

# VALIDACIÓN E IMPLEMENTACIÓN DE UNA METODOLOGÍA PARA LA DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO TOTAL EN SUELOS Y SEDIMENTOS SEGÚN ISO 14235:1998

Carlos Ramos Contreras<sup>1</sup>, Irina Ramos Contreras<sup>2</sup>, Claudia Naranjo Jaramillo<sup>3</sup>,  
Francisco Molina Pérez<sup>4</sup>

<sup>1</sup> Químico, MSc. Ing. Ambiental, Coordinador del SGC, cadracon@gmail.com

<sup>2</sup> Químico, Coordinadora de laboratorio Área de Físicoquímicos e Instrumental, imracon@gmail.com

<sup>3</sup> Química Farmacéutica, Analista química, cmnj24@gmail.com

<sup>4</sup> Doctor en Ingeniería, Director técnico de laboratorio, fmolina3105@gmail.com

Laboratorio de Grupo de Gestión y Modelación Ambiental GAIA, Facultad de Ingeniería, Universidad de Antioquia

## RESUMEN

La cuantificación de carbono orgánico total (COT) en sedimentos y suelos constituye una herramienta para evaluar el contenido de materia orgánica en estos sistemas. En este trabajo se propone verificar la aptitud de uso de la metodología de análisis espectrofotométrico con oxidación sulfocrómica descrita en la Norma ISO 14235:1998 con modificaciones relacionadas a condiciones de digestión, y su aplicabilidad para el análisis de muestras de este tipo de matrices en el laboratorio del Grupo de investigación en Gestión y Modelación Ambiental (GAIA) de la Universidad de Antioquia. La validación se realiza determinando los siguientes parámetros: linealidad, rango de trabajo, límites de detección y cuantificación, exactitud y precisión (como repetibilidad y precisión intermedia). Los resultados evidencian que existe un efecto matriz significativo ( $\alpha=0.05$ ) para el caso de las muestras de suelo, el rango lineal obtuvo se estableció entre 2.0- 10.0 mg C, detectando desde 0.4mgC con un buen ajuste ( $r^2 > 0.995$ ) los coeficientes de variación se encontraron dentro del rango esperado para los niveles de concentración analizadas (< 5%). Las recuperaciones obtenidas con material de referencia certificado (SRM-1944) fueron aceptables (102-109%). Lo anterior permite concluir que la metodología en estudio se puede utilizar para el análisis de COT en suelos y sedimentos de manera confiable.

**Palabras clave:** Carbono orgánico Total, Validación, sedimento marino, lacustre, suelo.

Recibido: 09 de Junio de 2015. Aceptado: 08 de Octubre de 2015

Received: June 09th, 2015 Accepted: October 08th, 2015

## VALIDATION AND IMPLEMENTATION OF A METHODOLOGY FOR THE DETERMINATION OF TOTAL ORGANIC CARBON IN SOILS AND SEDIMENTS ACCORDING TO ISO 14235:1998

### ABSTRACT

*Total organic carbon (TOC) quantification in sediments and soils samples is a tool to evaluate the organic matter content in these matrixes. This study aims to verify the fitness for use of the methodology for spectrophotometric analysis by sulphochromic oxidation described in ISO 14235: 1998 with adjustments related to digestion conditions, and its applicability to the analysis of samples of such matrices in the GAIA Research Group Laboratory of University of Antioquia. The validation was performed by determining the following parameters: linearity, working range, detection and quantification limits, accuracy and precision (repeatability and intermediate precision). Results show a significant matrix effect ( $\alpha= 0.05$ ) for soil samples analysis, the measurement range was established between 2.0 – 10 mg C, with a detection limit of 0.4 mg C and good linear fitness ( $r^2 > 0.995$ ). Coefficients of variation ranged between the expected values for the concentration levels tested (<5%). The recoveries obtained using certified reference material (SRM-1944) were acceptable (102-109%). This leads to conclude that the studied methodology can be used for analysis of TOC in soil and sediment reliably.*

**Keywords:** Total organic carbon, validation, marine sediment, lake sediment, soil.

*Cómo citar este artículo:* C. Ramos, I. Ramos, C. Naranjo y F. Molina, "Validación e implementación de una metodología para la determinación de carbono orgánico total en suelos y sedimentos según ISO 14235:1998," *Revista Politécnica*, vol. 11, no. 21, pp. 9-17, 2015.

## 1. INTRODUCCIÓN

La materia orgánica está ampliamente distribuida sobre la superficie terrestre y los ambientes acuáticos, presentándose en casi todos los ambientes [1].

Los suelos y sedimentos contienen una gran variedad de materiales orgánicos cuya composición varía entre azúcares sencillos y carbohidratos hasta proteínas complejas, grasas, ceras y ácidos orgánicos [2].

La presencia de estas sustancias en el suelo o sedimento confiere importantes características entre las cuales están la capacidad de formar complejos hidrosolubles o no con iones metálicos u óxidos hidratados, interacción con arcillas y adsorción química de sustancias las cuales afectarían su disponibilidad [3].

El carbono orgánico total (COT) es utilizado como una medida indirecta de la cantidad de materia orgánica presente en las matrices ambientales. La mayoría de las metodologías para la cuantificación de COT implican destrucción de la muestra vía química o por calentamiento a elevadas temperaturas. Estos métodos pueden ser cuantitativos o semi-cuantitativos dependiendo de los procesos usados para la destrucción y la detección [4].

Algunos factores a considerar a la hora de seleccionar un método de análisis son facilidad de uso, nivel de bioseguridad, costos, cantidad de muestra necesaria y trazabilidad a metodologías estándar.

La metodología descrita en la norma internacional ISO 14235:1998 está fundamentada en el método Walkley-Black. En la cual, el COT presente en la muestra se oxida en una mezcla de solución de dicromato de potasio (en exceso) y ácido sulfúrico a una temperatura de 135 °C. Los iones dicromato, se reducen a iones  $\text{Cr}^{3+}$  cuya absorbancia es cuantificada espectrofotométricamente a una longitud de onda de 585nm (Fig. 1). [5].

Dada la creciente necesidad de obtener datos confiables en los ensayos realizados a matrices complejas, es necesario cumplir estándares de calidad descritos principalmente por la NTC/ISO:17025, lo cual en primera instancia

implicaría la validación de las metodologías analíticas[6].

Es así que el presente trabajo tiene como objetivo la estandarización, validación e implementación de la metodología mencionada con algunas modificaciones relacionadas con la temperatura y el tiempo de digestión, utilizando los parámetros de linealidad, rango de trabajo, límites de detección y cuantificación, precisión y exactitud

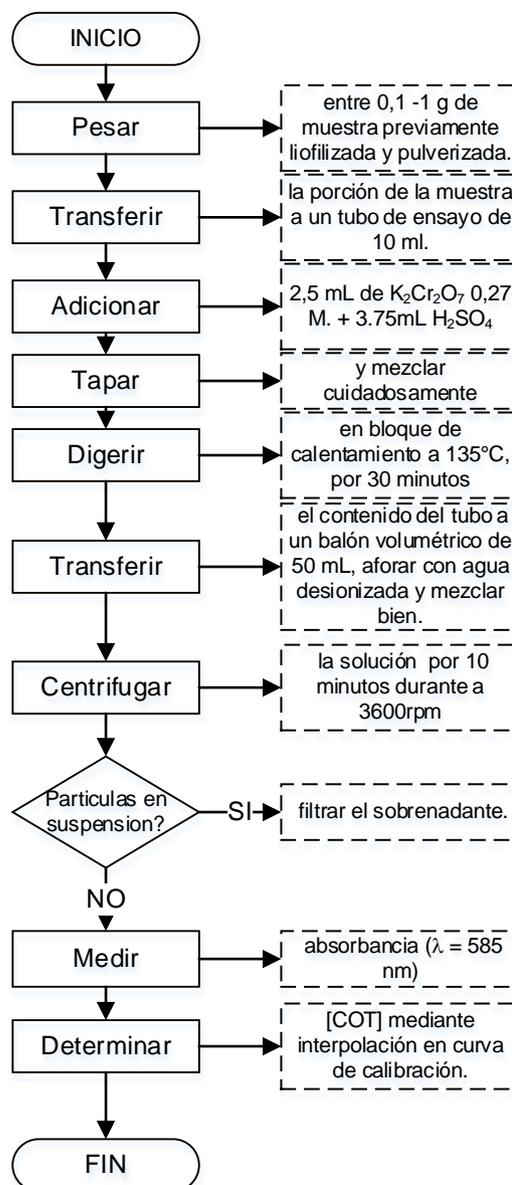


Fig. 1. Marcha analítica para la determinación de COT de acuerdo con ISO 14235:1998.

## 2. METODOLOGÍA

### 2.1 Materiales y equipos

Las curvas de calibración del COT se prepararon utilizando soluciones patrón a partir de Glucosa grado analítico marca Sigma Aldrich, los controles analíticos se ejecutaron con solución patrón preparada a partir de ftalato ácido de potasio trazable a NIST.CertiPur Merck. Se utilizó material de referencia certificado SRM 1944, suministrado por National Institute of standards and technology (NIST). Los demás reactivos utilizados cumplen con grado analítico.

El procesamiento de muestras se realizó en un bloque de calentamiento MacHerey Nagel vario 3®. Por último, la cuantificación espectrofotométrica se realizó utilizando un espectrofotómetro Merck Spectoquant® Pharo 300 con lámpara de xenón.

Las muestras de sedimento marino fueron obtenidas del golfo de Urabá, las de sedimento lacustre del complejo cenagoso El Sapo en el municipio de Nechí y la muestra de suelo fueron obtenidas de la hacienda la montaña de la Universidad de Antioquia, en San Pedro de los Milagros. Todos los sitios ubicados en el departamento de Antioquia.

### 2.2 Ensayos de robustez

Dado que el bloque de calentamiento no permitía un ajuste a 135°C exactos, se optimizó la metodología realizando un diseño de experimentos factorial 2<sup>2</sup> teniendo en cuenta la temperatura (120 y 140°C ± 5°C) y el tiempo de digestión (30 y 60 min).

### 2.3 Validación de la metodología

Se evaluaron los parámetros de validación: linealidad, rango de trabajo, precisión, exactitud, límites de detección y cuantificación e incertidumbre.

#### 2.3.1 Linealidad

Se analizaron 7 niveles de COT (2, 3, 4, 6, 8, 10 y 12 mg de Carbono) preparados a partir de una solución madre de 19,9866 mgC/L utilizando Glucosa anhidra y se realizó la regresión lineal de la gráfica mgC/L Vs Absorbancia cuya expresión es descrita en la ecuación 1.

$$y = bx + a \quad (1)$$

Donde  $y$  corresponde a la variable dependiente (absorbancia), y  $x$  a la variable independiente (mg C),  $b$  la pendiente de la curva de regresión y  $a$  el intercepto.

#### 2.3.2 Efecto matriz.

Con el fin de conocer el efecto que aporta la matriz de sedimento y suelo al resultado del análisis, se procedió a evaluar la linealidad, mediante enriquecimiento con cantidades crecientes de glucosa a muestras de matriz blanco, preparadas por calcinación previa a 550°C durante 1 hora.

#### 2.3.3 Límites de cuantificación y detección.

Se evaluó mediante el análisis de 10 blancos utilizando la ecuación 2.

$$LD = \left( \frac{K * s}{b} \right) \quad (2)$$

Donde:

$K$ : constante que usualmente se considera 3 para el límite de detección y 10 para el límite de cuantificación.

$s$ : Desviación estándar del análisis de los blancos.

$b$ : Pendiente de la curva de calibración

Los resultados obtenidos corresponden a los límites teóricos, por tanto, fue necesario verificar experimentalmente estas concentraciones. Con este fin se prepararon estándares con concentraciones cercanas al valor de LC teórico y se analizaron por cuadruplicado.

#### 2.3.4 Precisión.

Fue determinada como: repetibilidad y precisión Intermedia.

Para evaluar la repetibilidad se determina el coeficiente de variación (%CV) de los ensayos para 3 muestras de diferente concentración preparadas mediante la mezcla de sedimento blanco con sedimento natural de concentración conocida, con el fin de conseguir niveles aproximados de 3, 6 y 10 mg de C. cada una de estas muestras se analizó por quintuplicado.

$$\%CV = \frac{s}{\bar{x}} \times 100 \quad (3)$$

Donde  $s$ , es la desviación estándar del conjunto de medidas y  $\bar{x}$  es el promedio de los datos.

Para la precisión intermedia se repitió el mismo procedimiento de preparación de muestras y de cuantificación, solo que en esta ocasión el procedimiento fue realizado por otro analista.

A partir de los resultados obtenidos por el analista responsable de la validación y el segundo analista, se evaluó la precisión intermedia del método mediante el cálculo del %CV global.

### 2.3.5 Exactitud.

La exactitud se evaluó mediante el análisis de 3 diferentes cantidades de material de referencia certificado trazable a NIST SRM 1944 - New York/New Jersey Waterway. Dicho material de referencia se mezcló con sedimento blanco hasta lograr aproximadamente 0,5g de muestra total, con niveles de masa aproximados de 3, 6 y 10 mg de C respectivamente, estas mezclas se analizaron por quintuplicado.

Este parámetro se evalúa mediante los porcentajes de recuperación calculados por la ecuación 4

$$\%R = \frac{X_{exptal}}{X_{referencia}} \times 100 \quad (4)$$

Donde  $X_{exptal}$  corresponde a la cantidad de COT determinada experimentalmente y  $X_{referencia}$  al valor nominal reportado en el certificado de análisis.

### 2.3.6 Incertidumbre.

La incertidumbre del método se determinó según las directrices establecidas por la Eurachem [7] De esta manera se establecieron las fuentes de incertidumbre que más aportan al resultado final del mesurando, siguiendo la ley de propagación de errores (ecuación 5 y Fig. 2). La incertidumbre combinada así estimada se expande a un intervalo de aproximadamente 95% de confianza mediante el uso del factor de cobertura  $K=2$  (ecuación 6)

$$\mu_c = \sqrt{\mu_A^2 + \mu_B^2} \quad (5)$$

$$U_{exp} = \mu_c \times K \quad (6)$$

$\mu_c$  Corresponde a la incertidumbre combinada,  $\mu_A$  y  $\mu_B$  las incertidumbres derivada de errores sistemáticas y de aleatorios,  $U_{exp}$  a la incertidumbre expandida y  $K$  el factor de cobertura.

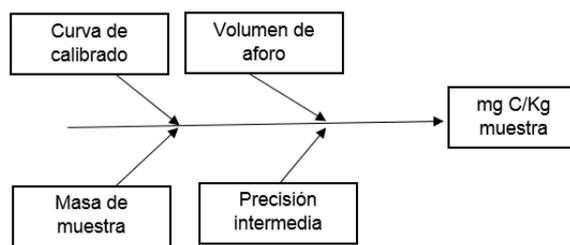


Fig. 2. Diagrama causa efecto para las principales fuentes de incertidumbre consideradas en el análisis.

### 2.3.7 Tratamiento estadístico de datos

Se realizó el análisis factorial con interacciones para los ensayos de robustez relacionados con las condiciones de digestión

Se llevaron a cabo pruebas estadísticas de, regresión lineal, test para pendiente e intercepto, residuales, comparaciones de curvas de regresión para verificar la linealidad y el efecto matriz. Así como el análisis descriptivo de estimación de coeficientes de variación, promedios y desviaciones estándar. Estos análisis se realizaron utilizando el paquete estadístico Statgraphycs Centurion XVI®.

## 3. RESULTADOS

Los porcentajes de recuperación para COT para los diferentes tratamientos de temperatura y tiempo de digestión se muestran en la **Tabla 1**, en general estos valores pueden considerarse como aceptables (mayores a 50%).

Tabla 1. Ensayo de robustez para del proceso de digestión de muestras para diferentes tratamientos de temperatura y tiempo.

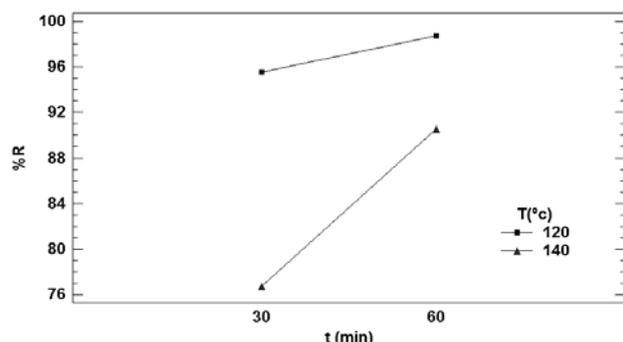
mg C	T(°c)	t (min)	%R
3	120	30	94,321
3	120	30	96,715
3	120	60	97,513
3	120	60	99,907
3	140	30	71,579
3	140	30	81,953
3	140	60	86,740
3	140	60	94,321

Al realizar el análisis de varianza (**Tabla 2**) se identifica que el factor temperatura tiene un efecto estadísticamente significativo ( $\alpha=0.05$ ) sobre el porcentaje de recuperación de COT ( $p < 0.05$ ).

**Tabla 2.** Análisis de varianza para la temperatura (A) y tiempo (B) respecto a los porcentajes de recuperación de COT obtenidos.

Fuente	Suma de Cuadrado	gl	Cuadrado Medio	Razón F	Valor P
<b>EFEKTOS PRINCIPALES</b>					
A:	362.6	1	362.6	16.4	<b>0.02</b>
B:	143.8	1	143.8	6.51	0.06
<b>INTERACCIONES</b>					
AB	55.9	1	55.9	2.53	0.19
Residuo	88.3	4	22.1		
Total	650.6	7			

Adicionalmente no se observa interacción entre los dos factores evaluados (no hay intersección de líneas, ver **Fig. 3**), y los mejores porcentajes de recuperación de COT se presentaron para la digestión realizada a  $T_1=120^\circ\text{C}$  durante un periodo de tiempo  $t_2= 60$  min. Por tanto, estas fueron las condiciones seleccionadas para la realización de los ensayos posteriores.



**Fig. 3.** Gráfica de interacciones entre los factores: tiempo y temperatura de digestión.

La relación de la absorbancia medida y la cantidad de COT (mg C) preparadas a partir de solución estándar de glucosa presentó un comportamiento lineal hasta un nivel de 12 mg C, lo cual se verifica con el valor del coeficiente de determinación  $r^2=0.9993$ , esto indica que bajo condiciones ideales (ausencia de matriz), la detección instrumental ofrece una buena respuesta a cambios en la concentración de carbono orgánico (**Tabla 3**).

**Tabla 3.** Parámetros para la linealidad del método con ensayos de efecto matriz.

mg C	Absorbancia promedio (n=3)			
	sin matriz	suelo	lacustre	marino
Blanco	0,047	0,083	0,071	0,120
2*	----	0,102	0,085	0,078
3*	0,132	0,139	0,112	0,128
4*	-----	0,164	0,147	0,154
6*	0,257	0,240	0,232	0,246
8*	0,344	0,311	0,340	0,332
10*	0,424	0,391	0,388	0,413
12*	0,507	----	----	----
$r^2$	0,9993	0,9982	0,9982	0,9985
<b>b</b>	0,0418	0,036	0,0405	0,040
<b>a</b>	0,0068	0,0266	-0,0106	-0,005

\*valores de absorbancia corregidos por la sustracción del valor de la señal del blanco correspondiente.

Con la estimación de los intervalos de confianza ( $\alpha = 0.05$ ) para a y b, se pudo corroborar que para todos los casos, existía una pendiente significativamente distinta de cero y una recta que pasa por el origen de las coordenadas cuando la variable independiente es significativamente distinta de cero, lo cual corrobora la relación lineal entre las variables (**Tabla 4**).

**Tabla 4.** Intervalos de confianza del 95,0% para los estimados de pendiente (b) y el intercepto (a) ( $\alpha=0.05$ ).

Matriz	Parámetro	inferior	superior
sin matriz	<b>a</b>	-0,00150302	0,0129724
	<b>b</b>	0,0410306	0,0423956
marino	<b>a</b>	-0,00587902	0,00822639
	<b>b</b>	0,0398268	0,04211
lacustre	<b>a</b>	-0,0189822	0,00906995
	<b>b</b>	0,0380323	0,042573
suelo	<b>a</b>	-0,0205318	0,0333607
	<b>b</b>	0,0347435	0,0369017

Con el fin de conocer el efecto que aporta la matriz al resultado del análisis, se procedió a evaluar la linealidad, preparando estándares a partir de sedimento y suelo blanco (libre de COT, calcinados a  $550^\circ\text{C}$  durante 1 hora), mediante enriquecimiento con diferentes cantidades de la solución madre de Glucosa de 19,9866 mgC/L.

Con las muestras de las diferentes matrices (suelo, sedimento lacustre y marino), la linealidad solo pudo ser evaluada hasta un nivel de 10 mg C, debido a que para cantidades mayores, la linealidad no se mantenía y además se generaban dificultades en la digestión de la muestra (explosiones).

El análisis comparativo entre las regresiones lineales para cada tipo de muestra empleada, evidencia un efecto matriz significativo ( $\alpha=0.05$ ) (Fig. 4 y Tabla 5) para las matrices evaluadas. El análisis de suelos presenta disminución de la sensibilidad de la detección (menor valor de la pendiente, ver Tabla 2) y una diferencia estadística significativa ( $\alpha=0.05$ ) para el test de interceptos, por lo cual se esperaría que en la rutina de análisis se haga necesario hacer la curva de calibración sobre la matriz.

Dado que el efecto matriz presentado en muestras de sedimentos lacustre y marino no afecta la sensibilidad del método ( $p > 0.05$  para test de pendientes), el análisis de este tipo de muestra se podría realizar con extrapolación a curva sin matriz, con corrección de fondo por sustracción de la señal del blanco de matriz (Tabla 5).

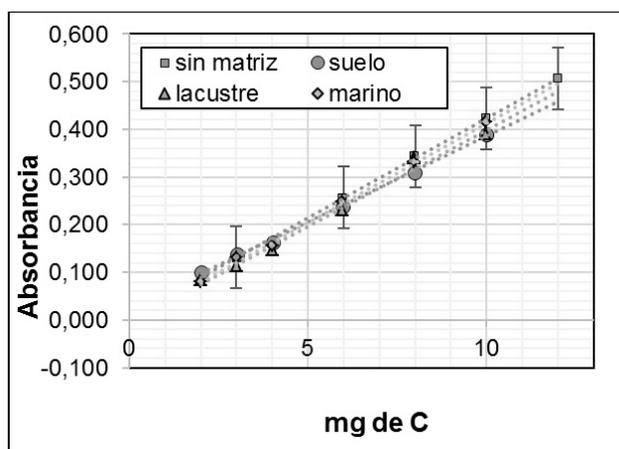


Fig. 4. Curva de calibración absorbancia vs mg de carbono para análisis sin matriz, suelo, sedimento lacustre y marino.

Tabla 5. Análisis comparativo (ANOVA) entre las regresiones lineales para las matrices estudiadas y la curva sin matriz ( $\alpha=0.05$ )

Matriz	Fuente	Valor-P
lacustre	Interceptos	0,000*
	Pendientes	0,300
suelo	Interceptos	0,000*
	Pendientes	0,000*
marino	Interceptos	0,000*
	Pendientes	0,383

Con respecto al grado de dispersión de los datos obtenidos porcentajes menores a 5% expresado como coeficiente de variación (CV) para repeticiones de los experimentos realizados bajo las mismas condiciones por el mismo analista (Tabla 6).

Tabla 6. Resultados de la evaluación de la precisión a tres niveles de COT para la matriz sedimento.

mg C	Peso muestra (g)	Conc. en mgC/Kg	Promedio	%CV
3,733	0,485	7696,0103	7193,148	4,834
3,618	0,5147	7028,3884		
3,525	0,5066	6958,8346		
3,733	0,5038	7409,1284		
3,491	0,5079	6873,3798		
6,555	0,5018	13053,165		
7,177	0,5022	14302,207	13770,61	3,504
6,855	0,5018	13662,133		
6,889	0,5017	13718,987		
7,120	0,5022	14116,535		
9,965	0,5044	19888,712		
10,508	0,5011	20656,702		
10,749	0,5087	21390,742	21017,37	3,531
10,933	0,5025	21712,634		
10,795	0,5035	21438,08		

Los límites de detección (LD) y cuantificación (LC) estimados a partir de la ecuación 2, se muestran en la Tabla 7.

**Tabla 7.** Estimación de los límites de detección y cuantificación del método.

Parámetros	Valor obtenido
<b>s</b>	0,005
<b>b</b>	0,040
LD (mgC)	<b>0,372</b>
LC (mg C)	<b>1,240</b>

De acuerdo con la metodología implementada se puede detectar de manera cualitativa desde una cantidad de 0,372 mg de COT en la cantidad de muestra analizada. Por otro lado, el LC que experimentalmente obtuvo exactitud y precisión deseables fue de  $1.50 \pm 0,02$  (IC: 95%) mg de carbono (**Tabla 8**).

**Tabla 8.** Verificación del límite de cuantificación del método para n=6 repeticiones.

mg C	%R promedio	%CV
<b>0,50</b>	72,874	31,28
<b>1,00</b>	74,489	13,915
<b>1,50</b>	108,543	2,725

Se obtuvieron valores inferiores al 6% en el coeficiente de variación al realizar las determinaciones el segundo analista, con valores de CV dentro de las especificaciones esperadas para los niveles de concentración evaluados, estos se muestran en la **tabla 9** [8].

Las fuentes de incertidumbre tenidas en cuenta para la suma de contribuciones fueron: extrapolación en la curva de calibrado ( $\mu_{Curva}$ ), volumen de aforo ( $\mu_{vol}$ ), masa de muestra ( $\mu_{Peso}$ ) y reproducibilidad del método de acuerdo a la ecuación 7. Los valores obtenidos para la incertidumbre expandida, muestra porcentajes  $\pm 4$  al 16% del rango de trabajo del método (**Tabla 12**).

$$\mu_{Conc} = \sqrt{\left(\frac{\mu_{Curva}}{Conc.}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{vol}}{Vol}\right)^2 + \left(\frac{\mu_{Peso}}{W}\right)^2 + \mu_{Rep}^2} \times Conc. \quad (7)$$

**Tabla 9.** Resultados de la evaluación de la precisión a tres niveles de COT para la matriz sedimento obtenidos para el segundo analista.

mg C	Peso muestra (g)	Conc. en mgC/Kg	Promedio	%CV
<b>4,355</b>	0,50032	8704,107	8552,218	1,311
<b>4,228</b>	0,50196	8423,202		
<b>4,263</b>	0,50175	8495,611		
<b>4,366</b>	0,50609	8627,634	13799,46	0,437
<b>4,263</b>	0,50087	8510,537		
<b>6,993</b>	0,5040	13875,174		
<b>6,924</b>	0,5013	13812,015	19637,39	5,589
<b>6,947</b>	0,50307	13809,221		
<b>6,947</b>	0,50682	13707,045		
<b>6,947</b>	0,50363	13793,866	20223,898	
<b>8,894</b>	0,50192	17719,974		
<b>10,058</b>	0,50228	20023,898		
<b>10,138</b>	0,50158	20212,626	19637,39	5,589
<b>9,954</b>	0,50285	19795,003		
<b>10,288</b>	0,50344	20435,441		

**Tabla 10.** Resultados de la determinación del % CV global para evaluación de precisión intermedia.

mg C	Estadísticos		
	$\bar{X}$ global (mg/Kg)	S global (mg/Kg)	% CV global
4	7872,683	756,589	9,610
7	13785,03	324,561	2,354
10	20315,37	1144,220	5,632

#### 4. DISCUSIÓN

Los valores de absorbancia de las muestras blanco pudieron evidenciar el efecto que tiene la matriz en cuanto a la respuesta analítica de las muestras (**Tabla 3**), donde la señal promedio para una muestra blanco de sedimento marino fue mayor a las de las otras matrices, lo cual está relacionado al mayor contenido de cloruros, interferencia descrita por la literatura y la cual conlleva la sobreestimación de resultados en estos análisis [9].

**Tabla 11.** Evaluación de la exactitud del método a tres niveles de COT para la matriz sedimento (SRM 1944)

mg C ( $X_{ref}$ )	mg C ( $X_{exp}$ )	% R.	%R Promedio	%CV
3	3,295	111,188	101,514	5,47
	2,995	99,484		
	2,984	99,392		
	2,903	97,033		
	3,030	100,471		
6	6,394	106,328	115,047	7,60
	6,889	114,869		
	6,475	107,843		
	7,661	128,011		
	7,085	118,186		
10	10,276	102,739	108,294	4,44
	10,91	109,012		
	10,495	104,904		
	11,509	115,225		
	10,968	109,587		

**Tabla 12.** Valores estimados para la incertidumbre de la determinación de COT en sedimentos.

Rango de concentración (mgC/Kg)	Incertidumbre estándar Combinada $\mu_{comb}$	Incertidumbre expandida $U_{exp}$
4000 - 11980	307,3	614,6
12000 - 20000	307,5	614,9

Adicionalmente, los rangos de trabajo establecidos coinciden con la literatura, donde se ha reportado linealidad mayores de 90% para valores cercano de 5mg C y reducción de hasta 70% por encima de los 10 mg [10]

Los valores de CV obtenidos se encontraron dentro de los intervalos esperados para los niveles de concentraciones analizadas de acuerdo a los lineamientos de la Association of Official Analytical Chemists (AOAC) [8], por tanto la metodología presenta una precisión aceptable a nivel de repetibilidad.

Estudio previo para la determinación de COT donde se utilizó la oxidación sulfocrómica para el

análisis de muestra certificada NIST 1646a de sedimento marino obtuvo variaciones (desviación estándar) de  $\pm 200$  para concentraciones de aproximadamente 7000 mg/Kg [11]; comparable en magnitud a la observada en este estudio para el nivel bajo del intervalo de 347.8 mg/Kg.

La precisión intermedia (Tabla 9), como un indicador intra-laboratorial del grado de dispersión de los resultados analíticos, mostró un nivel satisfactorio (<10%), además, se cumple con que el valor de  $CV_{global} < 2CV$  (repetibilidad), lo cual es un criterio deseable para concluir que el cambio de analista no afectaría el desempeño analítico de la prueba [12]

Resultados de reproducibilidad son necesarios a nivel de interlaboratorios, se han reportado errores estándar  $\pm 3\%$  para muestras de sedimentos analizadas por 10 laboratorios diferentes empleando la metodología de combustión a alta temperatura, la cual por ser automatizada, no emplear reactivos peligrosos y garantizar el estado de oxidación final del carbono en la muestra, es el más recomendado [13]. Implica la oxido-reducción una inversión inicial menor resultados de participación en ensayos de intercalibración.

Los resultados muestran que los valores inferiores a 1,5 mg de C, no son precisos, presentan % CV mayores que 10%, lo cual según los criterios establecidos por la AOAC, y procedimientos internos del laboratorio, no son aceptables límites de detección y cuantificación.

Para los porcentajes de recuperación a diferentes niveles de carbono en el análisis de SRM 1944, se obtuvieron valores aceptables de acuerdo a la AOAC para las cantidades de analito estudiadas (Tabla 10) [8]. Cabe anotar que en la mayoría de los casos, el porcentaje de recuperación excedió el 100% pero dado que el material de referencia empleado es de procedencia marina, la presencia de cloruros pudo afectar por sobreestimación la respuesta a pesar del análisis de blanco para corrección de la señal.

La metodología empleada incluye la liofilización de las muestras lo cual según estudios reportados demuestran que es la forma de secado más óptimo de muestras de sedimento húmedo que evita pérdida de analitos [14]

## 5. CONCLUSIÓN

La metodología para la cuantificación de COT en muestras de sedimentos y suelos realizada en el laboratorio GAIA, arroja resultados confiables: precisos y exactos de acuerdo a los criterios de aceptación establecidos mediante la determinación de los siguientes parámetros de validación: linealidad, rango de trabajo, límites de cuantificación y detección, precisión, exactitud e Incertidumbre. La metodología puede ser adaptada a diferentes matrices teniendo en cuenta correcciones de blanco y curvas preparadas en matriz.

## 6. AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen a la Universidad de Antioquia y a Colciencias por el soporte financiero al proyecto 1115561-36139 "Acreditación de Metodologías Analíticas para la determinación de Fósforo Total, Nitrógeno Total, Carbono Orgánico Total y Silicio Biogénico en Sedimentos en el Laboratorio GAIA de la Universidad de Antioquia" en el marco de la convocatoria 561 de 2012.

## 7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] M. W. I. Schmidt, A. G. Noack, and G. Osmond, "Analysis, distribution, implications, and current challenges," vol. 14, no. 3, pp. 777–793, 2000.
- [2] M. Schnitzer, "Soil organic matter: the next 75 years," *Soil Sci.*, vol. 151, no. 1, pp. 41–58, 1991.
- [3] R. D. Harter and R. Naidu, "Role of Metal-Organic complexation in metal sorption by Soils," *Adv. Agron.*, vol. 55, no. C, pp. 219–263, 1995.
- [4] B. a Schumacher, "Methods for the Determination of Total Organic Carbon in Soils and Sediments," *Carbon N. Y.*, vol. 32, no. April, p. 25, 2002.
- [5] I. S. O. ISO, *ISO 14235: Soil quality-Determination of organic carbon by sulfochromic oxidation*, vol. 1. 1998.
- [6] ISO, "ISO/IEC 17025 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories," *International Standard*. pp. 1–36, 2005.
- [7] Citac and Eurachem, "Quantifying Uncertainty in Analytical Measurement," *English*, vol. 3rd, p. 133, 2012.
- [8] S. Method, P. Requirements, and A. Nutritionals, "Appendix F: Guidelines for Standard Method Performance Requirements," 2012.
- [9] J. H. McKenna and P. H. Doering, "Measurement of dissolved organic carbon by wet chemical oxidation with persulfate: Influence of chloride concentration and reagent volume," *Mar. Chem.*, vol. 48, no. 2, pp. 109–114, 1995.
- [10] H. E. Gaudette, W. R. Flight, L. Toner, and D. W. Folger, "An inexpensive titration method for the determination of organic carbon in recent sediments," *J. Sediment. Petrol.*, vol. 44, no. 1, pp. 249–253, 1974.
- [11] J. W. T. Tung and P. a Tanner, "Instrumental determination of organic carbon in marine sediments," *Mar. Chem.*, vol. 80, no. 2–3, pp. 161–170, 2003.
- [12] AEFI: Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria, "Validación de métodos analíticos," Barcelona, 2001.
- [13] P. King, H. Kennedy, P. P. Newton, T. D. Jickells, T. Brand, S. Calvert, G. Cauwet, H. Etcheber, B. Head, A. Khripounoff, B. Manighetti, and J. Carlos Miquel, "Analysis of total and organic carbon and total nitrogen in settling oceanic particles and a marine sediment: An interlaboratory comparison," *Mar. Chem.*, vol. 60, no. 3–4, pp. 203–216, 1998.
- [14] I. Bisutti, I. Hilke, and M. Raessler, "Determination of total organic carbon – an overview of current methods," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 23, no. 10–11, pp. 716–726, Nov. 2004.