



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE
MÉXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

**IMPLEMENTACIÓN DE UNA TÉCNICA ANALÍTICA
PARA LA DETERMINACIÓN DE MATERIAL
ORGÁNICO EN SUELOS HIPERÁRIDOS
ANÁLOGOS A MARTE**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA:

SILVIA KARINA GODÍNEZ PALMA



MEXICO

2008



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

El presente trabajo de tesis se desarrolló en el Laboratorio de Química de Plasmas y Estudios Planetarios del Instituto de Ciencias Nucleares de la Universidad Nacional Autónoma de México, bajo la dirección del Dr. Rafael Navarro- González, con el apoyo de los proyectos DGAPA IN107107 “Búsqueda de vida en Marte por la misión robótica de la NASA en el 2005” y CONACyT V45810-F “Geoquímica de ambientes extremos y la búsqueda de vida en Marte”; y la beca de licenciatura otorgada a través del Sistema Nacional de Investigadores nivel III, con número de expediente 8753.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Nacional Autónoma de México, por exaltar los valores y el orgullo de pertenecer a la Máxima Casa de Estudios, por fomentar y desarrollar actividades de formación que fortalecieron mi identidad y que ahora residen en el anhelo de alcanzar la verdad y el saber de la ciencia.

Al Dr. Rafael Navarro-González, por hacer posible la realización de este trabajo, con sus conocimientos y experiencia para dirigirme hasta su culminación.

Al jurado de tesis: Profesora Silvia de Jesús Mendoza Arellano, Ricardo Flores Hernández, Erika Maria Ramírez Maya y Ernesto Sánchez Mendoza, por la dedicación en la corrección y revisión de este trabajo.

Al M.C José de la Rosa por haber compartido sus conocimientos durante todo el desarrollo experimental, por su paciencia y apoyo para alentarme a continuar, por su tiempo invertido en mi capacitación técnica, revisión de tesis y sus innumerables consejos académicos.

Al Instituto de Ciencias Nucleares de la UNAM por todas las facilidades que como estudiante adscrita me ha otorgado.

Al Sr. Salvador Ham Lizardi por la realización tan diligente y precisa de todo el material de vidrio utilizado.

Al Sr. Ángel Granados, al Sr. Salvador Valle y al Sr. Adrián Osuna, por su ayuda en el aspecto mecánico y eléctrico utilizado en el trabajo.

Al personal de la biblioteca, M. Magdalena Sierra Flores, Maria de la Luz Escamilla Maya y al Sr. Ignacio Pérez Pérez, por su atención, disposición y facilidades otorgadas.

Al personal de cómputo, Antonio Ramírez, Martín Cruz Villafane y Enrique Palacios Boneta, por las facilidades otorgadas en la ayuda técnica y profesional, por su amabilidad y consejos.

A todo el personal y mi segunda familia del Instituto de Ciencias Nucleares, especialmente a la Sr. Chayito, Lulu y al Sr. José, por su amabilidad, atención, paciencia, amistad, comprensión, consejos, etc. gracias.

A mis profesores, que gracias a ustedes me he formado como universitaria, que a través de sus conocimientos y experiencias he logrado concluir mi sueño, por llevarme por el camino de la sabiduría, por su paciencia, sus consejos, su amistad y sobre todo por ser los forjadores de esta gran experiencia.

DEDICATORIA

Gracias a DIOS por permitirme llegar hasta aquí y lograr el reto más grande de mi vida, por darme la fuerza, sabiduría, paciencia y valor, para ver mi sueño realizado.

A mis padres por darme la vida y creer en mí, por su gran esfuerzo, paciencia, impulso, ejemplo, por su gran amor, comprensión, confianza, desvelos, por llevarme de la mano por este difícil camino, porque junto a ustedes la vida es más fácil y maravillosa, por ser mi motivación, mi orgullo y toda mi vida. Saben que siempre estaré agradecida con ustedes. Los ADORO.

A mis hermanos: Ale, gracias por tu amor, tu paciencia, comprensión, por tus sonrisas y tu alegría, Arturo, por tu impulso, tu amor, tu apoyo, a ambos gracias por estar siempre conmigo y ser los mejores amigos y hermanos. Los AMO.

A Norma, Elizabeth, Felipe y a mis niños lindos (Andy, Chris y Vicky), por llenar mi vida de alegría, inocencia, por sus abrazos y besos, por todo su apoyo y amor. Los ADORO

A mi toda mi familia, por el gran ejemplo que siempre han plasmado para mi, por su amor, su apoyo y consejos, por ser mi fuerte, mi motivación, mi alegría, porque son mi orgullo, porque no me pudo tocar una mejor familia, porque gracias a ustedes he logrado llegar hasta aquí. Mil gracias a todos los ADORO

A los Nuclear Boys (Pepe, Enrique, Peruano, Tania, Cruz, Chispa, Antonieta, Paola, Paulina) por sus sabios consejos, su amistad, su compañía, por hacer de mi estancia algo realmente grato y muy divertido. Gracias chicas por compartir conmigo sus vidas y sus experiencias, por esos buenos momentos y por ser mis mejores amigas. Los quiero mucho.

A mis grandes amigos de primer semestre (Hilda, Cecilia, Octavio, Xochitl, Cris, Paul, Hugo, Rafa, Gus, Vane, Susana, Gerardo, Irazema, Rebe, Paola, Daniel, etc.), por los buenos momentos que pasamos al inicio de este largo camino, por las buenas charlas, consejos, amistad, por su apoyo y su gran compañía.

A las brujas (Paguas, Brenda y Liber) por enseñarme que la vida se vive en compañía de verdaderas amigas, por su cariño, su apoyo, su sinceridad, su confianza, por sus consejos, sus risas, por estar siempre conmigo y dejarme ser parte de sus vidas, porque mi vida sería muy diferente sin ustedes. Las quiero mucho amiguis.

Al las chochas (os) (Claudia, Chispa, Bety, Sonia, Angie, Margarita, Alejandra, Toño, Alejandro, Salomón, Abi, Juan, Oliver, Sandra, etc), por permitirme conocer una amistad sincera e inocente, gracias a cada una (o), por que sin su apoyo el camino hubiera sido más difícil y menos divertido, saben que ocupan un lugar muy especial en mi corazón, los quiero mucho.

A todos mis amigos de la jardinera, por todo lo que me aportaron, me aconsejaron, me ayudaron, por sus ganas de vivir y divertirse, por estar junto a mí en los momentos más lindos y difíciles de toda la carrera, gracias a cada uno de ustedes, los quiero mucho. Lorenzo, mil gracias, siempre serás mi mejor amigo, tqm.

A todos mis amigos y compañeros de toda la carrera, no quiero omitir a nadie porque cada uno ha hecho de mí una persona mejor, porque con su compañía he logrado ser una persona más sencilla, por los momentos de diversión, por sus consejos, sus charlas, su sinceridad, porque son parte de la mejor etapa de mi vida y de muchos de mis días felices. A todos, los quiero mucho, porque no hay forma de agradecerles lo que han hecho por mí.

A Manuel, por aventurarse conmigo, por ser mi aliento durante la carrera, por tu paciencia, tu amor, tu apoyo, tus palabras, tu desvelo, que hizo que esto fuera mas fácil, gracias por siempre estar al pendiente, por tu preocupación, tus abrazos, por ser parte importante de mi vida y un gran impulso para realizar este sueño.

INDICE

RESUMEN	1
1. ANTECEDENTES	2
1.1. Importancia del carbono para la vida	2
1.2. El suelo y la materia orgánica	5
1.3. Clasificación de los suelos	6
1.4. El Desierto de Mojave	8
1.5. Carbono total y materia orgánica	11
1.6. Estimación directa de material orgánico en el suelo	12
1.6.1. Carbono orgánico por titulación	13
1.6.2. Carbono orgánico como CO ₂	15
1.7. Separación y detección de la materia orgánica	18
1.8. Marte y la materia orgánica	22
1.9. Validación de una técnica analítica	23
1.9.1. Confirmación de identidad	24
1.9.2. Intervalo de trabajo	24
1.9.3. Linealidad del sistema	25
1.9.4. Límite de detección	25
1.9.5. Límite de cuantificación	26
1.9.6. Precisión	26
1.9.7. Exactitud	27
1.9.8. Recobro	27
2. OBJETIVOS	28
3. METODOLOGÍA	29
3.1. Análisis cuantitativo	32
3.1.1. Descripción de las trampas condensadoras de gas utilizadas.....	32
3.1.2. Determinación del volumen de la trampa	32
3.1.3. Preparación de la mezcla de gases y curva de calibración	34
3.1.4. Preparación del blanco de suelo	35
3.3.5 Implementación de la técnica analítica en línea para la determinación de materia orgánica	35

3.2. Análisis cualitativo	38
3.3. Validación de la técnica	39
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
4.1. Confirmación e identificación del CO ₂	41
4.2. Linealidad	43
4.3. Límite de detección (LD) y cuantificación (LC)	46
4.4. Recobro y exactitud	47
4.5. Precisión	49
4.6. Determinación de materia orgánica en muestras superficiales de suelo del desierto de Mojave – EEUU	50
5. CONCLUSIONES y PERSPECTIVAS	55
6. ANEXOS	57
7. BIBLIOGRAFIA	64

RESUMEN

La evolución química que condujo a la vida en la Tierra, abarca la transición de moléculas orgánicas e inorgánicas a bioquímicas, en donde, el carbono, es el elemento fundamental para su formación. El mayor reservorio de éste, se encuentra en el suelo, en donde su almacenamiento es controlado por el balance entre insumos de la biomasa vegetal y el retorno a la atmósfera en forma de dióxido de carbono, vía la descomposición de la materia orgánica. Los métodos más utilizados para la determinación y cuantificación de dicha materia en suelos, son la combustión a elevadas temperaturas y la oxidación en vía húmeda con sustancias oxidantes. Sin embargo, estas técnicas no son aplicables al estudio de suelos áridos o hiperáridos en donde el contenido de material orgánico es menor al 1%.

En este trabajo se presenta, la implementación optimización y validación de una técnica analítica en línea, para la determinación de dióxido de carbono, proveniente de material orgánico en suelos, por medio de una reacción en vía húmeda con permanganato de potasio. Este gas se determino por medio de una técnica acoplada de cromatografía de gases-espectrometría de masas. La validación de la metodología implementada presentó resultados satisfactorios, entre ellos, una buena linealidad, y un límite de cuantificación y de detección de 22 y 17 μg de Carbono/gramo de suelo, respectivamente, sin embargo, el % de recobro fue de 76% que no fue lo planteado inicialmente. La aplicación de la Técnica en la superficie del Desierto de Mojave-EEUU, en un gradiente este-oeste, mostró concentraciones de 100 a 2020 μg de C/gramo de suelo, lo cual permitió identificar algunas zonas que por sus características áridas, podrían servir como posibles análogos de suelo marciano.

CAPITULO 1. ANTECEDENTES

1.1 Importancia del carbono para la vida

Las moléculas orgánicas están formadas por cadenas de carbonos enlazados entre sí. El carbono (C) es un elemento básico en la estructura de biomoléculas como lo son: polisacáridos, lípidos, proteínas y ácidos nucleicos. La reserva fundamental de este elemento en la Tierra, se encuentra en la atmósfera y la hidrosfera que algunos seres vivos pueden asimilar en forma de dióxido de carbono (CO_2). La composición atmosférica de este gas es del orden de 0,03% y cada año aproximadamente un 5% de estas reservas se consumen en el proceso de fotosíntesis, por lo que el CO_2 se renueva en la atmósfera cada 20 años. La tabla 1.1 muestra la composición atmosférica del aire (Egger, *et al.*, 1998). El ciclo global del carbono comienza cuando las plantas, a través del proceso de fotosíntesis toman el CO_2 atmosférico o disuelto en el agua, el *carbono* de este gas pasa a formar parte de los tejidos vegetales en forma de hidratos de carbono, grasas y proteínas y el oxígeno es devuelto a la atmósfera o al agua mediante el proceso de respiración. Así, el C pasa a los herbívoros y carnívoros que utilizan, reorganizan y degradan los compuestos de carbono, generando entre otros CO_2 que es incorporado a la atmósfera.

Tabla 1.1 Composición atmosférica del aire*

Componentes Variables <i>(cantidades varían en el tiempo y lugar)</i>	% en volumen
Dióxido de carbono (CO ₂)	0.03%
Vapor de Agua(H ₂ O)	0-4%
Metano (CH ₄)	0.000174%
Ozono (O ₃)	Rastros
Óxidos de Nitrógeno (NO, NO ₂)	0.00005%
Componentes constantes <i>(las proporciones permanecen iguales en el tiempo y lugar)</i>	% en volumen
Nitrógeno (N ₂)	78.08%
Oxígeno (O ₂)	20.95%
Argón (Ar)	0.93%
Neón, Helio, Kriptón	0.0001%

*Adaptada de Egger, *et al.*, 1998

La solubilidad del CO₂ (0.9 vol/vol a 20 °C) en el agua es superior a la de otros gases, como el oxígeno (O₂) o el nitrógeno (N₂). El CO₂ disuelto se encuentra en equilibrio con el ácido carbónico (inestable), el cual por medio de reacciones ácido-base pasa a formar bicarbonatos y carbonatos. En los ecosistemas marinos, algunos organismos toman parte del CO₂ disuelto convirtiéndolo en carbonato de calcio (CaCO₃), que utilizan para formar sus conchas, caparazones o arrecifes (masas rocosas). Cuando estos organismos mueren, la porción mineral de sus cuerpos pasa a formar rocas sedimentarias calizas; el C queda retirado del ciclo durante miles ó millones de años. En la fig. 1.1 se muestra los procesos naturales de ganancias y pérdidas de dióxido de carbono en la atmósfera en el ciclo geológico.

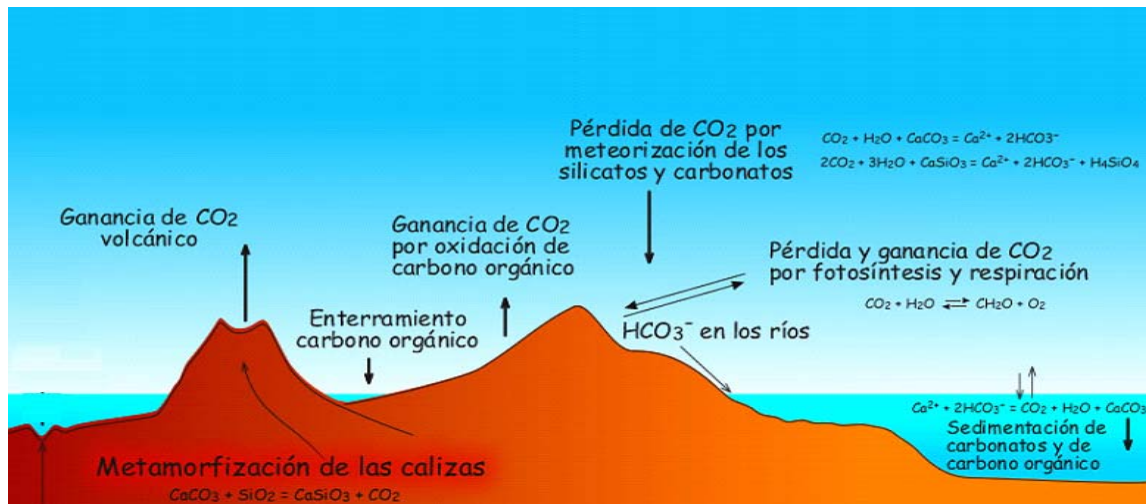


Figura 1.1. Procesos naturales de ganancias y pérdidas de dióxido de carbono en la atmósfera en el ciclo largo geológico

El petróleo, carbón y material orgánico acumulados en el suelo son resultado de épocas en las que se ha regresado menos CO₂ a la atmósfera del que se tomó. La descomposición de materia orgánica (MO) es uno de los procesos claves en el funcionamiento de todos los ecosistemas. El término *descomposición* se emplea de forma general para referirse a la destrucción (desintegración) del material orgánico de origen animal, microbiano o vegetal (Mason, 1976). Este proceso de desintegración engloba a su vez dos subprocesos simultáneos, por un lado la fragmentación de partículas de un tamaño mayor en otras cada vez menores, hasta que los componentes estructurales (incluidos los celulares) no son ya reconocibles y por otro lado el catabolismo de los compuestos orgánicos. De forma general se asume que las moléculas orgánicas complejas de gran tamaño son degradadas por procesos hidrolíticos bióticos y abióticos en compuestos de bajo peso molecular y que posteriormente, se produce una oxidación de estos compuestos orgánicos hasta obtener compuestos inorgánicos simples que los constituyen (CO₂, sulfuro de hidrógeno (H₂S), amonio (NH₄⁺), fosfatos (PO₄³⁻) y agua (H₂O)) que es lo que se conoce como mineralización (Álvarez, 2005).

1.2 El suelo y la materia orgánica

La superficie terrestre está cubierta por una capa delgada de suelo, la cual puede variar de unos cuantos centímetros hasta dos metros, en el cual los animales y vegetales interactúan con la fracción mineral y establecen una relación dinámica. El suelo se define como un sistema natural y complejo desarrollado a partir de una mezcla de microorganismos, partículas sólidas (minerales) y restos de material orgánico, bajo la influencia del medio ambiente y del medio biológico. Los componentes primarios del suelo son: 1) compuestos inorgánicos, no disueltos, producidos por la meteorización y la descomposición de las rocas superficiales; 2) los nutrientes solubles utilizados por las plantas; 3) distintos tipos de materia orgánica, viva o muerta y 4) gases y agua requeridos por las plantas y por los organismos subterráneos.

El material orgánico, de acuerdo a la Sociedad Americana de Ciencias (Science Society of America) se define como: la fracción orgánica del suelo que incluye vegetales, animales en descomposición y microorganismos que viven en el suelo. Algunos suelos agrícolas pueden contener hasta un 5% de material orgánico (Fitz, 1996). A pesar de que el contenido de MO del suelo no es muy elevado, su papel en la estructura y procesos que tienen lugar en los sistemas suelo-agua-soluto es fundamental. La Materia Orgánica del Suelo se clasifica según su origen en biótica y abiótica. En la práctica, se suele distinguir entre dos tipos de materia orgánica; la total, que incluye todo tipo de compuestos orgánicos y la oxidable, que está totalmente transformada y que por lo tanto es la que influye en mayor medida en las propiedades físico-químicas del suelo.

La materia orgánica interviene en el suministro de elementos químicos, mediante la mineralización (N_2 , fósforo (P), azufre (S), potasio (K), calcio (Ca) y magnesio (Mg))

y aportando micronutrientes a las plantas. La estabilización de la acidez y la capacidad de intercambio catiónico y aniónico (nitratos (NO_3^-), fosfatos (PO_4^{3-}) y sulfatos (SO_4^{2-})) del suelo. La MO también afecta propiedades físicas del suelo como, la estructura (favorece la formación de agregados, disminuye la plasticidad y agregación global del suelo), mejora la infiltración de H_2O (reduce la evaporación, mejora el drenaje y la aireación, favorece el calentamiento y a través de los coloides orgánicos ayuda a retener el agua) y el color (favorece o dificulta la absorción de la energía solar).

1.3 Clasificación de los suelos

Una de las mejores clasificaciones para los suelos, es la de orden taxonómico, observe la Tabla 1.2, en la cual se muestra que cada orden comprende muchas series diferentes de suelo, que presentan características en común (Thompson y Troeh, 1998). En este trabajo nos hemos interesado en los aridisoles debido al tipo de muestras que se analizaron.

En los aridisoles, el suelo se constituye por una capa delgada de unos cuantos centímetros, comúnmente se les denomina desierto, se caracterizan por la abundancia de minerales y bajos niveles de MO. El término "desierto" puede estar definido como una región con poca o ninguna vegetación, por razón de deficiente precipitación o aridez edáfica, o bien, como "tierras eriazas", es decir, áreas de baja producción de vegetación, cualquiera que fuera la razón por la que ello ocurre. Los desiertos se pueden clasificar según su grado de aridez y situación geográfica.

La aridez se define como el grado de humedad que le falta a un clima; en meteorología, es el déficit de humedad. Las causas de aridez, están relacionadas con los parámetros climáticos de temperatura (energía) y humedad. Su importancia es radical en la determinación de los modelos de distribución global de la vegetación.

Ambos parámetros son aproximados a las variables: potencial de evapotranspiración (ETP) e índice de humedad (Im).

Tabla 1.2. Descripción general de los órdenes en taxonomía de suelos

ORDEN	CARACTERISTICAS
ENTISOL	Suelos muy jóvenes con escasa o nula diferenciación de horizontes, distinciones no climáticas: aluviones, suelos helados, desierto de arena. Contiene menos del 2% de materia orgánica.
VERTISOL	Suelos ricos en arcilla; generalmente en zonas subhúmedas a áridas. En la época de sequía forman grietas hasta de 1 cm de profundidad. Contienen menos de 4-6 % de materia orgánica
INCEPTISOL	Suelos en fase temprana de desarrollo, no presentan presencia de arcilla significativa. Suelos con débil desarrollo de horizontes; suelos de tundra, suelos volcánicos recientes, zonas recientemente deglaciadas.
ARIDISOL	Suelos de regiones áridas. Son de colores claros y la mayor parte de ellos presentan reacción alcalina, son pobres en material orgánico; sales, yeso o acumulaciones de carbonatos frecuentes. Contiene menos del 1% de materia orgánica
MOLLISOL	Suelos de zonas de pradera en climas templados; horizonte superficial blando; rico en materia orgánica. Suelos con horizonte A de color oscuro y espeso. Contiene menos del 26 % de materia orgánica
ALFISOL	Suelos de color claro o medianamente oscuros, con acumulación significativa de arcilla en el horizonte B, enriquecido por iluviación; suelos jóvenes, comúnmente bajo bosques de hoja caediza. Contienen menos de 4-6 % de materia orgánica
ESPODOSOL	Suelos forestales húmedos; frecuentemente bajos coníferos. Con un horizonte B enriquecido en hierro y/o en materia orgánica y comúnmente un horizonte A gris-ceniza, lixiviado. Suelos intensamente lavados de regiones húmedas y frescas. Poseen acidez elevada y escasa fertilidad.
ULTISOL	Suelos de zonas húmedas templadas a tropicales sobre antiguas superficies intensamente meteorizadas; suelos enriquecidos en arcilla.
OXISOL	Suelos tropicales y subtropicales, intensamente meteorizados formándose recientemente horizontes lateríticos y suelos bauxíticos. Son de muy escasa fertilidad.
HISTOSOL	Suelos dominados por materiales orgánicos. Se forman en condiciones húmedas y frías. Depósitos orgánicos: turba, lignito, sin distinciones climáticas.

*Adaptada de Thompson y Troeh, 1998

La UNESCO desarrollo en 1977 una clasificación para definir los grados de aridez bioclimática (Tabla 1.3), delimitados por los valores de la proporción de P/ETP, donde: P es igual a la precipitación anual promedio y ETP es el potencial de evapotranspiración promedio.

Tabla 1.3. Clasificación para definir los grados de aridez bioclimática

CATEGORIA	DEFINICION	PROPORCION P/PET
Hiper- árido	Corresponde a un verdadero desierto, donde puede haber uno o varios años sin lluvia. Estas áreas tienen solo vegetación perenne y algunos arbustos en los lechos de ríos secos. Es un área de extrema aridez. Exceptuando a los freatófitos, no existe vegetación permanente aunque con la precipitación crezcan plantas efímeras; durante los períodos raros de precipitación los efímeros pueden ser usados para pastoreo, son imposibles la agricultura y la silvicultura sin algún tipo de irrigación	menos de 0.03
Árido	Comprende áreas con vegetación esparcido espinosas o especies vegetales suculentas (cactus)	0.03 a 0.20
Semiárido	Es caracterizada por precipitación de entre 200 y 700 mm, incluye las estepas. Con una capa herbácea más continua y el aumento de pastos perennes, predominando la vegetación de matorral, proporcionando alto- calidad a los suelo. Pueden mantenerse agriculturas alimentadas por las lluvias frecuentes, los rendimientos muestran marcadas variaciones de año tras año como variabilidad.	0.20 a 0.50
Sub- húmedo	Contiene una variedad de tipos de vegetación, incluye ciertos tipos de sabanas tropicales, maquis del mediterráneo, chaparral y estepas. La variabilidad de lluvia inter-anual es menos de un 25%	0.50 a 0.75

*Adaptada de UNESCO, 1977

1.4 El Desierto de Mojave

El desierto de Mojave comprende los desiertos de Sonora, Chihuahua y la cuenca de Utah ,se encuentra al norte del condado de Nevada (36° 49N, 115°55´W) y al noroeste a 90 kilómetros de Las Vegas en una elevación de 960- 975 m, ocupando una extensión de mas de 40,233.60 km² (véase la fig. 1.2). Los suelos de este desierto

según Thompson y Troeh (1998), se componen de aridisoles y entisoles. Se caracterizan por ser alcalinos, con texturas tipo arena margosas del calcáreo en el horizonte bajo (0-16 centímetros) a las arenas gruesas en el subsuelo del horizonte alto y poca cantidad de materia orgánica. Por lo que el suelo de este desierto es caracterizado por una gran heterogeneidad espacial, infiltración y textura (Romney *et al.*, 1973).

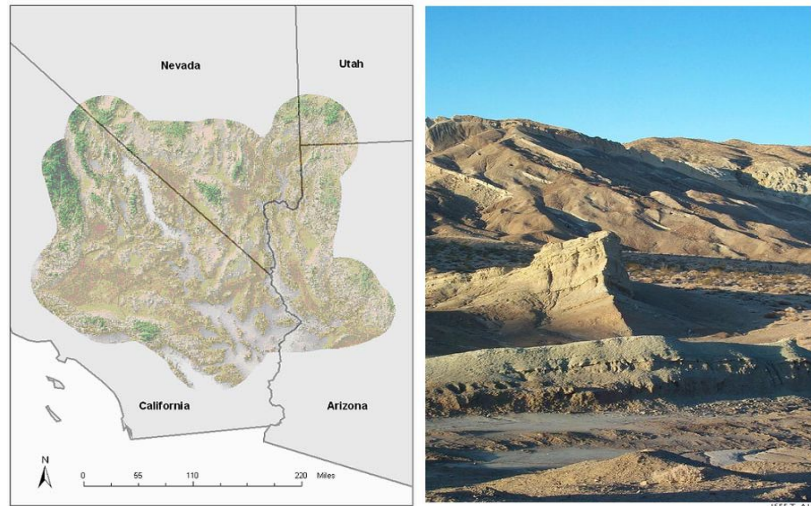


Figura 1.2. Localización y apariencia del desierto de Mojave en California Estados Unidos.

En el desierto del Mojave se presenta una precipitación esporádica menor a 100 mm por año. Las lluvias del invierno son escasas, pero pueden durar hasta varios días e inclusive ser acompañadas por fuertes heladas. En el verano las tormentas ocurren entre julio y agosto y por lo general son locales, intensas e impredecibles. La humedad relativa es baja (comúnmente es menor al 20%), siendo la limitante primaria en el crecimiento vegetal (Turner y Randall, 1989; Smith *et al.*, 1997). La temperatura en este desierto es extrema, con una mínima de -10°C en el invierno y una máxima de 47°C en el verano.

La topografía del desierto de Mojave es variada y extrema, esta compuesta por cráteres volcánicos, cañones formados por diluvios y depósitos de sales (Borax

($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$), cloruro de sodio (NaCl), y potasio (KCl), plata (Ag), tungsteno (W), oro (Au) y algunos depósitos de hierro (Fe)), lo que nos indica que tiene una amplia y compleja historia geológica. Este suelo no es permeable, cuando hay precipitaciones provoca la acumulación de agua y grandes inundaciones (Hunt, 1996).

La vegetación en los lugares húmedos esta dominada por una comunidad de plantas del tipo *tridentata-Ambrosia* de Larrea. Los arbustos que predominan incluyen el tipo *L. tridentata*, *dumosa del A.*, *pallidum de Lycium*, *andersonii del L.*, *lanata de Krascheninnikovia*, *Shockleyi de Acamptopappus*, *nevadensis del Ephedra*, *spinosa de Grayia* y *erecta de Krameria*. Las madrigueras son creadas por mamíferos como lo son: las ratas de canguro (*Dipodomys spp.*) y pequeñas tortugas de desierto (*agassizii de Gopherus*) (Ostler *et al.*, 1999)

El Valle de la Muerte se localiza en el corazón del desierto de Mojave, cuenta con una extensión de aproximadamente 225 km., a lo largo de la frontera entre California y Nevada. El calor en la cuenca de Badwater (localizado a 86 metros por debajo del mar) es extremo, siendo el punto mas bajo del hemisferio occidental ($36^\circ 13.961' \text{N}$, $116^\circ 46.700' \text{W}$), los datos geológicos indican que esta zona estuvo inundada durante el periodo pleistoceno tardío. La fig. 1.3, muestra la apariencia del valle de la muerte en el desierto de Mojave.



Figura 1.3. Apariencia del Valle de la Muerte en el desierto de Mojave EEUU.

1.5. Carbono total y materia orgánica

El carbono total (Ct) en suelos es la suma del C orgánico e inorgánico. El carbono orgánico esta presente en suelos como una fracción de material orgánico, mientras que el C inorgánico es rico en minerales carbonatados, como la calcita y la dolomita. En los suelos alcalinos existen cantidades significativas de C inorgánico por la presencia de sales de bicarbonatos y carbonatos. Estas cantidades pueden ser determinadas por varios métodos analíticos.

El C orgánico esta presente en suelos, en los calcareos bajo condiciones áridas, el contenido de la fracción orgánica es escasa, conteniendo células de microorganismos, residuos de plantas y animales en varios estados de descomposición, compuestos carbonizados y grafito. Es difícil estimar cuantitativamente el contenido de material orgánico presente en el suelo.

1.6. Estimación directa de material orgánico en el suelo

Existen diferentes procedimientos para la determinación de materia orgánica en suelos uno de ellos consiste en separar el material inorgánico, el cuál compone en la mayoría de los suelos el 90% o más del peso total. Los procesos de extracción, separan la materia orgánica en la solución, mientras que el material inorgánico no se extrae. Dicho procedimiento solo nos da una evaluación cualitativa, puesto que no se ha encontrado ningún solvente que disuelva toda la fracción orgánica. La alternativa a esta técnica es destruir la materia orgánica, pero los requerimientos de un método conveniente, son que, el tratamiento usado al destruir la materia orgánica no debe destruir o alterar a otros constituyentes del suelo tales que el peso este cambiando y que la materia orgánica pueda ser removida y cuantificada.

Hay dos métodos usados comúnmente para la destrucción de la materia orgánica: La oxidación de la materia orgánica por medio de peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y la ignición del suelo a altas temperaturas (LOI). El primero (Robinson, 1927) tiene serias limitaciones en la oxidación de la materia orgánica, porque la reacción es incompleta y el grado de oxidación varía de un suelo a otro. Por lo tanto este método no es satisfactorio en la determinación cuantitativa de materia orgánica de suelos, pero puede ser usado para comparar fácilmente el material oxidable en diferentes suelos. El segundo (LOI), es una técnica que comprende la medición de la pérdida de peso de la muestra después de realizar una combustión seca del material orgánico, el procedimiento analítico varía ampliamente con respecto a la temperatura y tiempo de combustión de los constituyentes inorgánicos del suelo, principalmente los aluminosilicatos hidratados, el agua, los minerales carbonatados y muchas sales hidratadas que son descompuestas al someterse a este procedimiento (Ball, 1964). La

deshidroxilación y la descomposición de componentes inorgánicos debido a las altas temperaturas resulta una pérdida de peso en exceso del contenido total de la materia orgánica. El problema se agrava en los suelos con un alto contenido de arcilla, ya que en general contiene bajas cantidades de materia orgánica en el subsuelo y esta se pierde completamente (Christensen y Malmros, 1982; Howard, 1989).

Algunos investigadores calcinaron el suelo procurando un correcto LOI y multiplicaron por un factor de peso perdido por el contenido de arcilla de la muestra y así determinaban la cantidad de materia orgánica (Howard, 1965; Ranney, 1969; Spain *et al.*, 1982). Ranney (1969) usó una temperatura baja (100-200°C) en un proceso de incineración (la materia orgánica es oxidada bajo una atmósfera reducida por la activación de O₂ excitada por radiofrecuencias electromagnéticas). Dean (1974) encontró que las pérdidas por ignición llevadas a 550°C proveen una medida del contenido del material orgánico con una precisión comparable a otros métodos usando un analizador de carbono, el cual mide el carbono total como CO₂ por cromatografía de gases.

1.6.1. Carbono orgánico por titulación

El C orgánico también es determinado por diferencia entre el C total y el C inorgánico, o directamente al cuantificar el C total después de remover el C inorgánico, posteriormente se realiza una reacción con dicromato de potasio (K₂Cr₂O₇) o por técnicas de oxidación- titulación. Sin embargo, el C orgánico por métodos basados en la oxidación con K₂Cr₂O₇ se lleva proporciones de C elemental y en muchos procesos, varía la cantidad de C orgánico contenido en el suelo.

La técnica consiste en oxidar una porción de la muestra con $K_2Cr_2O_7$ en H_2SO_4 , utilizando el calor exotérmico del ácido y posteriormente el exceso de dicromato de potasio se titula con una solución de sulfato de amonio ferroso. No obstante que este método fue desarrollado por Walkey y Black (1934) para determinar carbono orgánico en suelos agrícolas. El error más evidente que presenta esta técnica es el que se relaciona con la presencia de componentes inorgánicos que consumen dicromato de potasio. Okuda (1964) ha demostrado que en los sedimentos marinos, los cloruros simultáneamente son oxidados por el dicromato de potasio conjuntamente con los materiales orgánicos, originándose así un error positivo. Sin embargo, dicho error ha sido corregido agregando sulfato de plata (Ag_2SO_4) en la mezcla de digestión (Loring 1976), el exceso de $K_2Cr_2O_7$ se valora con una solución de sal de Mohr $Fe(NH_4)_2(SO_4)_2$, usando difenilamina como indicador en presencia de H_3PO_4 Y NaF (Loring y Rantala 1977). La cantidad de carbono orgánico oxidado se calcula a partir de la cantidad de dicromato reducido. La oxidación de la materia orgánica, se desarrolla siguiendo la siguiente reacción:



El principal componente de la materia orgánica (MO) del suelo es el carbono orgánico, por lo que todos los métodos basados en la oxidación del carbono orgánico del suelo sirven como determinación indirecta de la MO. El valor de la MO del suelo se obtiene a partir del contenido en carbono orgánico multiplicado por un factor (coeficiente de Waskman). Otro de los problemas que presenta este método viene a ser la diferencia de condiciones redox del carbono orgánico en los sedimentos, los cuales tienen un efecto directo sobre el consumo de dicromato de potasio. (Niino *et al*, 1969).

1.6.2. Carbono orgánico como CO₂

La catálisis del C total en suelos envuelve la conversión de todas las formas de C a dióxido de carbono (CO₂) por combustión seca y subsecuentemente el CO₂ se cuantifica por gravimetría, titulación, métodos volumétricos, espectrofotométricos o por técnicas de cromatografía de gases. La combustión húmeda del suelo es normalmente llevada con calentamiento (~1000°C) en un horno de resistencia o de inducción, bajo una atmósfera de oxígeno O₂, libre de CO₂ y aire, el suelo es incorporado a una mezcla de dicromato de potasio, ácido sulfúrico y ácido fosfórico. El CO₂ generado es posteriormente cuantificado. Algunos laboratorios están equipados con instrumentos para determinar este gas por cromatografía o gasometría. La última técnica ha sido la más usada, en la cual se ocupa un analizador LECO, en este equipo, la muestra es calcinada en un horno de inducción bajo una corriente de oxígeno purificado el cual transporta los gases producidos a varias trampas; una de polvos, otra de sulfuros y a un convertidor catalítico (para convertir el monóxido de carbono (CO) a CO₂), posteriormente los gases entran al analizador de CO₂, donde desplazan un volumen H₂SO₄ diluido, cuando la combustión termina los gases colectados pasan a un recipiente con KOH en solución, la cual absorbe el CO₂ y entonces regresan a la bureta original, la diferencia de volumen de H₂SO₄ obtenida es usada como medida del CO₂, producido desde la muestra (Johnson y Maxwell 1981). Otra manera de cuantificar el CO₂ producido por la MO es utilizar un horno de tubo Ströhlein el cual opera de manera similar al analizador LECO. Cada muestra se coloca en una navicilla de cerámica a 550°C en el horno bajo una corriente de oxígeno seco y puro, tanto el CO₂ producido como el O₂ residual pasan a una bureta gasométrica y de allí a un vaso absorbedor que contiene KOH al 30% (en donde se atrapa el CO₂); posteriormente el exceso de CO₂ se regresó a la bureta donde finalmente es medido el volumen de CO₂ producido.

La concentración de C orgánico en el suelo no puede ser exacta ni precisa por la variedad en los procesos y la heterogeneidad de la muestra (ver tabla 1.4), ninguna técnica es la más apropiada para determinar y expresar el contenido de C orgánico en el suelo; esto implica que el contenido de materia orgánica no puede ser estimado. Además, el analista estaría entonces en posición para convertir los datos obtenidos de C orgánico al contenido de materia orgánica, usando un factor de corrección.

Tabla 1.4. Comparación de metodologías usadas para la determinación de carbono orgánico en suelos *

METODO	PRINCIPIO	DETERMINACION	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Combustión seca (resistencia calorífica)	La muestra se mezcla con CuO y se calienta a aproximadamente 1000°C en una corriente del O ₂ para convertir todo el C de la muestra a CO ₂	Gravimétricamente, titulación	Método de referencia ampliamente utilizado en otras disciplinas, tamaño de muestra variable	Se consume mucho tiempo, no debe tener fuga, se requiere la entrada constante de O ₂ , hay una salida lenta de CO ₂ de los carbonatos de los suelos alcalinos.
Combustión seca (inducción de calor)	La muestra se mezcla con el Fe o aceleradores y se calienta rápidamente a menos de 1650 °C en una corriente de O ₂ para convertir todo el C a CO ₂	Gravimétricamente, titulación	Hay una combustión rápida, la alta temperatura asegura la conversión total de Carbono a CO ₂	Se requiere la entrada de O ₂ sin fugas, se usa un horno de inducción expansivo
Diferencia entre el carbono total y el carbono inorgánico	Se separa de la muestra el carbono total y el carbono inorgánico	Carbono orgánico= Ct - Ci	Es útil ya que las determinaciones del carbono total y el carbono inorgánico son rutinarias	Se requiere el análisis de separación de los dos, la determinación de carbono total requiere equipo especial, calcular el carbono orgánico por diferencia tiene un inherente error

Continuación

METODO	PRINCIPIO	DETERMINACION	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Determinación del carbono total después de haber removido el carbono inorgánico	El carbono total del suelo es determinado después de haber removido el carbono inorgánico por un tratamiento ácido	C Orgánico = carbono total	La exactitud es buena si la dolomita (rocas de CaCO ₃) está ausente del suelo	No toda la dolomita es removida del suelo por un tratamiento ácido, se necesita un tratamiento especial
Oxidación por dicromato sin calor externo	El dicromato oxida los compuestos orgánicos a CO ₂ en medio ácido, la cantidad reducida de Cr ₂ O ₇ ⁻² esta cuantitativamente relacionada con la cantidad de carbono orgánico presente	Titulación	Es muy rápido y sencillo, no necesita de equipo especial	La oxidación de los compuestos orgánicos es incompleta porque no hay calor externo, necesita un factor de corrección, los resultados pueden ser erróneos por la presencia de cloruros, Fe ²⁺ , y MnO ₂ que interfieren en el método.
Oxidación por dicromato con calor externo	Por este método el dicromato oxida a la materia orgánica y no necesita un factor de corrección	Titulación	Es muy rápido y sencillo, ocurre la completa oxidación de la materia orgánica	Los resultados pueden ser erróneos por la presencia de cloruros, Fe ²⁺ , y MnO ₂ que interfieren en el método. La determinación por titulación no es precisa.
Combustión seca (métodos automatizados)	La muestra se mezcla con catalizadores o aceleradores y se calienta con el horno de resistencia o de inducción en una corriente del O ₂ para convertir toda la C en muestra al CO ₂	Conductividad térmica, conductimetría, detector de infrarrojo, gravimetría	Es rápido y simple, tiene buena exactitud y precisión	El equipo es expansivo, retarda el lanzamiento del CO ₂ de los carbonatos de los suelos alcalinos usando el horno de resistencia

Continuación

METODO	PRINCIPIO	DETERMINACION	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Combustión húmeda	La muestra se calienta con una mezcla de $K_2Cr_2O_7$ - H_2SO_4 - H_3PO_4 en una corriente libre de CO_2 para la conversión total de C a CO_2	Gravimétricamente	Usa equipo fácilmente disponible, buena exactitud, adaptada fácilmente al análisis de soluciones	Se consume tiempo, la determinación gravimétrica requiere de cuidadosas técnicas analíticas, la determinación del CO_2 por titulación no es precisa
Pirolisis	Degradación de los compuestos orgánicos por acción de la temperatura	Infrarrojo, Espectrómetro de masas	Permite el estudio de diferentes tipos de suelos, es una técnica rápida para el estudio de materia orgánica. Se necesita poca muestra.	No se tiene buena reproducibilidad ya que la muestra no es homogénea por las bajas cantidades utilizadas, no distingue el carbono proveniente de la materia orgánica y de los carbonatos, es mas una técnica cualitativa

*Adaptada de Nelson, D. W. y Sommers, L. E. 1982.

1.7. Separación y detección de la materia orgánica

Los procedimientos físicos clásicos de separación de mezclas como la destilación, la cristalización, la complejación, etc., tras laboriosas operaciones pueden conducir a productos de alta pureza, dando poca información acerca de la naturaleza de tales sustancias. Dichos procedimientos han sido desplazados ampliamente por los distintos tipos de cromatografía, que son rápidos, sencillos en su realización práctica y de mayor poder separador.

La cromatografía es un método físico de separación basado en equilibrios, en la cual, los componentes de una mezcla se distribuyen entre dos fases, una estacionaria y otra móvil (Skoog, 1991) y se clasifica dependiendo de la fase estacionaria o móvil.

La cromatografía de gases es un método para separar y cuantificar compuestos orgánicos volátiles o semivolátiles y térmicamente estables, con puntos de ebullición inferiores a 350°C. La cuantificación directa de un analito puede realizarse por medio de los métodos de estándar externo y/o interno (Rubinson *et, al* , 2000).

El uso de métodos espectroscópicos de análisis como la espectrofotometría de infrarrojo con transformada de Fourier o la espectrometría de masas, son importante en la caracterización de sustancias orgánicas. Las técnicas individuales pueden proporcionar fragmentos pequeños de información pero combinadas puede ser de mayor importancia en la caracterización MO. En la tabla 1.5 se comparan los detectores mas utilizados para la caracterización de MO.

Tabla 1.5. Comparación de detectores usados para la caracterización directa del carbono orgánico en suelo

METODO	PRINCIPIO	DETERMINACION	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Ultravioleta visible	La absorción de la radiación electro-magnética en el UV (200-400 nm) y la región visible (400-800nm) esta asociada con transiciones electrónicas.	Los espectros de absorción de sustancias orgánicas son generalmente sin rasgos distintivos, solo consisten en una curva relativamente lisa.	El espectro de absorbancia de los compuestos orgánicos se usa como un análisis cualitativo.	Los picos del espectro son amplios, esto dificulta identificar un compuesto como molécula simple y ciertamente no es posible en una muestra con una mezcla de compuestos orgánicos, la forma lisa indica que hay diversos cromóforos en la muestra. (Skoog, 2000)

Continuación

METODO	PRINCIPIO	DETERMINACION	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Infrarroja (IR)	Es el estudio de las vibraciones moleculares de átomos consolidados. La frecuencia de la absorción es característica del tipo de enlace y del movimiento asociado a la vibración.	El espectro infrarrojo de sustancias orgánicas es simple, con solamente algunas bandas amplias, no definidas, evidencia de la variedad de los grupos funcionales que hay en una muestra de sustancias orgánicas	La interpretación detallada de los espectros para determinar estructuras es posible en moléculas simples. Se requieren pequeñas cantidades de muestra y es un método simple (Stevenson, 1994)	Es muy complicada en mezclas de moléculas complejas. La información ganada es indefinida. Un problema común es la incorporación del agua y nujol entre la matriz de la muestra y la señal. Los resultados deben ser confirmados con otro método de análisis (Bloom, 1989)
Resonancia Magnética Nuclear (NMR)	La aplicación de un campo electro-magnético para orientar los núcleos y la posterior absorción de radiofrecuencia.	La RMN ^1H y RMN ^{13}C pueden ser utilizado para la caracterización de sustancias orgánicas en una muestra, aunque la abundancia relativamente baja de ^{13}C (cerca de 1.1%) pone demandas considerables en la instrumentación y el metodología	Es importante como una fuente de información referente a la estructura. Se utiliza generalmente para comparar la diferencia en la concentración de los grupos funcionales principales en las muestras de materia orgánica (Wilson, 1983)	Hay un número de problemas asociados al estado líquido en NMR por la cantidad de muestra requerida (100-200 mg.), la insolubilidad de algunos compuestos en solventes convenientes, la interferencia del agua en RMN ^1H y los tiempos largos de análisis requeridos (2-12 h es común para H-NMR y hasta 1 semana para RMN ^{13}C , cuando hay muestras pequeñas) (Krosshaven. 1990)

Continuación

METODO	PRINCIPIO	DETERMINACION	VENTAJAS	DESVENTAJAS
Fluorescencia	La radiación UV-visible absorbida por una molécula se puede disipar como calor y/o radiación. Electromagnética en una longitud de onda más larga.	La observación de fluorescencia no es totalmente fluorescente, ya que las sustancias orgánicas absorben la radiación en una amplia gama de longitudes de onda y algo de la radiación de la fluorescencia son reabsorbidas por la muestra.	Se usa para caracterizar las muestras de materia orgánica, pero por un número de razones no ha ganado la aceptación general (Senesi, 1990)	La concentración en la cual la fluorescencia alcanza un máximo, es dependiente de la naturaleza de la sustancia orgánica y su concentración. No ha sido posible correlacionar con detalle los espectros observados de la fluorescencia de sustancias orgánicas o las características de estas sustancias así que la utilidad de esta técnica es limitada.
Pirolisis (Py)	La pirolisis (Py) se define como la ruptura de una macromolécula en fragmentos pequeños con la acción la temperatura.	Las moléculas se fraccionan y los productos de descomposición son reflejo de la estructura molecular y su estabilidad térmica, por lo que un espectro es indefinido y no se logra identificar con facilidad los productos (Hempfling, 1991)	Los datos ganados de cada análisis se pueden utilizar como huella digital de esa muestra. Es la capaz de analizar muestras enteras del suelo. Es rápido	Al obtener los productos de la pirolización se es necesario otras técnicas para analizarlos e identificarlos, por lo que no es cuantitativa

La espectrometría de masas constituye una de las herramientas más versátiles y poderosas para la identificación de moléculas orgánicas, por medio de su patrón de fragmentación característico y único. Sin embargo, una de sus principales dificultades consiste en establecer cuales son las distintas especies que puedan estar presentes en una mezcla de compuestos. Los métodos acoplados de análisis como lo son la

cromatografía-espectrometría de masas presenta muchas ventajas, entre ellas, permite separar e identificar al mismo tiempo a los componentes de una mezcla (McMaster *et al.* 1998), admite cualquier tipo de muestra siempre y cuando sea volátil y térmicamente estable, no necesitan ser aisladas o purificadas antes de análisis, permite el estudio de sustancias que se descomponen fácilmente al contacto con la atmósfera e identifica los compuestos separados sin la necesidad de estándares, es una técnica sensible, rápida, útil para seguir el curso de las reacciones y puede identificar compuestos que no se separen en el cromatógrafo, permitiéndole tener un amplio campo en el estudio de MO.

1.8 Marte y la materia orgánica

La determinación de material orgánico y carbonatos en el planeta Marte nos podría dar indicios de la presencia de vida presente o pasada en este, comparándola a su vez con el origen del carbono en nuestro planeta. Para el año 2009, la NASA (National Aeronautics and Space Administration) planea enviar un robot/ trasbordador al planeta rojo, con la misión de buscar la presencia de rastros de vida. Para ello utilizará un sistema de perforación que tomara muestras de suelo a varios decímetros de profundidad. Dichas muestras podrían contener material orgánico de épocas pasadas en la que la atmósfera de Marte era capaz de asegurar el desarrollo de la vida y donde los remanentes orgánicos se han preservado de la destrucción, por la fuerte radiación y oxidantes que saturan la superficie (McKay *et al.*, 1998).

El material orgánico no fue descubierto en la década de los setenta por el experimento de Py-GC/MS (pirolisis-cromatografía de gases-espectrometría de masas) de la misión espacial Vikingo, (Biemann *et.al.*, 1976 y Klein, *et al.*, 1978). Posiblemente las causas habrían sido la dificultad de detectar aminoácidos (son

destruidos al calentarse) y el tener un umbral relativamente alto para ver los productos de la descomposición de estos. Además, el Vikingo muestreó los primeros 10 centímetros de profundidad del suelo marciano, donde se prevé que el material orgánico se encuentra oxidado o destruido (Zent, 1994) y se transforma en sales de los ácidos carboxílicos, que son sustancias altamente refractarias y que seguramente no pudieron ser descompuestas en sustancias volátiles más simples en la pirolisis realizada por los Vikingos ($T_{max}= 500^{\circ}C$) por lo que no se observó ninguna señal. Navarro-González, *et al* 2006 han demostrado que el experimento de Py-CG-MS realizado por el Vikingo en el suelo marciano, pudo dar lugar a resultados erróneos, ya que su equipo fue calibrado en sitios totalmente diferentes a los observados en el planeta rojo.

1.9 Validación de una técnica analítica

Se entiende por validación, al proceso de evaluación de las características de un procedimiento de medida y la comprobación de que dichas características cumplen una serie de requisitos preestablecidos. La validación establece y suministra evidencias documentales de que el proceso de medida es útil para el uso previsto, ya sea de carácter prospectivo, retrospectivo o de revalidación, permite obtener conocimiento de las características de funcionamiento del Proceso Analítico, proporcionando un alto grado de confianza y seguridad en el mismo (NORMA ISO/IEC 17025, 1999). Un método debe ser validado cuando es necesario verificar que sus parámetros de desempeño son adecuados, por ejemplo, cuando se desarrolla un método nuevo, si se adquiere un equipo nuevo, cuando se le hace algún cambio significativo a un método validado o se quiere demostrar que el método es equivalente a uno publicado, cuando un método de prueba se utiliza en un laboratorio diferente o se cambia de analista. La validación de

un procedimiento analítico normalmente consta de 3 pasos: Establecimiento de las condiciones por cumplir por parte de la metodología, los cuales se determinan por normatividad o por petición de un cliente. Determinación de los parámetros del procedimiento; los cuales son determinados por el responsable que desarrolla la metodología. La valoración de los resultados y la decisión de la validez del procedimiento para el propósito establecido; se toma considerando las pruebas estadísticas a las cuales fueron sometidos los datos obtenidos con la metodología desarrollada (Guía de validación de Métodos Analíticos, 2002).

1.9.1. Confirmación de identidad

Es necesario establecer que la señal producida en la etapa de medición, u otra propiedad medida sólo sea debida al analito y no a la presencia de alguna sustancia física o químicamente similar, que se haya presentado como una coincidencia. Ésta es la confirmación de identidad.

1.9.2. Intervalo de trabajo

El intervalo de trabajo se establece examinando muestras con diferentes concentraciones del analito y determinando el intervalo de concentración para el cual puede lograrse una incertidumbre aceptable. Se refiere al intervalo de valores de concentración en las disoluciones que se miden realmente y no a la concentración en la muestra original. A diferencia de él, el intervalo lineal se establece analizando un número de muestras con varias concentraciones del analito y calculando la regresión de los resultados. (NORMA ISO/IEC 17025, 1999).

1.9.3. Linealidad del sistema

La linealidad del sistema es una medida que asegura que la relación entre la respuesta obtenida por el instrumento y la concentración del analito tiene una tendencia o comportamiento lineal en un intervalo dado. En esta prueba se quiere comprobar si hay una variación directa y proporcional entre dos variables, la dependiente (respuesta del equipo) y la independiente (concentración del analito). La curva de calibración se realiza con un analito de referencia o un estándar de alta pureza. Se necesita un mínimo de seis puntos de calibración más el blanco, espaciados uniformemente en todo el intervalo de trabajo. El factor de correlación r^2 debe ser mayor de 0.99. Al desarrollar métodos es necesario evaluar intervalo de confianza (Guía de validación de Métodos Analíticos, 2002):

$$r^2 \geq 0.99 \text{ ó } r \geq 0.99$$

Si se cumple con estas condiciones, se puede aplicar una prueba de hipótesis a la ordenada obtenida de la regresión, para observar si la curva de calibración parte del origen, esto se realiza para decidir el tipo de ecuación a utilizar para el cálculo cuantitativo.

1.9.4. Límite de detección (LD)

En los resultados analíticos que están muy cercanos al valor de una muestra blanco, se plantea la duda de si el valor obtenido corresponde a valores aleatorios del blanco o a la presencia real del analito, pues lo que se conoce como la señal de fondo exhibe ruido y es producida por el blanco. El límite de detección es la menor

concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas en la prueba. (Miller, 1993).

1.9.5 Límite de cuantificación (LC)

Es la cantidad más pequeña del analito en una muestra que puede ser cuantitativamente determinada con exactitud aceptable. Es un parámetro del análisis cuantitativo para niveles bajos de compuestos en matrices de muestra y se usa particularmente para impurezas y productos de degradación. Se expresa como concentración del analito (Guía de validación de Métodos Analíticos, 2002).

1.9.6. Precisión

La precisión cuantifica la dispersión de una serie repetida de ensayos analíticos obtenidos sobre una muestra en el mismo laboratorio, con el método a validar. Depende de errores aleatorios (Montgomery, 1991). Se puede evaluar en dos condiciones diferentes: *Repetibilidad*, según que los resultados que integran la serie se obtengan consecutivamente uno tras otro, utilizando la misma muestra, analizada por el mismo analista, con los mismos equipos y reactivos. Los resultados de esta prueba (igual que en el caso de precisión del sistema) normalmente no deben ser mayores del 2% del coeficiente de variación (o desviación estándar relativa) para concentraciones altas y no más del 5% para concentraciones del orden de trazas para metodologías con aplicación de técnicas cromatográficas. *Reproducibilidad*, es el grado de concordancia de las mediciones realizadas por dos o más analistas utilizando el mismo método, instrumentos y/o aparatos. La precisión se puede determinar tanto para el sistema (es el grado de concordancia de las diferentes mediciones de una misma propiedad), como

para el método (se puede expresar como repetibilidad o reproducibilidad) (NORMA IRAM-IACC-ISO-E 8402, 1994).

1.9.7. Exactitud

Indica la capacidad del método analítico para obtener resultados lo más próximos posibles al valor verdadero o de referencia. La evaluación de este parámetro, en un laboratorio de ensayos, requiere del valor de referencia, el cual debe ser suministrado junto con los materiales de referencia (patrones) adquiridos. Mediante pruebas estadísticas, se compara el valor obtenido de los patrones analizados por el laboratorio, con respecto al valor verdadero o de referencia (NORMA ISO/IEC 17025:1999).

1.9.8. Recobro o recuperación

En el caso de muestras o matrices en los que no es simple realizar linealidad del método, es común realizar el cálculo de recobro para tomar a éste como un factor importante de corrección para los cálculos cuantitativos que se realicen al analizar las muestras. En este caso el recobro es el resultado expresado en términos de porcentaje de la comparación entre la concentración del analito problema que se obtiene y la concentración que debe obtenerse después de tratar una muestra a la que se le ha adicionado una concentración conocida de analito lo que es conocido como “muestra fortificada” (Guía de validación de Métodos Analíticos, 2002).

Para obtener el % de recobro se aplica la siguiente operación:

$$\% \text{ Recobro} = \frac{[\text{Conc. analito}]_{\text{obtenida}}}{[\text{Conc. analito}]_{\text{Teórica}}} \times 100$$

CAPITULO 2. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es desarrollar, implementar y probar una técnica analítica, que permita la determinación de material orgánico en suelos hiperáridos como posibles análogos de Marte.

Objetivos específicos

- Diseñar un dispositivo que permita la captura del dióxido de carbono generado de la reacción de oxidación de la materia orgánica proveniente de suelos, estableciendo las condiciones óptimas de reacción.
- Implementar un método acoplado de análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masa (GC-MS) que permita separar, identificar y cuantificar el dióxido de carbono generado de la reacción de oxidación de la materia orgánica contenida en suelos.
- Validar la técnica analítica en línea, seleccionando una serie de parámetros como son: linealidad, precisión, límite de detección y cuantificación, tratando de obtener un recobro entre el 90 y 110% y un coeficiente de variación igual o menor al 5%.
- Aplicar la técnica para determinar el contenido de material orgánico en suelos de un transecto superficial este- oeste en el desierto de Mojave-EEUU, tratando de localizar posibles zonas con características parecidas a las observadas en Marte.

CAPITULO 3. METODOLOGIA

Los gases utilizados durante todo el proceso experimental se encuentran en cilindros metálicos (tanques) ubicados dentro de dos cuartos especiales, uno para gases combustibles y tóxicos y otro para gases no tóxicos, separados del laboratorio principal. Cada tanque es conectado a un regulador de dos etapas que tiene un filtro de línea (para partículas mayores a 2 μm), el cual a su vez se conecta a una tubería de acero inoxidable por medio de la cual fluye el gas hacia el sistema de mezclado, donde se preparan las mezclas de calibración. Al final de la tubería, existe una válvula restrictora de flujo para cada línea, que impide el retroceso del gas hacia los tanques.

La mezcla de calibración es preparada utilizando una mezcladora marca Linde FM-4660, la cual consta de 8 canales electrónicos que controlan y miden el flujo másico de cada gas por medio de su conductividad térmica (cada canal es utilizado para un gas específico y esta conectado por medio de la tubería de acero con el tanque respectivo) el flujo máximo y mínimo de gas por canal es de 20 y 2 ml/ min respectivamente. La mezcladora esta equipada con medidores de presión Omega DP-350, de vacío Combitron CM 351; de temperatura Omega DP-80 y un termómetro digital con una precisión y exactitud de ± 0.1 y 0.2 $^{\circ}\text{C}$ respectivamente.

La mezcla de gases es almacenada en una bala o cilindro metálico de acero inoxidable de 4 litros de capacidad en donde se expande y termina de mezclarse, a la cual previamente se le hace un vacío de 8.6×10^{-3} mbar. Posteriormente se deja a que termine de mezclarse por completo durante 24 horas. Una vez mezclado los gases pasan a través de un tubo de acero inoxidable en donde se encuentra una válvula restrictora de flujo de seguridad para evitar que la mezcla de gases regrese o cambie de línea.

La bala se conecta a la línea de vacío a través de una tubería de acero inoxidable, la cual pasa por una válvula neumática y luego por un transductor Omega PX602, el cual sirve para medir la presión en el interior de la bala (conectado al medidor de presión Omega DP-350). Posteriormente la tubería se une a dos válvulas de flujo, una micrométrica y otra macrométrica (Nupro 55-4BMG y SS-4BMRG respectivamente), que sirven para controlar manualmente el flujo de gas de la bala a la línea. El gas fluye después a través de una válvula de liberación que opera debajo de 1053 mbar arriba de esta presión se cierran las válvulas neumáticas y se detiene el flujo de los gases, evitando así la posible ruptura de la línea, lo que podría ocasionar un accidente. Observe la Fig. 3.1, en donde se muestra una imagen del sistema de mezclado y almacenamiento de la mezcla de CO₂ en N₂ para la curva de calibración

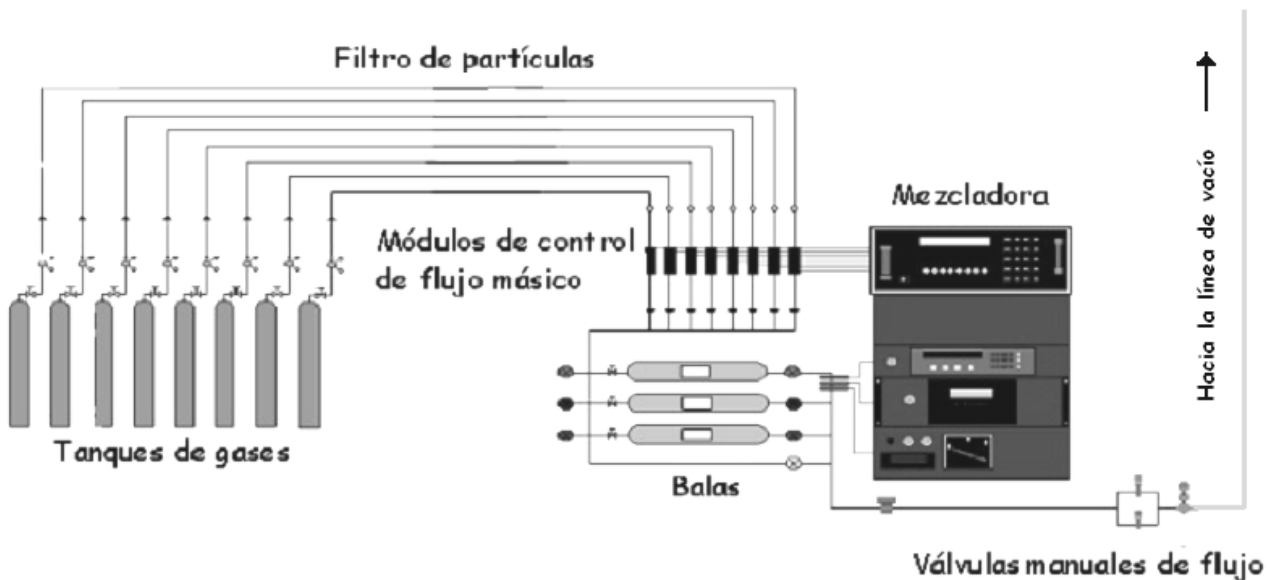


Figura 3.1. Esquema del sistema de mezclado y almacenamiento de la mezcla para la curva de calibración

La línea de vacío nos permite evacuar el aire atmosférico (principal contaminante en nuestra determinación) de nuestro dispositivo, trampas, reactor, etc., es de vidrio Pyrex (resiste alta y baja presión y temperatura). Existen dos detectores, uno de vacío mediano (Leybold TR 301 DN16KF modelo 15740 con filamento de tungsteno) que detecta presiones de hasta 9.9×10^{-4} mbar. El segundo es un detector de alta presión (Leybold DI 2000 modelo 15813 con una reproducibilidad de 0.1%) que detecta presiones de 1 mbar a 200 mbar. La presión es leída a través de un medidor de presión COMBITRON CM 351 que tiene un sistema Leybold para hacer una medición continua de vacío controlado por un microprocesador, el intervalo en el que procesa es de 9.9×10^{-4} a 1053 mbar. En la línea de vacío existen llaves plásticas (teflón) para alto vacío las cuales están compuestas por tres empaques (o-ring), dichas llaves permite el llenado y evacuación del sistema utilizado, ya que la línea se encuentra conectada a una bomba de vacío por medio de una manguera metálica de acero inoxidable a través de la unión de tipo brida por un lado y de una terminación de junta con un empaque (o-ring de alto vacío) del otro. Estos empaques tienen forma de anillo y están elaborados de etileno-propileno y resisten al alto vacío evitando posibles fugas.

La bomba de vacío es de espas rotatorias (serie B modelo DUO 008B de Balsers Vacuum Components). Tiene una velocidad nominal de flujo de vacío de $11.1 \text{ m}^3/\text{h}$ y proporciona una presión de vacío menor a 2×10^{-2} mbar. Esta conectada a una bomba de difusión de aceite, el cual es calentado por un reóstato hasta alcanzar una presión de vapor aceptable con lo que se obtienen una presión menor a 10^{-3} mbar. , la Fig. 3.2 muestra el esquema del la línea de vacío y bombas.

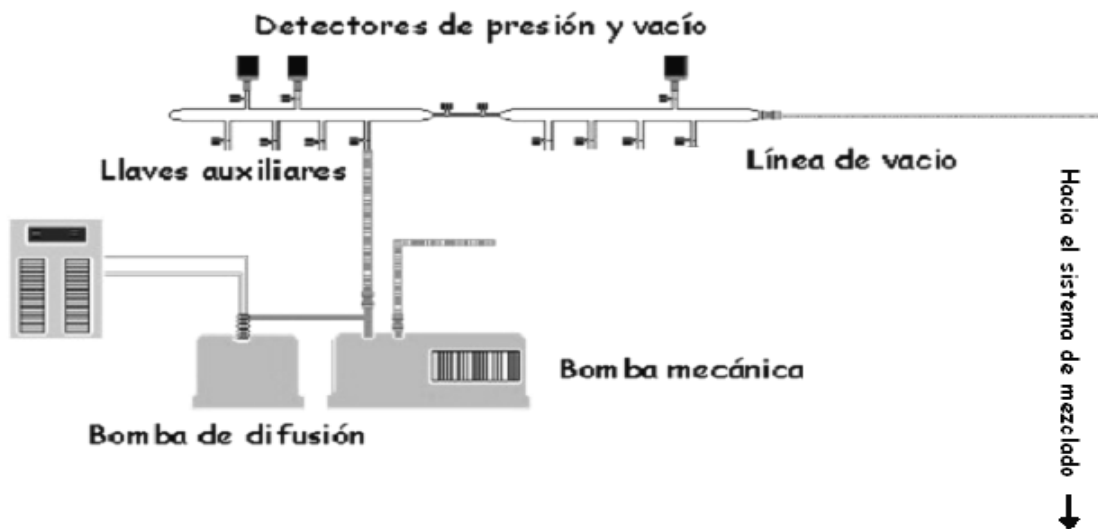


Figura 3.2. Esquema de la línea de vacío y sistema de bombeo

3.1. Análisis cuantitativo

3.1.1 Descripción de las trampas condensadoras de gas utilizadas.

Las trampas de vidrio Pyrex que se utilizan son de forma “U” (llamadas A y B), en su interior contienen núcleos de condensación de vidrio Pyrex, a las cuales se les adapta una llave de teflón para alto vacío por cada terminación, que permiten la conexión de la trampa a la línea de vacío o el sistema acoplado de análisis, cada una esta compuesta de tres empaques (o-ring) que evitan las posibles fugas.

3.1.2 Determinación del volumen de la trampa

Para determinar el volumen de la trampa condensadora de gases se requiere primero de conocer el volumen de un reactor esférico (V_{RE}) de vidrio Pyrex que permita conocer a su vez el volumen de la línea de vacío. Se conecta el RE a la línea hasta

alcanzar un vacío de 3.5×10^{-3} mbar y se pesa, este valor es m_1 , posteriormente se llena por medio de la línea de vacío con 1000 mbar de nitrógeno molecular (PM= 28 g/mol, grado 5.0 Ultra Pureza (U.A.P, Praxair de México S. de R. L. de C.V) y se pesa nuevamente, obteniendo la m_2 . La diferencia de masas es igual a la masa del nitrógeno molecular (N_2) dentro del reactor, con lo que el volumen de dicho reactor se calcula aplicando la ecuación de los gases ideales (3.1), la temperatura dentro del laboratorio se mantiene en 25°C (ver anexo, tabla 1).

$$PV_{RE} = nRT \quad (3.1)$$

Donde:

V_{RE} = volumen del reactor

n = moles obtenidos de $(m_2 - m_1)/pM$ del N_2

$R = 83.14012 \text{ L mbar K}^{-1}\text{mol}^{-1}$

T = Temperatura de trabajo (K)

P = Presión del gas en el reactor (mbar)

El Volumen de la línea (V_L) se determino a partir del V_{RE} conocido, llenando y cerrado este a una presión de 1000 mbar (P_1) de N_2 . La línea se vacía y el N_2 del RE se expande obteniendo una segunda presión (P_2). Se aplica entonces la ecuación de la ley de Boyle-Mariotte, (3.2), calculando el volumen (V_2) que corresponde a $V_L + V_{RE}$. La diferencia de volúmenes nos permite calcular el volumen de dicha línea (ver anexo tabla 2).

$$P_1V_2 = P_2V_2 \quad (3.2)$$

El volumen de la trampa “U” se determina conectándola a la línea y realizándole vacío, posteriormente, se cierra y la línea se llena a una presión de 1000 mbar (P_1) con N_2 , luego se abre una de las dos llaves de teflón de la trampa con lo que el nitrógeno se expande, se obtiene una segunda presión P_2 , con este dato se calcula el V_L mas el de la trampa con la ecuación 3.2. La diferencia de volúmenes nos da entonces el volumen de la trampa que es de $0.04230 \text{ L} \pm 0.00116$.

3.1.3. Preparación de la mezcla de gases y curva de calibración.

La mezcla gaseosa utilizada para la curva de calibración, es de dióxido de carbono en nitrógeno (99.98 y 99.999% de pureza respectivamente, adquiridos de la compañía Praxair Inc). Dichos gases se mezclan mediante los controladores de flujo másico de la mezcladora, la cual controla las proporciones y flujos de los gases al ingresar a la bala. Realizamos primeramente una mezcla al 10% de CO_2 en N_2 a una presión de 60 psi, la cual se almacena y homogeniza durante 24 horas, después de este tiempo se llena la trampa “U” por medio de la línea de vacío a diferentes presiones (1000, 800, 600 y 400 mbar), posteriormente dicha trampa se conectaron al sistema acoplado de análisis de cromatografía de gases y espectrometría de masas (GC-MS) y consecutivamente se le realiza vacío al sistema de inyección. Se inyecta y mide la respuesta del equipo de la fracción mol de CO_2 (X_{CO_2}). Se siguió el mismo procedimiento para las mezclas 4, 1, 0.4, 0.1 % de CO_2 en N_2 . Es importante mencionar que se realizaron mas de tres replicas de la inyección de cada una de las X_{CO_2} .

3.1.4. Preparación del blanco de suelo.

Con la finalidad de poder validar la técnica que se propone para la determinación de material orgánico en suelos hiperáridos. Se decidió tomar una porción de muestra de suelo proveniente del desierto de Mojave, la cual se molió finamente en un mortero de Ágata y con la finalidad de eliminar los carbonatos presentes, se le realizaron tres lavados con HCl 1M, para favorecer la reacción ácido-base, se calentó (50°C) y agitó constantemente. Posteriormente se eliminaron de la muestra de suelo los cloruros por medio de varios lavados con agua destilada, hasta que el sobrenadante dio negativa la prueba de nitrato de plata (AgNO₃). La muestra entonces se seca en la estufa a 75°C por 2 horas y después se calcina en una mufla a 500°C por 24 horas, para asegurar la eliminación total del material orgánico. Se le realizaron pruebas de presencia de carbonatos por medio de una técnica ácido-base de retrotitulación y de material orgánico por oxidación en vía húmeda con permanganato de potasio.

3.1.5. Implementación de la técnica analítica en línea para la determinación de material orgánico.

Previamente a la determinación de materia orgánica en muestras de suelo, el material utilizado debe estar perfectamente limpio y seco. En algunos casos se decidió fortificar la muestra blanco de suelo con cantidades conocidas de Acido Oxálico (H₂C₂O₄) y en otros se tomaron muestras provenientes del desierto de Mojave-EEUU (recolectadas por el Dr. Rafael Navarro- González en marzo del 2007). Se introduce entonces al reactor ~1 gramo (Fig 3.3) de muestra, cinco perlas de vidrio y el agitador

magnético, posteriormente, se cierra el reactor y se conecta a las trampas condensadoras “U” y a la línea de vacío por medio de mangueras de teflón y conexiones de acero inoxidable. Se deja que se alcance un vacío de 10^{-3} mbar, verificando en todo momento que los tapones, conectores, mangueras, etc., estén colocados correctamente para evitar posibles fugas, una vez que se alcanza el vacío, se enciende el recirculador para mantener una temperatura de -2° C en el transcurso de toda la reacción, con la finalidad de que el vapor de agua que se genera en esta no pase a las trampas y línea de vacío. La trampa “UA” se introduce en un Dewar que contiene un baño de nitrógeno líquido (-180° C). Por medio de la llave de purga del reactor se agrega con una pipeta pasteur ~ 5 mL de ácido sulfúrico al 30% (H_2SO_4) hasta llenar el bulbo, se cierra entonces la llave. Se abre la llave del reactor lentamente para dejar caer todo el H_2SO_4 hacia la muestra de suelo, se cierra la llave y se establecen las condiciones de temperatura agitación y tiempo (50° C, 516 rpm y 5 min respectivamente), se asegura que se llevó completamente la reacción ácido-base ya que se alcanza un vacío similar al inicial en todo el sistema, se quita el calentamiento y se esperan 5 min más, de modo que el sistema se tempere. El CO_2 generado de la descomposición de los carbonatos presentes en el suelo se colecta dentro de trampa fría “UA”, los trozos de vidrio dentro de esta trampa sirven como núcleos de condensación para algunos gases. Posteriormente, por la misma llave de purga se agrega con otra pipeta pasteur ~ 5 mL de una solución saturada de permanganato de potasio ($KMnO_4$), la trampa “UB” se introduce en un segundo Dewar con nitrógeno líquido, se establece el vacío y se deja caer lentamente el permanganato de potasio hacia el suelo y la solución que se encuentran en condiciones ácidas, se cierra la llave y se establecen las condiciones de trabajo (temperatura, agitación y tiempo (120° C, 516 rpm y 10 min)) que permiten asegurar que la reacción de oxidación-reducción se haya llevado a cabo

totalmente. El CO_2 generado por la descomposición de la materia orgánica del suelo es colectado en la trampa fría “UB”, la reacción se culmina cuando el vacío llega alcanza su valor inicial. En ambas reacciones se registra la presión máxima alcanzada y el tiempo que tardo el sistema en establecer el vacío. Al terminar dichas reacciones se cierra la llave de vacío, se baja la temperatura y se apaga la agitación, procediendo a presurizar las trampas “UA y B” con nitrógeno (N_2) a 110 y 115 mbar respectivamente, posteriormente se cierran.

Finalmente se cierran las llaves de la línea de vacío, se apaga el recirculador y se desconectan del dispositivo las trampas “U”, las cuales se dejan temperar en la campana por seguridad, posteriormente, se conectan por medio de un conector metálico al sistema de inyección de gases de un equipo acoplado de análisis, al cual se le realiza un vacío de -8.6 psi para eliminar por completo el dióxido de carbono proveniente del aire. Se procede a la inyección para la separación, identificación y cuantificación del CO_2 generado, la Fig. 3.3 muestra el dispositivo utilizado para la determinación de material orgánico en suelo por la técnica implementada.

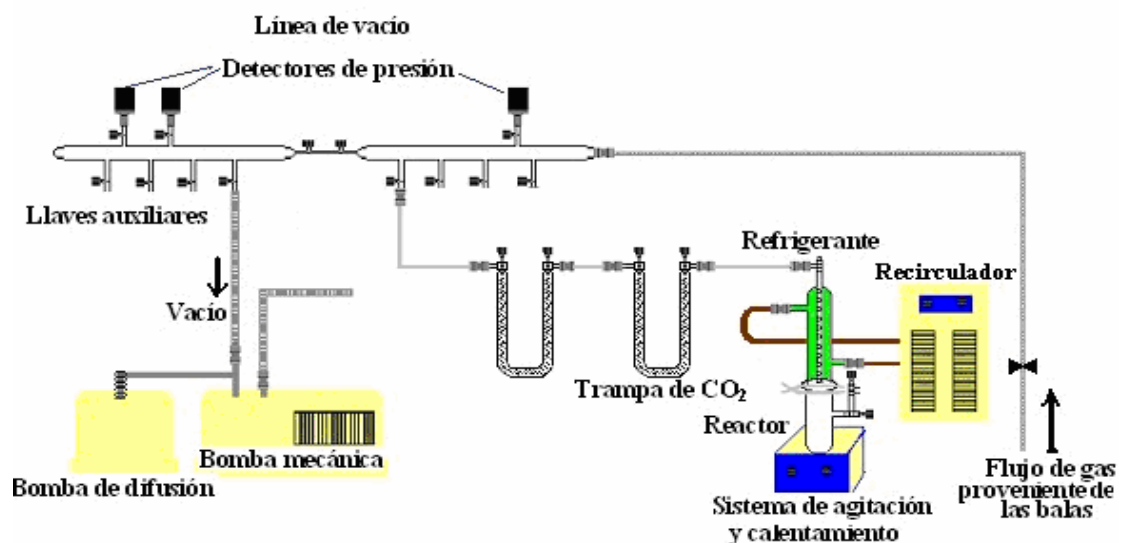


Figura 3.3. Dispositivo implementado para la determinación de material orgánico en suelos.

3.2. Análisis cualitativo

La técnica utilizada para el análisis cualitativo del CO₂ generado de la reacción óxido-reducción del material orgánico del suelo, es la Cromatografía de Gases (GC) acoplada a Espectrometría de Masas (MS). El cromatógrafo de gases es Hewlett Packard serie 5890, el cual consta de un sistema manual de inyección de gases unido a un circuito de inyección de 10 ml, con un divisor de flujo (Split), la columna es capilar tipo poraBOND Q de sílice fundida de 50 metros × 0.32mm de diámetro interno y una película de 5µm de un copolímero de estirenodivinilbenceno. La separación se realiza en condiciones de isoterma a 35°C por 10 min. Se utilizó como gas acarreador helio (He) de pureza 99.999% comprado a la compañía Praxair. México, a un flujo de 2 ml por minuto. El cromatógrafo de gases esta conectado por medio de una interfase que se calienta a 260°C a un espectrómetro de masas que sirve como detector. El cual es de tipo cuadrupolo (Hewlett Packard 5989B), operado en modo de impacto electrónico a 70eV y en forma de monitoreo selectivo del ión 44 (SIM).

La confirmación del CO₂ en el sistema acoplado de análisis se realizó mediante la inyección de un estándar de este gas ya que el pico cromatográfico de un compuesto conocido siempre sale al mismo tiempo de retención, bajo las mismas condiciones cromatográficas. Además para determinar que efectivamente el tiempo de retención correspondiera al CO₂ en el espectrómetro de masas se decidió hacer un barrido de iones 10-100 m/z (SCAN) y entonces se volvió a correr dicho estándar, el patrón de fragmentación obtenido se comparó con el de la biblioteca electrónicas Wiley 138 y se verificó por medio de mecanismos de fragmentación que la estructura propuesta produjera los iones mayoritarios (masa/carga (m/z)) que producen señal en el espectro de masas del compuesto en cuestión. La Fig. 3.4 muestra el equipo utilizado para la

identificación y separación del dióxido de carbono obtenido de la descomposición del material orgánico presente en muestras de suelo.



Figura 3.4. Sistema acoplado de análisis de cromatografía de gases-espectrometría de masas del laboratorio de Química de plasmas y estudios planetarios del Instituto de Ciencias Nucleares (UNAM).

3.3. Validación de la técnica

Linealidad. Se gráfico la respuesta obtenida del equipo (área) en función de los microgramos de carbono, que se obtuvieron de la fracción mol de dióxido de carbono de cada una de las mezclas inyectadas. Se utiliza el método de mínimos cuadrados para calcular la ecuación de la línea que mejor ajusta al conjunto de datos apareados de la curva de calibración, obteniendo el coeficiente de correlación, la pendiente, la ordenada y el coeficiente de variabilidad ya que cada estimación se realizó por triplicado.

Limites de detección y cuantificación. Para la determinación de estos parámetros se corrieron 10 blancos usando la muestra blanco de suelo (apartado 3.1.4) y se realizó la reacción por vía húmeda con permanganato de potasio, posteriormente se le hizo el análisis estadístico a las muestras y se obtuvo el promedio y la desviación estándar, con estos resultados se calculo el límite de detección y cuantificación a partir de $LD = \text{promedio del blanco} + 3 \text{ DE}$ y $LC = \text{promedio del blanco} + 10 \text{ DE}$, respectivamente, en donde DE es la desviación estándar de los blancos.

Recobro. Ésta prueba nos permite validar la técnica y definir las condiciones óptimas de trabajo. Para ello se adiciono a la muestra blanco (vea sección 3.1), ácido Oxálico ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) equivalente a 500 μg de C, realizando la determinación de material orgánico a partir de la reacción por vía húmeda con permanganato de potasio (apartado 3.1.4.). Se hicieron 10 replicas de esta prueba y se obtuvo el % de recobro, considerando un posible error del 10% de que el valor que se obtenga no sea el adecuado y considerando un coeficiente de variación del 5%.

Precisión. Para el ensayo de repetibilidad, cuatro de las diez replicas del recobro, se analizaron bajo las mismas condiciones de trabajo (apartado 3.1.5), día y analista.

CAPITULO 4. RESULTADOS Y DISCUSION

4.1. Confirmación e identificación del CO₂.

Para la identificación del dióxido de carbono generado por la oxidación de material orgánico en muestras de suelo, se inyectó un estándar de este compuesto, bajo las mismas condiciones cromatográficas (vea la sección 3.2) excepto que la forma de monitoreo fue de barrido de iones (SCAN) 10-100 m/z⁻¹. La Fig. 4.1 muestra que el tiempo de retención para este analito es de 5.8 min. Para confirmar a este compuesto, además, se obtuvo un espectro de masas, el patrón de fragmentación obtenido se comparó con una base electrónica de espectros de la biblioteca Wiley 138.

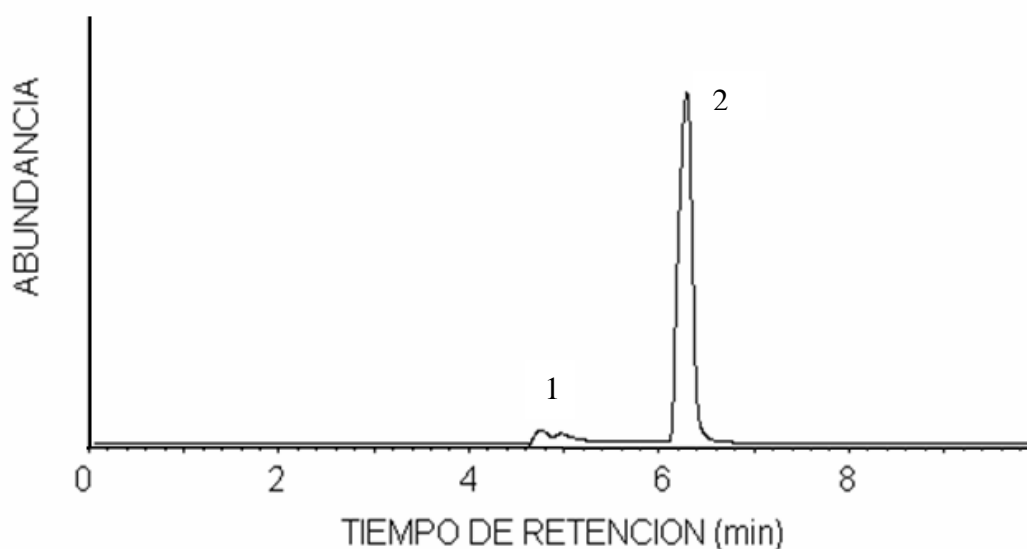


Figura 4.1. Cromatograma obtenido para un estándar de CO₂. Inyección Split. Columna PoraBOND Q de 50 m x 0.32 mm de D.I., 5 μm de película de un copolímero de estireno-divinilbenceno, condiciones de separación isoterma a 35°C por 10 min. Gas acarreador He a un flujo de 2 mLmin⁻¹. Detector, espectrómetro de masas operado en modo SCAN (10-100 m/z) a 70 eV. Identificación 1= Nitrógeno, 2= Dióxido de Carbono.

La Fig. 4.2., muestra el patrón de fragmentación obtenido para el estándar de CO₂, en donde se puede observar que el ión molecular y pico base corresponden al 44 m/z. Con esto podemos afirmar que efectivamente el pico cromatográfico corresponde a dicho compuesto.

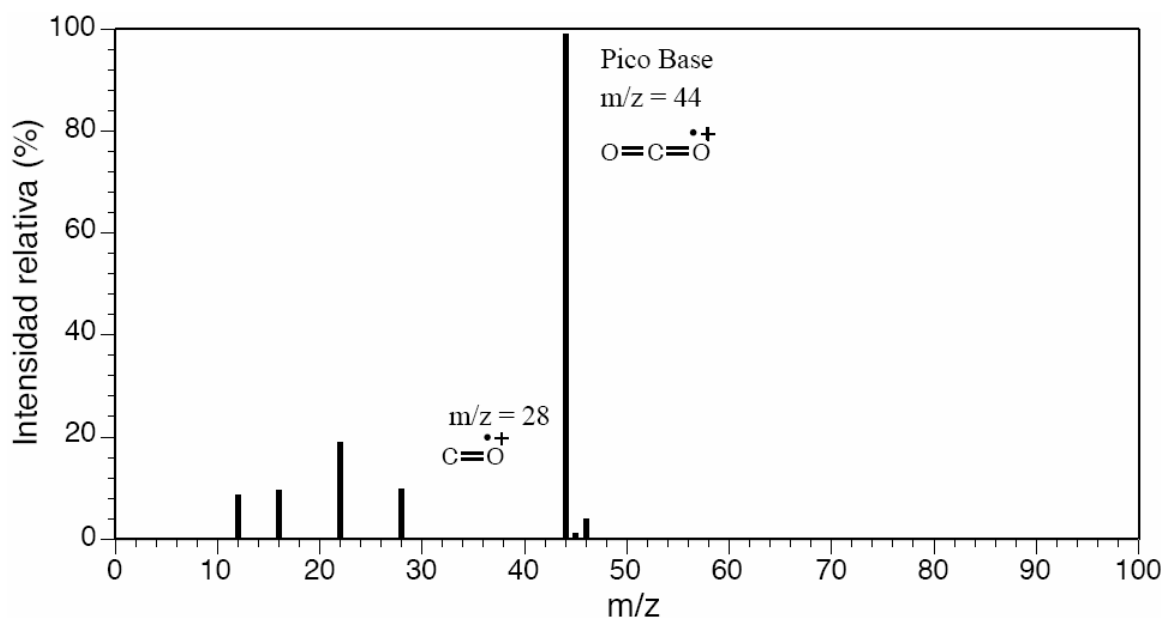
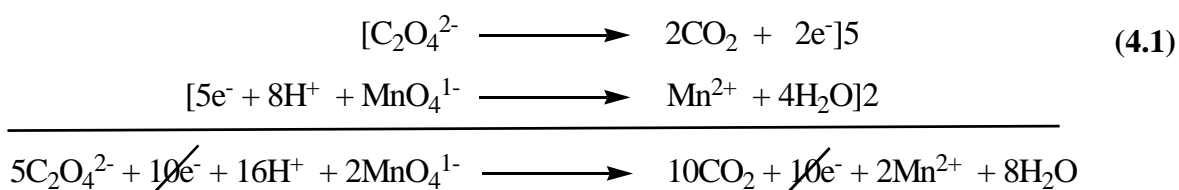


Figura 4.2. Espectro de masas para un estándar del CO₂.

La reacción 4.1 explica la manera en el que el permanganato de potasio oxida el ácido oxálico para la formación del dióxido de carbono. El ión permanganato (MnO₄⁻) se reduce a Mn²⁺, es un oxidante potente (E°= 1.51 volts (potencial de oxidación)), relativamente barato y de color violeta muy intenso. Esta última propiedad hace que sea posible utilizarlo en medio acuoso como un autoindicador. La toxicidad de este ión, disminuye significativamente en medios ácidos y se ha demostrado que es el oxidante ideal para ser utilizado en la reacción por vía húmeda. El oxalato se oxida a CO₂.



4.2. Linealidad.

La cuantificación del dióxido de carbono se realizó por medio de estándares de concentración conocida de CO₂ en N₂, utilizando el método de estándar externo. La trampa "U" calibrada se llenó a diferentes presiones con éstos y se inyectaron bajo las mismas condiciones cromatográficas mencionadas anteriormente (sección 3.2). Cada uno de los estándares fue inyectado por triplicado (ver anexo, tabla 5). La Fig. 4.3 muestra la respuesta del equipo en función de los microgramos de C de cada uno de los estándares inyectados (curva de calibración).

La gráfica presentada en la Fig. 4.3., muestra que los datos apareados presentan linealidad y posible tendencia al origen. La regresión lineal confirma dicho hecho.

Pendiente (a)= 738324

Ordenada al origen (b): -3×10^7

Coefficiente de correlación (r^2): 0.991

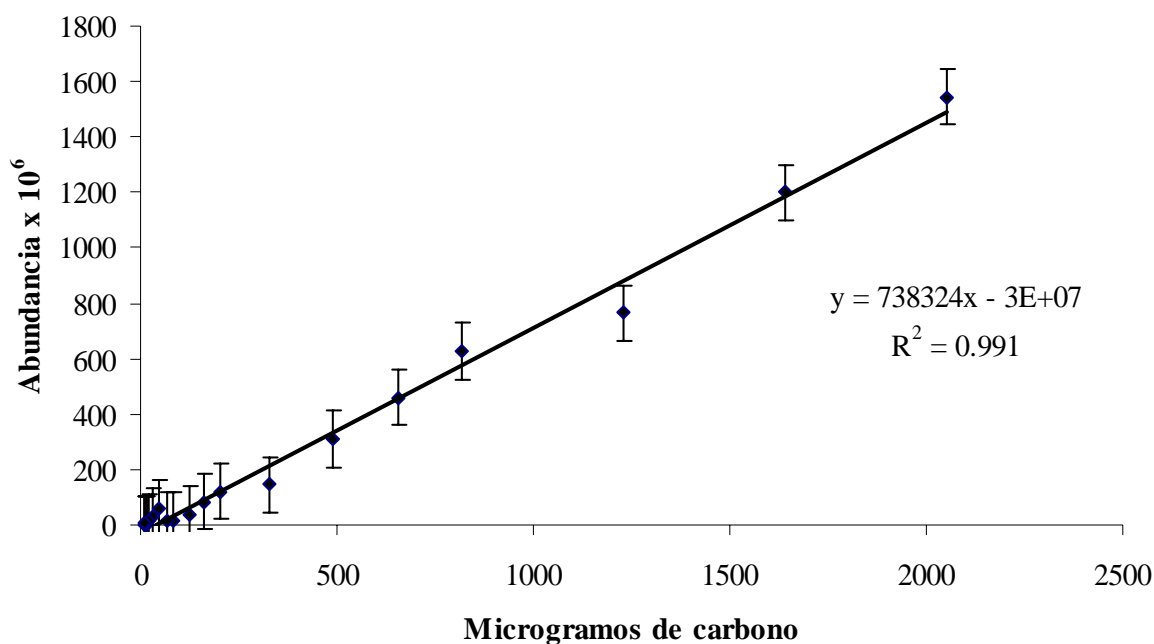


Figura 4.3. Curva de calibración de estándares de CO₂ en N₂.

El coeficiente de correlación obtenido para la curva de calibración es mayor a 0.99, con lo que se cumple la linealidad. Se verifica entonces, si la curva parte del origen, la prueba de hipótesis para ordenada se realiza para comprobar si los resultados experimentales se ajustan a una línea recta con ordenada al origen (cero) o no, basados en la ecuación $y = ax + b$ obtenida por el método de mínimo cuadrados, en donde y es el área del pico del componente C, b es la ordenada al origen, a es la pendiente y x cantidad de microgramos de carbono del componente C.

Estableciendo lo siguiente:

- a) Hipótesis nula **H₀: b=0**, ya que en este caso la línea de regresión es horizontal con lo que la media de las y no depende linealmente de las m .
- b) La hipótesis alterna **H₁: b ≠ 0**, en caso de que exista dependencia lineal de la y con las m .
- c) El nivel de significancia es de 95%
- d) El criterio de rechazo a la hipótesis nula de esta prueba es $t_{cal} \geq t_{tablas}$
o $-t_{cal} \leq -t_{tablas}$

El estadístico de prueba a utilizar es la “t de Student”

$$t_{cal.} = \frac{b - a}{Se} \sqrt{\frac{nS_{xx}}{S_{xx} + (n\bar{x})^2}} \quad (1)$$

En donde:

b = Ordenada al origen

a = Ordenada al origen poblacional

Se = Error típico de estimación

S_{xx} = Suma de cuadrados de la variable independiente

S_{yy} = Suma de cuadrados de la variable dependiente

n = Número de determinaciones

\bar{x} = Media experimental

La herramienta utilizada es la “t” de Student, tomando un valor de significancia de 95% ($\alpha= 0.05$), se utilizan 16 grados de libertad (n-2), ya que los coeficientes de regresión de la ordenada al origen y la pendiente son reemplazados por las estimaciones de mínimos cuadrados, una “t” ($\alpha = 0.05$) que en tablas es de -1.96. El cálculo se realiza a partir de la siguiente ecuación (1).

Se decide entonces rechazar la hipótesis nula de esta prueba ya que la $-t_{cal}$ es de -2.81 y el de la $-t_{tablas}$ es -1.96, así que la curva no se puede ajustar a cero. La ecuación de la recta es $y = 738324 x - 3 \times 10^7$.

Para calcular el intervalo de confianza para la ordenada al origen con el mismo nivel de significancia se utiliza la ecuación:

$$IC = b \pm t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{Sxx + (n\bar{x})^2}{nSxx}}$$

Para calcular el intervalo de confianza para la pendiente con el mismo nivel de significancia se utiliza la ecuación:

$$IC = m \pm t_{\alpha/2} Se \sqrt{\frac{n}{Sxx}}$$

Y los resultados fueron los siguientes:

Intervalo de confianza de la ordenada: $-3 \times 10^7 \pm -3 \times 10^7$

Intervalo de confianza de la pendiente: 731444 ± 50000

Coefficiente de variación promedio de las replicas inyectadas es de 4.66 % (ver anexo, tabla 5).

El resultado de este análisis mostró el cumplimiento de la linealidad del sistema en el intervalo de concentraciones estudiado, debido a que el valor logrado del coeficiente de correlación es superior a 0.99, con un riesgo del 5%, por lo que, existe una relación lineal entre la concentración de carbono y la respuesta del equipo (área de pico). La variabilidad promedio de las replicas es menor al 5%, lo que representa que el sistema tiene un comportamiento lineal en todo el intervalo de concentraciones estudiadas. Los valores obtenidos de los intervalos de confianza permiten predecir el intervalo de concentración de C, demostrado que el procedimiento analítico es confiable para la cuantificación del CO₂ generado de la descomposición de la materia orgánica.

4.3 Limite de detección (LD) y cuantificación (LC)

Los valores de límite de detección y cuantificación se determinaron a partir de diez replicas de la muestra matriz (blanco), que fue preparada como se menciona en el apartado 3.1.4 y siguiendo el mismo procedimiento experimental para la determinación de material orgánico descrito en el apartado 3.1.5. Los límites de cuantificación y detección se relacionan con la cantidad de analito requerida para dar un resultado significativo, cualitativo o cuantitativo. Estos se determinan a partir del promedio y desviación estándar (DE_b) obtenida de dichos blancos (ver anexo, tabla 6). La tabla 4.1 muestra los datos estadísticos obtenidos para el cálculo de límite de detección y cuantificación para la técnica empleada (Guia de validación de Métodos Analíticos, 2002).

Tabla 4.1. Datos estadísticos y cálculo de límite de cuantificación y detección para la Técnica.

Microgramos de Carbono	
Promedio de los blancos	16 μg de carbono
DE_b	0.6485
Límite de detección*	17 μg de carbono/ g de muestra
Límite de cuantificación*	22 μg de carbono/ g de muestra

* El cálculo de límite de detección se realizó con $LD = \text{media de los blancos} + 3 DE_b$ y el Límite de cuantificación con $LC = \text{media de los blancos} + 10 DE_b$

El valor obtenido de límite de detección es de 17.645 μg de carbono/ g de muestra, así lo muestra la Tabla 4.1. Éste representa la menor concentración de carbono que puede ser detectada en la muestra blanco de suelo. El dato de límite de cuantificación que se obtuvo es de 22.185 μg de carbono/ g de muestra, siendo la menor cantidad de carbono cuantificable de dicha muestra, bajo las condiciones experimentales establecidas en el apartado 3.2. Los resultados descritos para la técnica permiten detectar y cuantificar de manera confiable concentraciones bajas de materia orgánica, similares a las que presentan los suelos hiperáridos (~1%).

4.4 Prueba de Recobro y exactitud

La prueba de recobro se realiza como se mencionó en la sección 3.3, dopando un blanco de suelo, con cantidades conocidas de ácido oxálico ($\text{H}_2\text{C}_2\text{O}_4$) y realizando la reacción por vía húmeda con permanganato de potasio, se obtuvo la respuesta del equipo. La ecuación de la curva de calibración, permitió calcular los μg de C obtenidos, con lo que se determinó el porcentaje de recuperación de las diez replicas (ver anexo, tabla 7). Los resultados lo muestra la Tabla 4.2. Un ejemplo de dicho cálculo se detalla a continuación.

$$\% \text{Recobro} = \frac{377.7538 \mu\text{g de C obtenido}}{502.6656 \mu\text{g de C agregado}} \times 100 = 75.15\% \quad (2)$$

Tabla 4.2. % de recobro obtenido para la técnica.

µg de carbono agregados	µg de carbono obtenidos	% de recobro
502.6656	377.7538	75.15
502.5770	381.4314	75.89
523.6100	402.2289	76.81
540.7463	450.9165	83.38
563.5948	415.3213	73.69
504.5696	408.6626	80.99
512.1858	374.2973	73.07
502.5770	373.6641	74.34
628.3320	464.2562	73.88
502.5770	362.5079	72.12

Tabla 4.3. Parámetros estadísticos de los resultados de % de recobro

Parámetro	Resultado
Promedio	75.94
Error típico	1.1396
Coefficiente de variación	4.745
Desviación estándar	3.603
Varianza de la muestra	12.988
Intervalo	11.257
Mínimo	72.129
Máximo	83.387
Suma	759.380
Replicas	10
Nivel de confianza (95%)	2.578

El coeficiente de variación es menor al 5%, como lo muestra la Tabla 4.3. Éste se encuentra dentro de los límites establecidos en el protocolo de validación para la técnica de cromatografía (NORMA ISO/IEC 17025:1999) y además se demostró la linealidad entre los valores apareados de área y µg de C, sin embargo, la exactitud no

puede ser calculada, ya que no se cuenta con un valor de referencia; el porcentaje promedio de recobro (75.94 ± 3.60) no se acerca a lo estipulado ($100 \pm 10\%$). Las posibles explicaciones se deben seguramente a la pérdida de carbono durante todo el procedimiento experimental, la dificultad para pesar pequeñas cantidades de $H_2C_2O_4$, condensación no adecuada del CO_2 en la trampa por los núcleos de vidrio, presurización deficiente de la trampa, las interferencias relativas al blanco de suelo, etc., así que, con el objeto de corregir dichas pérdidas, se hace necesario calcular un factor de corrección, el cual se calcula de la siguiente manera (3).

$$\mu g \text{ decarbono reales} = \frac{X \mu g \text{ decarbono obtenido de la muestra} \times 100\%}{75.94\%} \quad (3)$$

4.5 Precisión.

El parámetro de precisión se obtiene del análisis de repetibilidad y reproducibilidad y el criterio de aceptación establecidos para el recobro u orden de trazas por cromatografía es menor o igual al 5% (NORMA IRAM-IACC-ISO-E 8402, 1994).

Repetibilidad

Tabla 4.4. Precisión del método cromatográfico de la muestra dopada con $H_2C_2O_4$

μg de carbono agregados	μg de carbono obtenidos	% de recobro
502.6656	377.7538	75.15
502.5770	381.4314	75.89
523.6100	402.2289	76.81
540.7463	450.9165	83.38

La prueba de repetibilidad mostró que el coeficiente de variación es menor al 5% (tabla 4.4), para ello, se realizaron cuatro determinaciones con la muestra blanco de suelo fortificada, lo cual demuestra la buena repetibilidad del método de cuantificación. Dichas determinaciones se llevaron a cabo bajo las mismas condiciones de trabajo (120° C, 516 rpm y 10 min), día, analista, y equipo. Para concluir la prueba de precisión es necesario evaluar que el método analítico sea reproducible bajo las mismas condiciones de trabajo, reactivos, equipo, pero cambiando al analista, para la cual es necesario realizar una prueba de comparación de varianzas y determinar si el método mantiene su efectividad y precisión durante estas determinaciones.

4.6 Determinación de materia orgánica en muestras superficiales de suelo del desierto de Mojave – EEUU.

En Marzo del 2007, el Dr. Rafael Navarro-González y sus colaboradores colectaron mediante palitas estériles de polietileno, muestras de suelo de la superficie del desierto de Mojave-EEUU, las cuales almacenaron en bolsas del mismo material. Las muestras se colectaron a través de un gradiente de precipitación este-oeste entre las coordenadas de longitud -115.99 y -118.32°. Las muestras se decidieron recolectar cerca de las estaciones meteorológicas ya establecidas en el desierto, con el objeto de tener referencia de la humedad presente en dicha zona. La Fig. 4.4 muestra las coordenadas geográficas de la zona de muestreo y de las estaciones meteorológicas, así como, la precipitación máxima anual promedio (1892-1996) a lo largo del transecto.

Para este trabajo se proporcionaron nueve diferentes muestras de suelo del desierto de Mojave para la determinación de material orgánico (μg de C por gramo de

suelo), el cual se realizó siguiendo el procedimiento descrito en el apartado 3.1.5. El dióxido de carbono generado por la técnica, al ser un compuesto volátil y térmicamente estable, puede ser susceptible de ser separado, identificado y cuantificado por CG-EM, como ya se menciona, cada una de las muestras se realizaron por cuadruplicado. A los resultados obtenidos se les resta el valor promedio de la muestra blanco de suelo y se multiplica por el factor corrección (3) (ver anexo, tabla 8). Los datos corregidos de material orgánico en cada muestra se muestran en la Tabla 4.5.

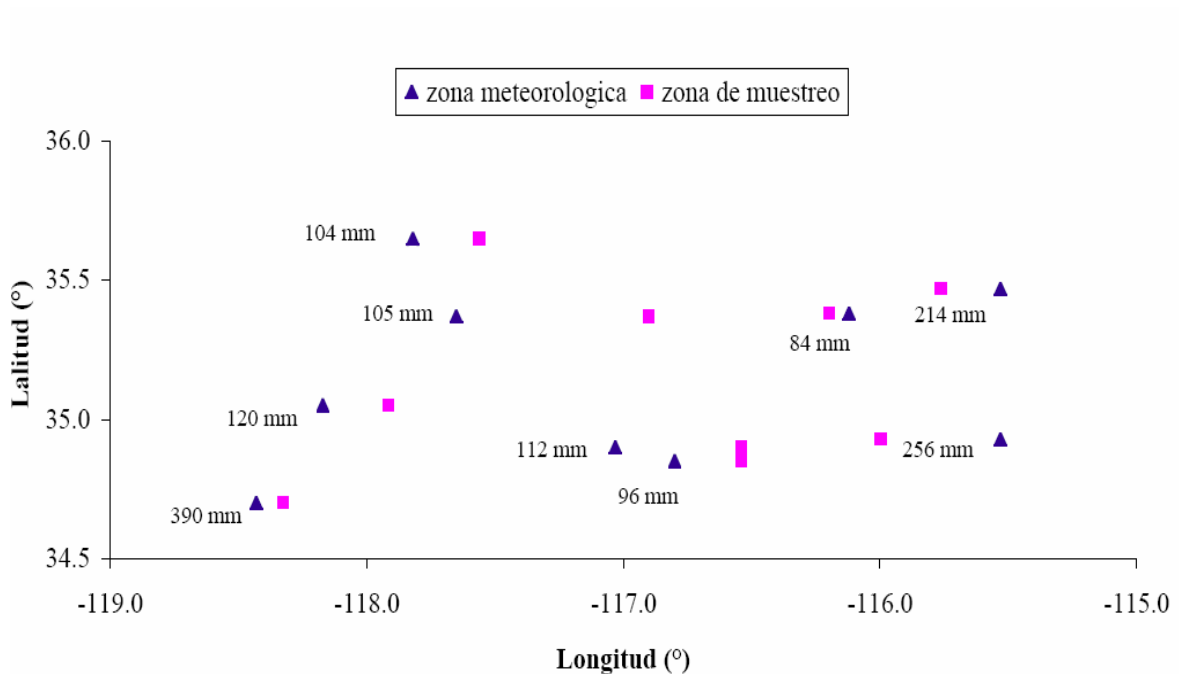


Figura 4.4. La gráfica muestra los puntos de muestreo en el Desierto de Mojave- EEUU en color rosa, mientras que las zonas meteorológicas están marcadas en color azul y tiene cada una, el valor anual de precipitación pluvial a lo largo del transecto.

Tabla 4.5. Resultados corregidos de la determinación de material orgánico en muestras

de suelo colectadas en el Desierto de Mojave.

Muestra	Longitud norte (°)	µg de carbono / gramo de suelo corregidos
MD0307-15	-118.3245	2011 ± 69.76
MD0307-16	-117.9150	203 ± 3.18
MD0307-17	-117.5602	213 ± 10.04
MD0307-18	-116.1961	109 ± 4.43
MD0307-19	-116.5396	778 ± 37.64
MD0307-21	-115.7611	440 ± 21.11
MD0307-22	-116.5399	214 ± 8.81
MD0307-25	-116.8984	543 ± 20.22
MD0307-26	-115.9956	159 ± 6.90

La máxima concentración de materia orgánica en la superficie del desierto de Mojave se encuentra en la muestra MD0307-15 con 2011µg de C/g de suelo (observar en la Tabla 4.5) y el mínimo en las estaciones MD0307-18 y 26 (109y 159µg de C/g de suelo respectivamente). Los resultados muestran que prácticamente todos los suelos analizados son del tipo Aridisol, en donde el contenido de C es menor al 1%, lo que nos dice que el desierto es hiperárido en la zona estudiada. Sin embargo, en la superficie del desierto de Mojave no se observa una tendencia coherente en la concentración de materia orgánica cuando se incrementa o disminuye la longitud (Fig. 4.5).

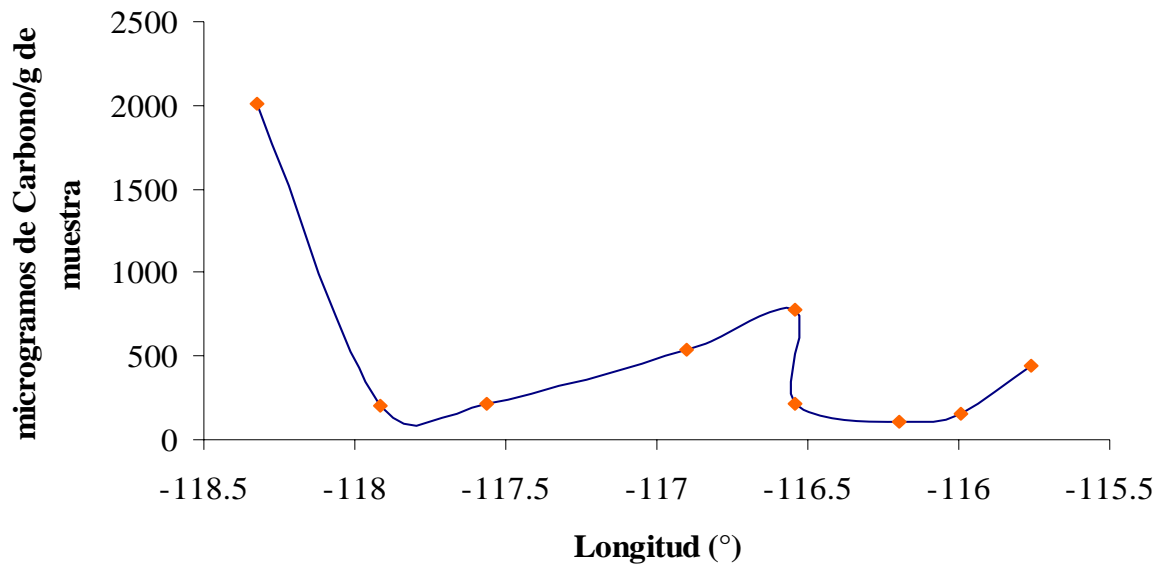


Figura 4.5. Concentración de carbono orgánico en la superficie de Mojave-EEUU, determinado por la técnica en línea descrita en la sección 3.1.5.

La heterogeneidad que existe en los suelos superficiales del desierto de Mojave se muestra en los resultados obtenidos; no obstante, es evidente que el contenido de MO en el intervalo de longitud -118.0 a -118.5° (MD0307-15), lo cual se debe al incremento de la humedad en esta región que es de aproximadamente 390 mm por año (ver Fig. 4.4) y a la mala filtración de agua que puede presentarse. La textura de este suelo es verdosa, de un material grueso y a simple vista se pueden observar restos vegetales en abundancia. La tendencia en la concentración de MO disminuye a 203 y 213 μg de C/g a la longitud comprendida entre -118.0 a -117.5° (MD0307-16 y MD0307-17), ahí el suelo es arenoso, con una disminución en la precipitación cercana a 104 mm al año (Fig. 4.4), lo que nos hace pensar que en esta zona del desierto, la cantidad de carbono orgánico esta relacionada con la precipitación o que se pueden tratarse de suelos poco desarrollado o con abundante arcilla. El suelo de la muestra MD0307-25 ($\sim -116.9^\circ$) presenta un aumento en el contenido de materia orgánica a 543 μg de C/g de muestra, es arenoso, con una precipitación de aproximadamente 96.4 mm por año, dicho aumento no es debido a la humedad. Éste suelo tiene la característica de

ser viejo, inclusive algunos investigadores, sugieren que en esta zona del desierto hubo acumulación de agua, e inclusive proponen la presencia de un lago (Comunicación personal de los Drs. Navarro y Sergay).

La muestra de suelo MD0307-19 (-116.53°) es la segunda con un mayor contenido de materia orgánica 778µg de C/g de muestra, este aumento puede deberse a una mala filtración de agua en el pasado, lo que sugiere que la cantidad de materia orgánica puede ser dependiente del tiempo y no del clima actual, ya que la precipitación aproximada en esta región es de 84.4 mm por año (ver Fig. 4.4) y considerando que se encuentra cercana al Valle de la Muerte (-116.5 a -117.0°) en donde algunos datos geológicos sugieren, que esta zona estuvo inundada durante el periodo pleistoceno tardío, por lo que se considera una muestras de suelo viejo.

La concentración mas baja de MO es de 109 a 215 µg de C/g de suelo en el transecto, se obtuvieron a longitudes comprendidas entre -116.5 y -115.9 que corresponden a las muestras MD0307-18, 22, y 26, en donde la precipitación máxima es de 100mm por año, por lo que es seguramente una de las partes mas árida del Desierto de Mojave. Al final de la gráfica 4.5, entre las longitudes -116.0 y -115.5 se observa un pequeño aumento en la concentración de material orgánico 156 µg de C/g de suelo (MD0307-21). Aunque, se sabe que es un suelo viejo, la precipitación en esta estación se incrementa a 214 mm, por lo que en este caso, además, de las acumulaciones de agua en el pasado, el clima actual esta influyendo.

CAPITULO 5. CONCLUSIONES

Se construyó un dispositivo que nos permitió capturar el dióxido de carbono generado por la reacción de oxidación en vía húmeda con KMnO_4 de material orgánico en muestras de suelos hiperáridos y se elaboró un método de cromatografía de gases-espectrometría de masas que permitió separar, identificar y cuantificar el CO_2 . Este gas se utilizó como estándar externo para la determinación de carbono proveniente de material orgánico en el suelo.

La validación de la técnica analítica implementada, presentó resultados satisfactorios. La linealidad del método se cumple ya que se obtuvo un R^2 de 0.991. Un límite de cuantificación y de detección de 22 y 17 μg de carbono/ g de muestra. La técnica además es repetible ya que se obtuvo un coeficiente menor al 5%. El intervalo de trabajo para ésta es de 22 a 2020 $\mu\text{g C}$.

Las condiciones de trabajo no permitieron obtener el % de recobro inicialmente planteado (90 a 110%), aunque se obtuvo un CV del 5%. El % de recobro de la técnica fue de 75.94 % que no cumplen con dicho criterio. Además es necesario realizar pruebas intralaboratorio de esta técnica para terminar con la validación.

Se aplicó la técnica para estudiar el contenido de material orgánico en un transecto este-oeste de la superficie del desierto de Mojave-EEUU. Los resultados muestran que el contenido de materia orgánica es menor al 1% (109 a 2011 μg de carbono/ g de muestra), por lo que se trata de suelos de tipo Aridisol.

La heterogeneidad en el suelo superficial del transecto estudiado se ve reflejada en los resultados obtenidos de material orgánico por la técnica. La muestra MD0307-18 presenta el menor contenido de material orgánico, es decir, la zona más árida del desierto, el cual podría ser un posible análogo del suelo Marciano.

PERSPECTIVAS

Para evitar las posibles pérdidas de carbono (material orgánico), en la técnica y obtener % de recobros mayores al 75%; propongo las siguientes modificaciones.

- Usar Montmorilonita de Sodio como blanco de suelo para evitar las interferencias de matriz.
- Hacer un diseño experimental que nos permita estudiar diversos parámetros termodinámicos (temperatura, agitación, concentración de reactivos, etc.), con la finalidad de alcanzar mejores condiciones de trabajo.
- Hacer algunas modificaciones al reactor en donde se lleva acabo la reacción de oxidación del material orgánico del suelo, e inclusive cambiar el material de construcción de vidrio por acero inoxidable.

La metodología propuesta, podría servir para determinar el origen de la materia orgánica presente en las muestras de suelo del desierto de Mojave, si se utiliza un espectrómetro de isótopos estables; por medio de la relación isotópica $^{13}\text{C}/^{12}\text{C}$, lo cual nos podrá decir el origen biótico o abiótico de ésta.

La técnica desarrollada, podría ser utilizada por dispositivos que se envíen a la superficie de Marte, como una metodología alternativa, para la determinación de material orgánico en suelos, que puedan dar un indicio de vida presente o pasada en el planeta rojo.

ANEXO

TABLA 1. CÁLCULOS PARA LA DETERMINACIÓN DEL VOLUMEN DEL REACTOR

Constantes	MMN ₂	(28 g/mol)	R	0.082	Latm/molK				
P de vacío	T1 (°C)	peso sin N ₂ m ₁ (g)	P _{N₂} (mbar)	P _{N₂} (atm)	peso con N ₂ m ₂ (g)	(m ₂ -m ₁)g	T(K)	n(mol)	REACTOR V(L)
3.60E-03	23.1	315.51	1000	0.987	317.00	1.49	296.25	0.0532	1.3097
3.50E-03	22.6	315.50	1001	0.986	317.09	1.59	295.75	0.0567	1.3966
3.50E-03	22.6	315.51	1000	0.987	317.00	1.49	295.75	0.0532	1.3075
3.40E-03	22.6	315.50	1001	0.986	317.06	1.56	295.75	0.0557	1.3703
3.40E-03	22.6	315.51	1000	0.987	317.00	1.49	295.75	0.0532	1.3075
2.60E-03	22.5	315.48	1001	0.986	316.88	1.40	295.65	0.0500	1.2293
3.50E-03	20.9	315.55	1000	0.987	316.99	1.44	294.05	0.0514	1.2563
3.50E-03	20.5	315.49	1000	0.987	316.99	1.50	293.65	0.0535	1.3069
								promedio	1.3105
desviación							0.0541	cv (%)	4.1

CO₂ MM= 44 g/mol

C MM= 12.01 g/mol

R= 83,140115 L*mbar/ K*mol

Volumen de la trampa= 42.3053 L

n= PV/RT

CO₂ (g)= (44 g/mol)* n (mol)

C (g)= 12.01 g C

TABLA 2. CÁLCULOS PARA EL VOLUMEN DE LA LINEA

VACIO LINEA	PRESION EXPANSIÓN	VOLUMEN LINEA + REACTOR (L)	VOLUMEN LINEA (L)
3.70E-03	564	2.3222	1.0124
3.40E-03	564	2.4788	1.0821
3.70E-03	564	2.3183	1.0107
3.60E-03	564	2.4320	1.0617
3.60E-03	565	2.3142	1.0066
2.60E-03	564	2.1818	0.9525
3.50E-03	564	2.2276	0.9712
3.50E-03	564	2.31729	1.0103
suma			8.1079
promedio			1.0134
desviación			0.0424
Cv (%)			4.1

TABLA 3. CÁLCULOS PARA EL VOLUMEN DE LA TRAMPA

VOLUMEN DE LA LINEA 1.0134 L

PRESION 1 LINEA	PRESION 2 TRAMPA	VOLUMEN TRAMPA + LINEA	VOLUMEN TRAMPA (L)	VOLUMEN TRAMPA (mL)
1001	961	1.0698	0.04275	42.7527
1000	961	1.0688	0.04168	41.6839
1001	961	1.0698	0.04275	42.7527
1002	962	1.0698	0.04270	42.7083
1000	961	1.0688	0.04168	41.6839
1002	962	1.0698	0.04270	42.1413
1002	962	1.0698	0.04270	42.1413
1001	961	1.0698	0.04275	42.7527
1001	961	1.0698	0.04275	42.7527
1000	961	1.0688	0.04168	41.6839
suma			423.053	
promedio			42.3053	
desviación			0.4916	
Cv (%)			1.1	

TABLA 4 Muestra blancos solo trampa vacía

no.	1	2	3	4	5	6	7	8	9	promedio
Determinación										
Área	7150845	8368817	8107856	7180866	8152757	8085014	8205690	7950845	7625813	7869833.67
								Desviación estándar	447565.182	

TABLA 5. CÁLCULOS PARA LA CURVA DE CALIBRACIÓN

Presión (mbar)	Presión CO ₂	MOLES	µg de C	Área 1	Área 2	Área 3	promedio	desviación	CV	Área promedio corregida - blanco	
1000	100	0.00017073	2050.45694	1391298736	1389350425	1363063794	1381237652	13460393.52	4.97	1545400993	
800	80	0.00013658	1640.36555	995451439	1106809258	1124044881	1075435193	56993083.28	4.99	1201490934	
600	60	0.00010244	1230.27416	723605910	694828090	645976219	688136739.7	32043437.79	4.85	765929251	
1000	40	6.8292E-05	820.182774	501239090	568925491	624830026	564998202.3	50532151.89	3.81	627445794	
800	32	5.4633E-05	656.146219	445122665	395873525	404599019	415198403	21457394.27	4.56	458978680	
600	24	4.0975E-05	492.109665	271939539	280851333	295198386	282663086	9581417.002	3.98	309927463	
400	16	2.7317E-05	328.07311	135652969	126033451	146712704	136373077.5	10339626.5	4.68	145137565	
1000	10	1.7073E-05	205.045694	112642557	110707470	117528930	113626319	2870414.591	4.72	119826165	
800	8	1.3658E-05	164.036555	79129390	85758905	79640616	81509637	3011925.952	3.99	83707260.2	
600	6	1.0244E-05	123.027416	44565332	39524140	39500734	41196735.33	2381976.712	4.78	38370762.8	
400	4	6.8292E-06	82.0182774	23058252	18398769	21628345	21028455.33	1948947.779	4.66	15689210.8	
800	3.2	5.4633E-06	65.5599886	22175309	22554762	24231753	22987274.67	893510.2635	4.88	17892128.6	
600	2.4	4.0975E-06	49.1699915	58379583	59266972	62810854	60152469.67	1914352.851	4.79	59688667.6	
400	1.6	2.7317E-06	32.7799943	35651619	33874674	34899181	34808491.33	728263.6176	4.79	31186447.2	
1000	1	1.7073E-06	20.5045694	17005397	15666755	18905671	17192607.67	1328891.791	4.72	11375358.7	
800	0.8	1.3658E-06	16.4036555	10076929	10753671	10199258	10343286	294452.0133	4.84	3672508.22	
600	0.6	1.0244E-06	12.3027416	9582242	8565717	8458567	8868842	506343.0659	4.79	2014326.26	
400	0.4	6.8292E-07	8.20182774	7467562	7403724	7807649	7559645	177291.3056	4.94	392034.882	
									Cv promedio de replicas (%)	4.65	

TABLA 6. Muestra blancos SOLO MATRIZ

no.	1B	2B	3B	4B	5B	6B	7B	8B	9B	10B
Determinación										
Peso(g)	1.00119	1.00099	1.00012	1.00252	1.00117	1.00172	1.00191	1.00098	1.00263	1.00375
Área	11337158	11187584	12015800	11636233	11337158	10770721	11751860	11100399	11491835	11954558
µg C	15.8000	15.5915	16.7458	16.2168	15.8000	15.0106	16.3779	15.4700	16.0155	16.0325
µg C /g muestra	15.7812	15.5761	16.7437	16.1760	15.7815	14.9848	16.3467	15.4549	15.9735	15.9726
	promedio					DEST		CV		
µg C /g muestra	15.70824384					0.648594523		4.129007221		
Limite de detección	17 µg de carbono/ g de muestra					Limite de cuantificación		22 µg de carbono/ g de muestra		

El calculo de límite de detección se realizó con LD= media de los blancos + 3 DE_b y el Limite de cuantificación con LC= media de los blancos + 10 DE_b

TABLA 7. CÁLCULO PARA LA PRUEBA DE RECOBRO

MM ACIDO OXALICO (H₂C₂O₄) = 126.07 g/mol

Replica	Peso del suelo (g)	Peso de H ₂ C ₂ O ₄ (g)	Eq. a 500 µg C (H ₂ C ₂ O ₄)	AREA	µg de C reales	µg de C obtenidos	%recobro
1	1.0177	0.00264	0.002626	271053839	502.6656	377.7537	75.15
2	1.0043	0.00263	0.002626	273692706	502.5770	381.4314	75.89
3	1.0046	0.00275	0.002626	288615751	523.6100	402.2289	76.81
4	1.0076	0.00284	0.002626	323551076	540.7463	450.9164	83.38
5	1.0078	0.00296	0.002626	298010094	563.5948	415.3213	73.69
6	0.9990	0.00265	0.002626	293232196	504.5696	408.6626	80.99
7	1.0018	0.00269	0.002626	268573682	512.1858	374.2973	73.07
8	1.0107	0.00263	0.002626	268119361	502.5770	373.6641	74.34
9	1.0188	0.00330	0.002626	333122886	628.3320	464.2562	73.88
10	1.0043	0.00263	0.002626	260114316	502.5770	362.5079	72.12
						Promedio	75.94

TABLA 8. CÁLCULOS PARA LAS MUESTRAS DE MOJAVE

Promedio del blanco 15.70824384 µg C % de Recobro 75.93802098

Muestra MD0307-15								
no. Determinación	1(15A)	2(15B)	3(15C)	4(15D)	5(15E)	promedio	DEST	CV (%)
Peso(g)	1.00088	1.00149	1.00118	1.00065	1.00096			
Área	1122473538	1059251681	1152499675	1079871280	1128454470			
µg C	2039.328119	1923.300535	2094.433431	1961.142547	2050.304594			
µg C /g muestra	2037.535089	1920.439081	2091.964913	1959.868632	2048.338189	2011.629181	69.76260815	3.46

Muestra MD0307-16							
no. Determinación	1(16A)	2(16B)	3(16C)	4(16D)	promedio	DEST	CV (%)
Peso(g)	1.00346	1.00361	1.00289	1.00197			
Área	121424698	122337520	124801929	120805190			
µg C	222.8440464	224.5192982	229.042092	221.7070975			
µg C /g muestra	222.0756646	223.711699	228.3820678	221.2711933	223.8601561	3.181030434	1.42

Muestra MD0307-17							
no. Determinación	1(17A)	2(17B)	3(17C)	4(17D)	promedio	DEST	CV (%)
Peso(g)	1.00916	1.0043	1.0011	1.00959			
Área	129500446	120477217	132875622	130992206			
µg C	216.9794096	200.4195755	223.1736839	219.7171544			
µg C /g muestra	215.0099188	199.5614612	222.9284626	217.6300819	213.7824811	10.03655019	4.69

Muestra MD0307-18							
no.	1(18A)	2(18B)	3(18C)	4(18D)	promedio	DEST	CV (%)
Determinación							
Peso(g)	1.00238	1.00467	1.00736	1.00747			
Área	73745055	67988132	71488127	71652572			
µg C	114.6546179	104.0892548	110.5126025	110.8143993			
µg C /g muestra	114.3823878	103.6054175	109.7051724	109.9927535	109.4214328	4.428845726	4.04

Muestra MD0307-19							
no.	1(19A)	2(19B)	3(19C)	4(19D)	promedio	DEST	CV (%)
Determinación							
Peso(g)	1.00742	1.00657	1.00374	1.00271			
Área	427270167	428696858	427482041	467587592			
µg C	763.4597436	766.0780708	763.8485842	837.4520884			
µg C /g muestra	757.836596	761.0777897	761.0024351	835.1887269	778.7763869	37.63854698	4.83

Muestra MD0307-21								
no.	1(21A)	2(21B)	3(21C)	4(21D)	5(22E)	promedio	DEST	CV (%)
Determinación								
Peso(g)	1.00234	1.00376	1.00346	1.00378	1.00357			
Área	239546388	239651372	264866822	257933645	257517840			
µg C	418.9406531	419.1333245	465.4098481	452.685771	451.9226671			
µg C /g muestra	417.9626206	417.5632865	463.8050825	450.9810626	450.3150424	440.1254189	21.11065693	4.79

Muestra MD0307-22							
no.	1(22A)	2(22B)	3(22C)	4(22D)	promedio	DEST	CV (%)
Determinación							
Peso(g)	1.00147	1.00137	1.00209	1.00418			
Área	127056091	122293003	133036605	131812479			
µg C	212.4934198	203.7519873	223.4691271	221.2225562			
µg C /g muestra	212.181513	203.473229	223.0030507	220.3016951	221.6523729	1.910146858	0.86

Muestra MD0307-25									
no.	1(25A)	2(25B)	3(25C)	4(20D)	5(20E)	6(20E)	promedio	DEST	CV (%)
Determinación									
Peso(g)	1.00228	1.00399	1.00414	1.00517	1.00217	1.00218			
Área	322185206	321960546	302742235	301350917	305325365	296506987			
µg C	570.6031147	570.1908086	534.9205031	532.367094	539.661179	523.4772966			
µg C /g muestra	569.305099	567.9247887	532.7150628	529.6289125	538.49265	522.3385985	543.4008519	20.21887664	3.72

Muestra MD0307-26									
no.	1(26A)	2(26B)	3(26C)	4(26D)	5(26E)	promedio	DEST	CV (%)	
Determinación									
Peso(g)	1.00159	1.00423	1.00109	1.00129	1.00256				
Área	101978985	94847327	102597293	94955974	98751245				
µg C	166.4707913	153.382453	167.6055378	153.5818468	160.5470982				
µg C /g muestra	166.2065229	152.7363781	167.4230467	153.3839815	160.1371471	159.9774153	6.895119871		4.31

CAPÍTULO 7. BIBLIOGRAFIA

Álvarez, S. (2005), La descomposición de materia orgánica en humedales: la importancia del componente microbiano. *Ecosistemas*. 2005/2: 13-19

Anne, E. Egger, (2005), La Atmósfera de la Tierra
Composición y estructura. *Era ecológica*. 2005/14: 24-28

Ball, D, F, (1964), Loss-on-ignition as an estimate of organic matter and organic carbon in non-calcareous soils, - *J, Soil Sci*, **15**: 84-92,

Bieman, K., Oro, J., Toulim III, P.Orgel, L.E., Nier, A. O., Anderson, D.M., Simmonds,P.G., Flory, D., Díaz, A.V., Rushneck,D.R., Biller, J.E. y Lafleur, A.L,(1977), The search for Organic substances and inorganic volatile compounds in the surface of Mars. *J. Geophys. Res.* **82**; 4641-4658

Bloom, P.R., and J.A. Leenheer. (1989), Vibrational, electronic, and high-energy spectroscopic methods for characterizing humic substances. In M.H.B.Hayes et. al. (ed) *Humic Substances II. In search of structure*. Wiley-Intersci., Chichester, England. p. 409-446

Christensen, B. T. and Malmros, P. A, (1982), Loss-on-ignition and carbon content in a beech forest soil profile. - *Holarct. Ecol.* **5**: 376-380.

Dean, W. E. JR., J. Sedim. Petrol, (1974), Determination of Carbonate and Organic Matter in calcareous sediments and sedimentary rocks by loss on ignition: Comparison with other methods. **44**: 242-248.

Fitz, E.A.P. , (1996), Introducción a la ciencia de los suelos. Ed. Trillas. México. Pp 315

Guía de validación de Métodos Analíticos, (2002) editada por el colegio de Químicos Farmacéuticos Biólogos México A.C.; registro ante la DGP-032.

Hayes, M.H.B., P. MacCarthy, R. Malcom, and R.S. Swift, (1989), Humic substances II. In search of structure, Wiley- Intersi., Chichester, England. p. 152-164

Hempfling, R., and H-R. Schulten, (1991), Pyrolysis (gas chromatography) mass spectrometry of agricultural soils and their humic fractions. Z. Pflanzenernahr. Bodenk. **154**: 425-430

Howard, P. J. A., (1965), The carbon-organic matter factor in various soil types -Oikos **15**: 229-236.

Howard. P. J. A. and Howard. D. M, (1989), Use of organic carbon and loss-on-ignition to estimate soil organic matter in different soil types and horizons. Institute of Terrestrial Ecology, Merlewood Research Station, LA11 6JU Grange-over-Sands, Cumbria, UK. p. 138-142

Hunt, C.B., and Mabel, D.R., (1966), General geology of Death Valley, California

www2.nature.nps.gov/geology/usgsnps/deva/devasalt.html

Johnson, M. W. J. A. Maxwell, (1981), Rock and Mineral Analysis. In: Chemical Analysis Interscience, Elving, P. J., J. D. Winefordner y I. M. Kolthoff (eds.), New York,..Vol. **27**, p. 138

Klein, H.P,(1977), The Viking biological experiments on Mars. *Icarus*. **34**: 666-674

Krosshaven, M., J.O. Biorgum, J. Krane, and E.Steinness, (1990), Chemical structure of terrestrial humus materials formed from different vegetation characterized by soils-state ¹³C NMR with CP-MAS techniques. *J. Soils Science*. **43**: 473-483

Loring, D. H., (1976), The distribution and partition of Zinc Copper, and Lead in the Sediments of the Saquenay fjord. *Can J. Earth Sci*. **13**: 960-971

Loring, D. H. R. T. T. Rantala, (1977), Geochemical Analyses of Marine Sediments and suspended Particulate Matter. Fisheries and Marine Service. Technical Report, p.44

Mckay, Chris P., Grunthaner F.J., Lane A.L., Herring M., Bartman R.K.,Ksendzov A. Mannign C.M., Lamb, Williams R.M., Ricco A.J., Butler M.A., Murray B.C., Quinn R.C., Zent A.P., Klein H.P., y Levin G.V, (1998), The Mars Oxidant experiment (MOx) for Mars '96. *Planet Space Sci*.**46**: 769-777

McMaster Marvin and McMaster Christopher, (1998), GC/MS A Practical User's Guide, E.U. Editorial Wiley – VCH, **1**: 198-217

Mason, C.F. (1976), Relative importance of fungi and bacteria in the decomposition of Phragmites leaves. *Hydrobiologia* **51**:65-69.

Miller J.C.; Miller J.N., (1993), Estadística para química Analítica. 2da Ed. Addison-Wesley Iberoamerican. S.A. Wilmington, Delaware. EUA. p 221

Montgomery, D.C. (1991), Control Estadístico de la Calidad. Trad. del inglés por Dirk Valckx Verbeeck. México. D.F. Grupo Editorial Iberoamerica S.A. de C.V. p 447.

Navarro-González, et al., (2006), The Limitations on detection in Mars-like soils by thermal volatilization-gas chromatography-MS and their implications for the Viking results, *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*, 103, 44, 16089-16094.

Nelson, D. W. and Sommers, L. E., (1982), Total organic carbon and organic matter. In. A.L., Page, R.H., Miller y D.R. Keeney (Eds.) Method of soil analysis. Part. 2. American Society of Agronomy. Madison, Wisconsin. p. 539-579.

Niinoh. K. O. EMERY C. M. KIM, *Sedim. Petrol. J.*, (1969), Organic carbon in sediments of Japan Sea. **39**: 1390-1398

NORMA ISO/IEC 17025: (1999). "Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de Ensayo y de Calibración".

NORMA IRAM-IACC-ISO-E 8402: (1994) "Gestión de la Calidad y Aseguramiento de la Calidad". Vocabulario.

Okuda, T., (1964), Some problems for the determination of organic carbon in marine sediments. *Bol. Inst. Oceanog. Univ. Oriente*.106: 117-122.

Ostler, W.K., Hansen, D.J. & Hall, D.B., (1999), The classification of shrublands on the Nevada Test Site. Proceedings RMRS-P-11, USDA, Forest Service, Rocky Mountain Research Station, p. 299

Ranney, R. W., (1969), An organic carbon-organic matter conversion equation for Pennsylvania surface soils. - Soil Sci. Amer. Proc. **33**: 809-811.

Robinson, W.O., (1927), The determination of matter organic in soils by means of hydrogen peroxide. J. Agriculture. Res. **34**: 339-356

Romney, E.M., Hale, V. Q.,Wallace, A., Lunt, O.R., Childress, J.D., Kaaz, H., Alexander, G.V.,Kinnear J.E. & Ackerman T.L., (1973), Some characteristics of soil and perennial vegetation in northern Mojave Desert areas of the Nevada Test Site, UCLA No. 12. Los Angeles, CA: University of California Los Angeles, School of Medicine. p. 916

Rubinson, Judith y Rubinson, Kenneth. A., (2000), Química Analítica Contemporánea. México, D.F. Prentice Hall Hispanoamericano, p 380-457

Senesi, N., (1990), Molecular and quantitative aspects of the chemistry of fulvic acid and its interactions with metal ions and organic chemicals. Part II. The fluorescence spectroscopy approach. Analitic Chim. Number **232**:77-106

Skoog, West, (2000), Química analítica, 7 ° Edición, Ed. Mc-GrawHill, México, p 415-418

Smith, S.D., Monson, R.K. & Anderson, J.E., (1997), Physiological Ecology of North American Desert Plants. Berlin: Springer-Verlag. p. 286

Spain et al., (1982), LOI Estimating Organic Carbon from Loss-On-Ignition in Northern Arizona Forest Soils Abella and Zimmer *Soil Sci Soc Am J.*2007; **71**: 545-550

Stevenson, F.J., (1994), Humus chemistry. Genesis, composition, reactions. 2nd ed. John Wiley & Sons, New York, p 364-373

Thompson Louis M. y Troeh Frederick R., (1998), Los suelos y su fertilidad. Edit. Reverté. Cuarta edición. p. 256-259

Turner, F.B. & Randall, D.C., (1989), Net production by shrubs and winter annuals in Southern Nevada. *Journal of Arid Environments*, **17**: 23–36.

Walkley, A. I. A. Black, (1934), Soil Science An examination of the Degthareff method for determining soil organic matter and a proposed modification of the chromic acid titration method. **27**: 29-38.

Wilson, M.A., and K.M. Goh, (1983), NMR spectroscopy of soils. Structure of organic material in substances and their phytoplankton precursors by ¹H and ¹³C nuclear magnetic resonance. *Chem. Geology*. **40**: 187-201

Zent, A.P. y McKay, Chris P., (1994), The chemical reactivity of the martial soil and implications for future missions. *Icarus*. **180**:146-157