repetibilidad.

n_r = Número de muestras para la repetibilidad.

n_R = Numero de muestras de reproducibilidad.

S_R = Desviación de la reproducibilidad.

$$\mu_{\text{traz}} = \sqrt{\left(\frac{S_{\text{sesgo}}}{\sqrt{n_{\text{sesgo}}}}\right)^2 + \left(\frac{U_{MR}}{k}\right)^2} \quad (16)$$

Donde

S_{sesgo} = Desviación de sesgo.

n_{sesgo} = número de mediciones del sesgo.

U_{Mr} = Incertidumbre del material de referencia.

K = Factor de cobertura al 95% de confianza es = 2.

Una vez estimado al aporte de cada componente se determina la incertidumbre combinada:

$$\mu_c = \sqrt{\mu_{\text{proc}}^2 + \mu_{\text{traz}}^2} \quad (17)$$

Adicionalmente se debe expresar la incertidumbre expandida multiplicando la incertidumbre combinada por un factor de cobertura k , es aproximadamente 2, para un 95% de confiabilidad.

$$\mu_{\text{exp}} = k \times \mu_c \quad (18)$$

5. Resultados y discusión

En la siguiente sección se presentará de manera detallada los resultados con respecto a la determinación del nitrógeno total en fertilizantes sólidos. Para los resultados y discusiones de las determinaciones del nitrógeno total en fertilizantes líquidos y nitrógeno amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos, se encuentran registrados en el apéndice A con sus respectivas tablas y criterios de evaluación.

5.1 Estandarización de la solución de HCl al 0,1 N

Para determinar la concentración de la solución de HCl al 0,1 N, se hizo uso de la ecuación 1. Los resultados obtenidos se encuentran en la tabla 1.

Tabla 1

Resultados de la estandarización de la solución de HCl al 0,1 N.

ID	W Na ₂ CO ₃	V HCl	Normalidad HCl
1	0,2001	34,9	0,1081
2	0,1990	34,7	0,1081
3	0,2140	35,5	0,1136
Promedio			0,1099
S			0,0032
%CV			2,9102

Nota. Fuente: Autor

Haciendo uso de la ecuación 2 la cual hace referencia al %CV como criterio de aceptación, se determinó un alto grado de precisión en las mediciones realizadas. Esto se afirma ya que el criterio indica que el valor de %CV debe ser $\leq 10\%$. Después de ser evaluadas las concentraciones, se utiliza el promedio como concentración de HCl.

5.2 Rechazo de datos

Para el rechazo de datos se utilizaron dos muestras de concentraciones conocidas: rango bajo (RB) y rango alto (RA) a las cuales se realizaron 5 repeticiones entre dos analistas. Seguidamente se calculó el promedio y la desviación estándar a las concentraciones experimentales. Los resultados se encuentran tabulados en la tabla 2.

Tabla 2

Datos utilizados para la prueba estadística de Grubbs para nitrógeno total en fertilizantes sólidos por dos analistas.

Concentración de Nitrógeno (%N)	Tipo	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 4	Ensayo 5	Promedio (X)	Desviación estándar (S)
RB	analista 1-1	0,4407	0,4515	0,4485	0,4403	0,4549	0,4472	0,0065
	analista 2-1	0,4534	0,4526	0,4396	0,4368	0,4492	0,4463	0,0076
RA	analista 1-2	29,8053	29,8492	30,0073	29,8367	30,0179	29,9033	0,1011
	analista 2-2	29,9780	29,9814	29,8929	29,9225	30,0070	29,9564	0,0470

Nota. Fuente: Autor.

Teniendo el valor de los promedios y las desviaciones estándar se procedió a calcular la t baja calculada y la t alta calculada a partir de la ecuación 7. Los datos se encuentran reportados en la tabla 3.

Tabla 3

Resultados para la prueba estadística de Grubbs para nitrógeno total en fertilizantes sólidos por dos analistas.

Muestra	Valor min.	Valor Max.	T bajo calculado	T alto calculado	T tabla (95%)
Analista 1-1	0,4403	0,4549	1,0598	-1,1884	1,6720
Analista 2-1	0,4368	0,4534	1,2450	-0,9266	
Analista 1-2	29,8053	30,0179	0,9686	-1,1337	
Analista 2-2	29,8929	30,0070	1,3509	-1,0766	

Nota. Fuente: Autor.

Se determinó el estadístico T de Grubbs para rechazo de datos atípicos (T calculado < T tabla) en donde se revisó que el T calculado bajo y alto no superen el valor de T tabla al 95% de confianza. Por lo tanto, se afirma que durante la experimentación no se encontraron datos atípicos, se acepta la hipótesis nula y se rechaza la hipótesis alternativa.

5.3 Intervalo de trabajo

Para el rango de trabajo se determinaron los rangos máximos para el analito. Para esto se realizó una revisión del histórico del laboratorio realizando 10 mediciones de una muestra de concentración conocida. Se tomó en cuenta como criterio de aceptación el %CV de Pearson, utilizando la ecuación 10. Además, se hace uso de la prueba t-Student para determinar si la correlación es significativa con la probabilidad calculada. Los resultados se encuentran tabulados en la tabla 4.

Tabla 4

Intervalo de trabajo para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

FORTIFICACIÓN = %N 46,0000				S	t cal	t tabla	%CV
C _e	C _o	C _a	%R				
45,5901	0,0000	46,0000	99,1089	1,0476	0,0953	2,2280	1,0509
45,9236	0,0000	46,0000	99,8338				
45,8799	0,0000	46,0000	99,7389				
45,1309	0,0000	46,0000	98,1107				
45,3578	0,0000	46,0000	98,6039				
46,9337	0,0000	46,0000	102,0298				

46,1095	0,0000	46,0000	100,2381
45,9615	0,0000	46,0000	99,9164
45,8626	0,0000	46,0000	99,7013
45,7976	0,0000	46,0000	99,5600

Nota. Fuente: Autor.

Teniendo en cuenta el criterio de aceptación del %CV de Pearson el cual indica que el valor %CV debe ser se afirma que cumple con el criterio establecido dentro del laboratorio. Adicionalmente, se observa la evaluación estadística de prueba t-Student demostrando que el valor de t calculado es menor al t tabla por ende se acepta la hipótesis nula H_0 y se rechaza la hipótesis alternativa H_1 , indicando que existe una correlación con los datos.

5.4 Limite de detección y cuantificación

Como se mencionó en el inciso 4.8 se definió al límite de detección como la cantidad mínima de analito detectable por un método bajo un nivel de confianza establecido. Para esta investigación el límite de detección no fue tomado en cuenta debido a que está relacionado con la sensibilidad del equipo por lo cual no se hace trascendente la evaluación de la metodología; por otra parte, el límite de cuantificación se define como la cantidad mínima de analito que puede ser cuantificada bajo unos criterios de reproducibilidad aceptable con operación de rutina. Esto se refiere a que es el valor cuantificable a partir del método. Por esta razón se tuvo en cuenta el criterio de evaluación para el LCM.

Tabla 5

Resultados obtenidos para el LMC de la determinación del nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

Fortificación	0,0140 (%N)
Fortificado	Concentración
BF-1	0,0142

BF-2	0,0141
BF-3	0,0141
BF-4	0,0142
BF-5	0,0143
BF-6	0,0143
BF-7	0,0143
BF-8	0,0140
BF-9	0,0142
BF-10	0,0142
Promedio	0,0142
S	0,0001
%CV	0,8203

Nota. Fuente: Autor.

Se llevó a cabo la medición de 10 fortificados, los cuales se encuentran consignados en la tabla 5. Mediante estos valores, se determinó la desviación estándar y se calculó el LCM, en donde se acepta el criterio de aceptación a partir del $\%CV \leq 10 \%$ y se acepta dentro del parámetro del laboratorio.

5.5 Veracidad

5.5.1 Sesgo

Se realizaron 6 mediciones a partir de un analito de concentración conocida. Se determinó el promedio y la desviación estándar. Seguidamente, se determinó el sesgo como se indica en el inciso 4.9.1. Se determinó el valor de t calculado para el sesgo comparándolo con el t de tabla. Los resultados se encuentran en la tabla 6.

Tabla 6

Datos y resultados para la determinación del sesgo para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

SESGO							
Lectura	Resultado (%N)	X - X _a	X _a	Promedio	S	t calculado	t tabla (95%)
1	45,9236	-0,0764	46,0000	46,1118	0,4122	0,1107	2,5710

2	45,8799	-0,1201
3	46,9337	0,9337
4	46,1095	0,1095
5	45,9615	-0,0385
6	45,8626	-0,1374

Nota. Fuente: Autor.

Se evidencia que el t cal es menor al t de tabla, por tal razón se acepta la hipótesis nula asumiendo así que no hay sesgo significativo.

5.5.2 Porcentaje de recuperación

El porcentaje de recuperación se evaluó a partir de tres niveles de concentración: rango bajo (RB), rango medio (RM) y rango alto (RA) con respecto al intervalo de trabajo descrito anteriormente. Se realizaron 7 ensayos sin superar un intervalo de cuatro días de realización de análisis. Seguidamente se evaluó los t calculados contra los t de tabla. Los resultados se encuentran en la tabla 7.

Tabla 7

Datos para evaluación del porcentaje de recuperación de rango bajo para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

FORTIFICACIÓN=%N 0,4500							
Lectura	C _e	C _o	C _a	%R	S	t cal	t tabla
1	0,4391	0,0000	0,4500	97,5707			
2	0,4515	0,0000	0,4500	100,3361			
3	0,4485	0,0000	0,4500	99,6661			
4	0,4403	0,0000	0,4500	97,8435	1,5002	0,1725	2,5710
5	0,4549	0,0000	0,4500	101,0956			
6	0,4407	0,0000	0,4500	97,9412			
7	0,4534	0,0000	0,4500	100,7544			
S conc =	0,0068		Promedio =	99,3154			
%CV =	1,5106		n =	7			

Nota. Fuente: Autor.

Se comparó el valor de t calculado determinado a partir de la ecuación 9 respecto al t tabla. Se afirma que los datos estadísticamente no son diferentes por lo tanto son veraces. El %R siguiendo los lineamientos de la guía de requisitos de desempeño del Método Estándar debe estar dentro del rango de 95% - 105% (“Appendix F,”2016); No obstante, se optó por asumir los rangos por criterios de aceptación del laboratorio a partir de 90-120% debido a que las muestras analíticas de manera rutinaria se encuentran de consistencia heterogénea lo que dificulta su medición.

Tabla 8

Datos para evaluación del porcentaje de recuperación de rango medio para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

FORTIFICACIÓN=%N		12,0000					
Lectura	C_e	C_o	C_a	%R	S	t cal	t tabla
1	11,9111	0,0000	12,0000	99,2593			
2	12,0720	0,0000	12,0000	100,5998			
3	11,9066	0,0000	12,0000	99,2218			
4	12,0651	0,0000	12,0000	100,5426	0,6139	0,0668	2,5710
5	12,0497	0,0000	12,0000	100,4141			
6	11,9703	0,0000	12,0000	99,7526			
7	11,934	0,0000	12,0000	99,4500			
S conc.	0,0737		Promedio =	99,8914			
%CV	0,6146		n =	7			

Nota. Fuente: Autor.

Se comparó el valor de la t calculada respecto a la t tabla. Se afirma que los datos estadísticamente no son diferentes por lo tanto son veraces. El %R debe estar dentro del rango de 90% - 120%.

Tabla 9

Datos para evaluación del porcentaje de recuperación de rango alto para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

FORTIFICACIÓN=%N 30,0000							
Lectura	C_e	C_o	C_a	%R	S	t cal	t tabla
1	29,8053	0,0000	30,0000	99,3511			
2	29,8492	0,0000	30,0000	99,4972			
3	30,0073	0,0000	30,0000	100,0242			
4	29,8367	0,0000	30,0000	99,4558	0,5660	0,0998	2,5710
5	30,0179	0,0000	30,0000	100,0597			
6	29,8788	0,0000	30,0000	99,5960			
7	30,2910	0,0000	30,0000	100,9700			
S conc.	0,1698		Promedio =	99,8505			
%CV	0,5668		n =	7			

Nota. Fuente: Autor.

Se realizó el mismo procedimiento anterior de los rangos bajos y medios donde se comparó el valor de t calculado respecto al t tabla. Se afirma que los datos estadísticamente no son diferentes, por lo tanto, son veraces. El %R debe estar dentro del rango de 90% - 120%.

Una vez tabulados los datos, se procedió a realizar un análisis de varianza de un solo factor (ANOVA), a partir de los porcentajes de recuperación de los rango bajo, medio y alto, con el fin de evaluar si las varianzas entre el conjunto de datos son estadísticamente iguales. En la tabla 10 se organizaron los datos de porcentaje de recuperación de cada uno de los niveles de concentración determinados anteriormente.

Tabla 10

Datos para la determinación de ANOVA para nitrógeno total en fertilizantes sólidos bajo la figura de mérito de veracidad.

Ensayo	Rango bajo	Rango medio	Rango alto
1	97,5707	99,2593	99,3511
2	100,3361	100,5998	99,4972
3	99,6661	99,2218	100,0242
4	97,8435	100,5426	99,4558
5	101,0956	100,4141	100,0597
6	97,9412	99,7526	99,5960
7	100,7544	99,4500	100,9700
Promedio	99,3154	99,8914	99,8506
Desviación Estándar	1,5002	0,6139	0,5660

Nota. Fuente: Autor.

Una vez teniendo los datos organizados del porcentaje de recuperación de cada uno de los rangos, se procedió a realizar el análisis de varianza de un solo factor obteniendo los resultados de la tabla 11. Para esto se hizo uso de la herramienta análisis de datos en el software Microsoft Excel, según la fórmula referida en apartado teórico de esta investigación.

Tabla 11

Análisis de varianza de un solo factor para nitrógeno total en fertilizantes sólidos bajo la figura de mérito de veracidad.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Rango bajo	7	695,2077	99,3154	2,2506
Rango medio	7	699,2401	99,8914	0,3769
Rango alto	7	698,9541	99,8506	0,3203

Nota. Fuente: Autor

La tabla 11 contiene el resumen de los promedios y varianzas de los datos de la tabla 10, esto es necesario para obtener los datos de la tabla 12 descrita a continuación.

Tabla 12

Análisis de varianza para nitrógeno total en fertilizantes sólidos bajo la figura de mérito de veracidad.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,4466	2	0,7233	0,7361	0,4929	3,5546
Dentro de los grupos	17,6870	18	0,9826			
Total	19,1336	20				

Nota. Fuente: Autor

Teniendo el análisis de varianza, se analiza los resultados obtenidos del valor de F y F crítico, donde F debe ser menor al F crítico. En consecuencia, se acepta el criterio de aceptación, corroborando que las varianzas son estadísticamente iguales y que no existen diferencias significativas, además los datos son veraces, por lo que se acepta la hipótesis nula H_0 con una probabilidad $> 0,05$ y se rechaza la hipótesis alternativa H_1 .

5.6 Precisión

5.6.1 Repetibilidad

Se realizaron 10 réplicas utilizando el valor de los blancos fortificados de concentración conocida, estos datos se encuentran reportados en la tabla 13. Para evaluar la repetibilidad se determinó el porcentaje de recuperación de los blancos y se tuvo en cuenta el %CV de *Pearson* como criterio de aceptación en donde este valor no debe superar el 10%.

Tabla 13

Datos y resultados para evaluar la repetibilidad del método para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

Fortificación	0,3000	%N
Muestra	Concentración	%R
1	0,2955	98,5147
2	0,3006	100,1993
3	0,3071	102,3716
4	0,3060	101,9856
5	0,2999	99,9672
6	0,3038	101,2798
7	0,3100	103,3429
8	0,3085	102,8369
9	0,3048	101,6008
10	0,3008	100,2641
Promedio		0,3037
Desv. Estandar		0,0045
%CV		1,4734
Promedio %R		101,2363

Nota. Fuente: Autor.

A partir del %CV se afirma que la repetibilidad cumple con el criterio de aceptación $\leq 10\%$.

5.6.2 Precisión intermedia

Se realizó la cuantificación de tres muestras de concentración conocida: rango bajo (RB), rango medio (RM) y rango alto (RA). Se realizaron 7 ensayos en diferentes días en donde la diferencia entre días consecutivos no superó los 7 días y no menos de 3. Los datos se encuentran reportados en la tabla 14.

Tabla 14

Datos para evaluar la precisión intermedia para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

Concentración Nitrógeno (%N)	Tipo	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3	Ensayo 4	Ensayo 5	Ensayo 6	Ensayo 7	Promedio (X)	Desviación estándar (S)
RB	Analista 1-1	0,4391	0,4515	0,4485	0,4403	0,4549	0,4407	0,4534	0,4469	0,0068
	Analista 2-1	0,4534	0,4526	0,4396	0,4368	0,4492	0,4491	0,4410	0,4460	0,0067

RM	Analista 1-2	11,9111	12,0720	11,9066	12,0651	12,0497	11,9703	11,9340	11,9870	0,0737
	Analista 2-2	11,9422	12,0095	11,9709	12,0239	12,1067	12,0316	11,9070	11,9988	0,0657
RA	Analista 1-3	29,8053	29,8492	30,0073	29,8367	30,0179	29,8788	30,2910	29,9552	0,1698
	Analista 2-3	29,8866	30,0834	30,0887	29,7969	30,0009	29,9273	29,9918	29,9679	0,1057

Nota. Fuente: Autor

Teniendo los promedios y las desviaciones estándar de las muestras de concentración conocidas, se procedió a calcular el porcentaje de recuperación a partir de la ecuación 8 con el fin de realizar el ANOVA. Los porcentajes se encuentran tabulados en la tabla 15.

Tabla 15

Porcentaje de recuperación de los analistas para las 3 muestras de concentración conocidas RB, RM y RA para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

	%R	
	Analista 1	Analista 2
0,4500	97,5707	100,7544
	100,3361	100,5747
	99,6661	97,6874
	97,8435	97,0681
	101,0956	99,8230
	97,9412	99,8033
	100,7544	98,0000
	99,2593	99,5183
12,0000	100,5998	100,0796
	99,2218	99,7572
	100,5426	100,1993
	100,4141	100,8888
	99,7526	100,2637
	99,4500	99,2250
	99,3511	99,6218
30,0000	99,4972	100,2779
	100,0242	100,2955
	99,4558	99,3232

100,0597	100,0029
99,5960	99,7577
100,9700	99,9728

Nota. Fuente: Autor

Una vez obtenidos los porcentajes de recuperación, se procedió a realizar el ANOVA.

Datos obtenidos en la tabla 16.

Tabla 16

Análisis de varianza de un factor para nitrógeno total en fertilizantes sólidos bajo la figura de mérito de precisión.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista 1	21	2093,4018	99,6858	0,9567
Analista 2	21	2092,8946	99,6616	0,9566

Nota. Fuente: Autor

La tabla 16 contiene el resumen de los promedios y varianzas de los datos de la tabla 15, esto es necesario para obtener los datos de la tabla 17 descrita a continuación.

Tabla 17

Análisis de varianza para nitrógeno total en fertilizantes sólidos bajo la figura de mérito de precisión.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0061	1	0,0061	0,0064	0,9366	4,0847
Dentro de los grupos	38,2651	40	0,9566			
Total	38,2712	41				

Nota. Fuente: Autor.

Teniendo el análisis de varianza, se analiza los resultados obtenidos del valor de F y F crítico, donde F debe ser menor al F crítico. En consecuencia, se acepta el criterio de aceptación, corroborando que las varianzas son estadísticamente iguales y que no existen diferencias significativas, además los datos son veraces, por lo que se acepta la hipótesis nula H_0 con una probabilidad $> 0,05$ y se rechaza la hipótesis alternativa H_1 .

5.7 Robustez

La robustez indica si un procedimiento analítico sufre afectaciones o cambios por pequeñas variaciones. En el caso de la investigación propuesta, la metodología se basó en la normativa NTC 370, en donde hubo modificaciones en los métodos propuestos. Por ello, la robustez se llevó a cabo realizando una comparativa entre el método normalizado (método 1) y el método in-house (método 2). Se realizó, la cuantificación a una muestra de concentraciones conocidas haciendo uso de 8 ensayos por cada método. Los resultados se encuentran en la tabla 18.

Tabla 18

Evaluación de robustez para nitrógeno total en fertilizantes sólidos.

Patrón (%N)	Valores primarios (%N)		%R	
	Método 1	Método 2	Método 1	Método 2
30,0000	29,7982	29,8369	99,3272	99,4562
	30,3701	29,7540	101,2336	99,1800
	29,6964	30,5052	98,9881	101,6840
	29,7635	30,0696	99,2117	100,2319
	30,2735	30,5052	100,9117	101,6840
	30,0846	30,0010	100,2820	100,0032
	29,7257	29,8498	99,0856	99,4994
	30,2886	29,9427	100,9619	99,8092

Nota. Fuente: Autor.

Seguidamente se calculó el porcentaje de recuperación y a partir de este se realizó el análisis de ANOVA. Los datos se encuentran tabulados en la tabla 19.

Tabla 0

Análisis de varianza de un factor para nitrógeno total en fertilizantes sólidos bajo la figura de mérito de robustez.

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Método 1	8	800,0019	100,0002	0,8988
Método 2	8	801,5478	100,1935	0,9544

Nota. Fuente: Autor.

La tabla 19 contiene el resumen de los promedios y varianzas de los datos de la tabla 18, esto es necesario para obtener los datos de la tabla 20 descrita a continuación.

Tabla 19

Análisis de varianza para nitrógeno total en fertilizantes sólidos bajo la figura de mérito de robustez.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,1494	1	0,1494	0,1612	0,6941	4,6001
Dentro de los grupos	12,9729	14	0,9266			
Total	13,1222	15				

Nota. Fuente: Autor.

Teniendo el análisis de varianza, se analiza los resultados obtenidos del valor de F y F crítico, donde F debe ser menor al F crítico. En consecuencia, se acepta el criterio de aceptación, corroborando que las varianzas son estadísticamente iguales y que no existen diferencias significativas, además los datos son veraces, por lo que se acepta la hipótesis nula H_0 con una probabilidad $> 0,05$ y se rechaza la hipótesis alternativa H_1 .

5.8 Incertidumbre

Para estimar la incertidumbre se hizo uso de las ecuaciones 15, 16 y 17. Obteniendo los resultados de la tabla 21.

Tabla 20

Resultados del análisis de la estimación de la incertidumbre.

Incertidumbre Final en términos absolutos	
K =	2,0000
$U_{\text{masa}}^2 =$	3,39E-07
$U_{\text{trazabilidad}}^2 =$	2,24E-05
$U_{\text{procedimiento}}^2 =$	9,89E-16
$U_{\text{combinada}} =$	0,0048
U=	0,0100 %N

Nota. Fuente: Autor.

Durante la estimación de la incertidumbre se identificaron tres principales fuentes: la incertidumbre generada por la masa de la muestra U_{masa} . Para este procedimiento se tuvo en cuenta las condiciones de la balanza y su incertidumbre aportado por el certificado de calibración; incertidumbre de trazabilidad aportada por el material de referencia $U_{\text{trazabilidad}}$ y $U_{\text{procedimiento}}$ que lo define la precisión del método en este caso la repetibilidad aportada por el límite de cuantificación otorgando la mayor probabilidad de error al ser una concentración menor.

Una vez identificadas las fuentes de incertidumbre se estimó el valor de incertidumbre global con un factor de cobertura $K = 2$ para un nivel de confianza al 95% obteniendo que la incertidumbre del método es igual 0,0100 %N.

6. Conclusiones

Se determinaron las figuras de mérito aplicadas al método, tales como: exactitud, precisión, límite de cuantificación robustez e incertidumbre aplicando pruebas estadísticas cumpliendo con criterios de aceptación propuestos por el laboratorio.

Para cada una de las especies nitrogenadas se determinó el intervalo de trabajo y el Límite de cuantificación del método (LCM) en las diferentes matrices a partir de reactivos de grado analítico. Esta evaluación cumple con los criterios de aceptación establecidos por el laboratorio químico de consultas industriales para las variables: %CV (<10%), $t_{cal} < t_{tabla}$ y %R (90-120%).

Se realizó una robustez a partir de una comparativa del método normalizado y la metodología in-house utilizando la prueba estadística análisis de varianza (ANOVA) en donde se concluye que si $F < F_{critico}$ cumple con el criterio de aceptación identificando que las varianzas son estadísticamente iguales, no existe una diferencia significativa y los datos son veraces.

Finalmente, a partir de los resultados evaluados se demostró que la metodología propuesta basada en la normativa colombiana NTC 370:2011 y la 4500-NH₃ B del Standar Methods para la determinación del nitrógeno total y amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos cumplen con los criterios de aceptación del laboratorio por lo que se concluye que la metodología es válida, reproducible y apta para su uso.

Referencias Bibliográficas

- Adarme, C. (2014). *Validación e implementación de la metodología para la determinación de plomo en textiles y calzado por electrofotometría de absorción atómica horno de grafito*. (Tesis de pregrado). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Ahumada, D., Abella, J., González, I., Paredes, C. (2023). *Validación de métodos en análisis químico cuantitativo*. Instituto Nacional de Metrología de Colombia.
- Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements. (2016). *AOAC Official Methods of Analysis*
- Araya, H., Beecher, G., Burlingame, B., Chateaufneuf, R., Cotier, J., Davis, C., Saturnino, P., Gattas, V., Holden, J., Kastenmayer, P., Masson, L., Monro, J., Moron, C., Olivares, S., Pak, N., Rodriguez, D., Romero, N., Shejtman, A., Schubert, A ... Zacarias, I. *Producción y manejo de datos de composición química de alimentos en nutrición*. FAO.
- Ardila, A. (2022). *Verificación de métodos fisicoquímicos para análisis de fenoles totales en matrices de agua superficial y residual doméstica y no doméstica en la empresa control y gestión ambiental SAS* (tesis de pregrado). Universidad Industrial de Santander, Bucaramanga, Colombia.
- Baird, R., Eathon, A., Rice, E. (2017). *Standard Methods for the examination of water and wastewater*. Washington DC: Editorial Board.
- Benimeli, M., Plasencia, A., Corbella, R., Guevara, D., Sanzano, A., Sosa, F., Fernández, J. (2019). Nitrógeno del suelo. *Universidad Nacional de Tucumán*, p.3.
- Bremner, J. (1996). Nitrogen total. Editorial SSSA book series.

B. Magnusson and U. Örnemark (eds.) Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods – A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics, (2 nd ed. 2014). ISBN 978-91-87461-59-0. Available from www.eurachem.org .

Catillo, L. (1989). Determinación del nitrógeno total. *Editorial ICA*, 22-23, Recuperado de <http://hdl.handle.net/20.500.12324/20225>

Ciampitti, I., García, F. (2008). Balance y eficiencia de uso de los nutrientes en sistemas agrícolas. *Accassuso*, p. 1-2.

Cruz, D., Peña, E., Vásquez, M., Villegas, C. (2019). *Nitrógeno ¿Elemento esencial? Importancia en la Química de los Productos Naturales*. Naturaleza y Tecnología.

Determinación del nitrógeno por el método Kjeldahl. (2009). *PanReac Applichen*, p. 1-3.

El reactivo de Nessler. (2024). *Adbaquim SAS*.
<https://www.adbaquim.com/productos/reactivos/reactivo-de-nessler#:~:text=El%20m%C3%A9todo%20consiste%20en%20que,aumenta%20la%20concentraci%C3%B3n%20de%20amon%C3%ADaco>

Espinoza, M., León, Y., Rodríguez, X. (2013, junio). Problemática de la determinación de especies nitrogenadas nitrógeno total y amoniacal en agua residuales. *CENIC Ciencias químicas*, (44), p.3.

García, P., Ruano, S., Lucena, J., Nogales, M. (2009). *Guía práctica de la fertilización racional de los cultivos en España*. Ministerio del medio ambiente y medio rural marino.

Laboratorio Carlsberg. (1883). Kjeldahl: Neue methode zur Bestimmung sehlag. *Laboratorio Carlsberg Copenhagen*, 336-367.

- Meléndez, F., Hernández, R., Piedra, g. (2017). *Química Agrícola*. Universidad estatal a distancia.
- Navarro, G., Navarro, S. (2014). *Fertilizantes química y acción*. Madrid España: Editorial Mundi prensa.
- Navarro, S., Navarro, G. (2003). *Química agrícola el suelo y los elementos químicos esenciales para la vida vegetal*. Mundi prensa.
- Nicado, E., Corral, A., Santana, L., Torres, J., Quiñonez, M., Florez, J. (2023). Empleo del software RStudio para la validación analítica Pb en suelo urbano. *Cultura ciencia y tecnología*, 20(3), 19.
- Norma Técnico Colombiana. (2011). *Abonos o fertilizantes determinación de nitrógeno total*. NTC 370. <https://tienda.icontec.org/gp-abonos-o-fertilizantes-determinacion-del-nitrogeno-total-ntc370-2011.html>
- Norma Técnico Colombiana. (1997). *Abonos o fertilizantes. Método cuantitativo para la determinación del nitrógeno amoniacal por titulación previo tratamiento con formaldehído*. NTC 4150. <https://tienda.icontec.org/gp-abonos-o-fertilizantes-metodo-cuantitativo-para-la-determinacion-del-nitrogeno-amoniacal-por-titulacion-previo-tratamiento-con-formaldehido-ntc4150-1997.html>
- Rodríguez, A. (2013). *Estandarización y validación interna de la metodología analítica para la determinación de selenio en aguas y suelos por espectrofotometría de absorción atómica generación de hidruros HGAAS*. [Tesis de grado, Universidad industrial de Santander], Repositorio de la UIS. <https://noesis.uis.edu.co/home>

Apéndices

Apéndice A. Tablas de validación del nitrógeno total en fertilizantes líquidos y nitrógeno amoniacal en fertilizantes sólidos y líquidos.

Los apéndices están adjuntos y pueden visualizarse en la base de datos de la biblioteca UIS.