

ANÁLISIS DE NITRÓGENO TOTAL EN SUELOS TROPICALES POR ESPECTROSCOPIA DE INFRAROJO CERCANO (NIRS) Y QUIMIOMETRÍA

ANALYSIS OF TOTAL NITROGEN IN TROPICAL SOILS WITH NEAR-INFRARED SPECTROSCOPY (NIRS) AND CHEMOMETRICS

Aaron Jarquín-Sánchez¹, Sergio Salgado-García^{2*}, D. Jesús Palma-López², Wilder Camacho-Chiu³, Armando Guerrero-Peña²

¹Colegio de la Frontera Sur Unidad Villahermosa. Carretera Villahermosa-Reforma km 15.5, Ranchería Guineo, sección II. 86280, Villahermosa, Tabasco. ²Colegio de Postgraduados-Campus Tabasco. Periférico Carlos A. Molina s/n. km 3.5. 86500, H. Cárdenas, Tabasco. México. (salgados@colpos.mx). ³Tecnológico de la Zona Olmeca. Villa Ocuitzapotlán, Centro, Tabasco.

RESUMEN

El nitrógeno (N) es uno de los elementos más importantes para la nutrición de las plantas, por lo cual es necesario tener métodos rápidos y confiables para determinar N en el suelo. El objetivo del presente estudio fue predecir la concentración de nitrógeno total (Nt) en suelos de una región tropical de México mediante espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS), en muestras dentro de una bolsa de polietileno y sin ésta. La ventaja de usar NIRS reside en la gran selectividad de la técnica para cuantificar un elemento químico en una mezcla compleja sin trabajo previo de separación. Además permite evaluar la cantidad de Nt en pocos minutos en muestras de diferentes suelos. En el trópico húmedo de Tabasco, México, se seleccionaron 156 muestras de suelo con características químicas contrastantes. Las muestras se secaron, molieron y tamizaron a través de una malla de 0.5 mm y se determinó la concentración de Nt por el método de Kjeldahl. Las muestras se envasaron en bolsa de polietileno y se midió el Nt en un espectrofotómetro NIRS modelo FOSS 5000 (NIR systems). Las muestras se analizaron con y sin bolsa en un intervalo de 1100 a 2000 nm, para obtener los modelos que permitan evaluar la cantidad de Nt en el suelo. Los modelos generados con y sin una bolsa se compararon para saber si la interferencia de la bolsa puede corregirse en los modelos matemáticos y realizar las mediciones más fácilmente. Los modelos generados para el análisis con y sin la bolsa explican 92 y 89 % de la variación. Con base en esta información se puede concluir que la determinación de Nt con bolsa es confiable y más rápida y sencilla que en el suelo sin bolsa, ya que se elimina la limpieza del módulo de lectura de la fibra óptica entre una y otra muestra.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: abril, 2010. Aprobado: junio, 2011.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 45: 653-662. 2011.

ABSTRACT

Nitrogen (N) is one of the most important elements for plant nutrition; therefore, it is necessary to obtain quick and reliable methods for determining N in soil. The objective of the present study was predicting total nitrogen (Nt) concentration in soils of a Mexican tropical region by means of near-infrared spectroscopy (NIRS) in samples within a plastic bag or without one. The advantage of using NIRS lies in the great selectivity of the technique, which makes it possible to quantify a chemical element in a complex mixture without previous work of separation; besides, it allows evaluating Nt amount in few minutes in different soil samples. In the humid tropic of Tabasco, Mexico, 156 soil samples with contrasting chemical characteristics were selected. The samples were dried, ground, and sieved through a 0.5 mm mesh screen, and the Nt concentration was determined by Kjeldahl method. The samples were packed in a plastic bag and Nt was measured in a NIRS spectrophotometer, model FOSS 5000 (NIR systems). The samples were analyzed with and without bag at a level of 1100 to 2000 nm in order to obtain the models which allow assessing Nt amount in soil. The models generated with and without bag were compared in order to recognize whether the interference of the bag can be corrected with the mathematical models and measurements could be made more easily. The models generated for analysis with and without bag explain 92 and 89 % of the variation. Based on this information, it can be concluded that Nt determination with bag is reliable, more rapid, and easier than that in soil without bag, since we can eliminate cleaning the optical fiber of the reading module between one and the next sample.

Key words: chemical analysis, soil, optical fiber, model, nitrogen prediction.

Palabras clave: análisis químico, suelo, fibra óptica, modelo, predicción de nitrógeno.

INTRODUCCIÓN

La fracción orgánica de un suelo regula los procesos químicos, influye en sus características físicas y es el centro de casi toda su actividad biológica (Loveland y Webb, 2003). La materia orgánica (MO) y el nitrógeno total (Nt) son dos propiedades fundamentales para evaluar la fertilidad del suelo, y el método Kjeldahl es el más usado para medir la concentración de Nt en el suelo (Bremner y Mulvaney, 1982). Este método ha cambiado pero se mantiene la digestión de la muestra con ácido sulfúrico y una serie de catalizadores, lo cual causa problemas como la emisión de gases ácidos al ambiente y un tiempo de análisis aproximado de 16 h (NOM, 2000). La cantidad de ácido sulfúrico se ha reducido de 25 mL a 5 mL pero aún se usan reactivos que tienen un impacto alto en el ambiente.

La técnica de espectroscopia de infrarrojo cercano (NIRS) se ha usado para predecir el contenido de Nt, MO, carbono (C) en suelos y su variación espacial (Odlare *et al.*, 2005; Cozzolino y Moron, 2006; Fidencio *et al.*, 2008). Debido a que la técnica NIRS genera numerosos datos de los espectros, es necesario aplicar métodos quimiométricos para interpretar los resultados y generar modelos de predicción para el elemento de interés (Wold *et al.*, 2001). Sin embargo para la aplicación de NIRS en el análisis de suelos hay algunos aspectos técnicos que se deben dilucidar (Ehsani *et al.*, 1999; Viscarra *et al.*, 2005; He *et al.*, 2007), como la lectura con la sonda de fibra óptica en muestras de suelos y muestras de suelo almacenadas en bolsas de polietileno, donde es más fácil realizar la lectura y se evita limpiar la sonda entre lecturas cuando ésta se coloca directamente sobre el suelo. Por ello, el objetivo del presente estudio fue usar la técnica de NIRS para generar un modelo para predecir la cantidad de Nt en suelos del trópico húmedo de Tabasco, México, de manera rápida y confiable.

MATERIALES Y MÉTODOS

Los suelos de estudio

Con la finalidad de obtener un modelo que permita evaluar la cantidad de Nt en suelo, se seleccionaron 156 muestras de la

INTRODUCTION

In soil the organic fraction regulates chemical processes, influences its physical characteristics, and is the center of nearly all its biological activity (Loveland and Webb, 2003). Organic matter and total nitrogen (Nt) are two fundamental properties for assessing soil fertility, where Kjeldahl's method is the most utilized for determining Nt concentration in the soil (Bremner and Mulvaney, 1982). Although this method has changed, the digestion of the sample with sulfuric acid and a series of catalysts is still maintained, which causes problems such as acid gas emission into the environment, and approximately 16 hours' time of analysis (NOM, 2000). The quantity of sulfuric acid has been reduced from 25 mL to 5 mL; however, reagents of high impact on the environment are still used.

The technique of near infra-red spectroscopy (NIRS) has been used to predict the content of Nt, organic matter (MO), carbon (C) in soils, and its spatial variation (Odlare *et al.*, 2005; Cozzolino and Moron, 2006; Fidencio *et al.*, 2008). Due to the fact that NIRS technique generates numerous data of spectra, it is necessary to apply chemometric methods in order to interpret the results and generate prediction models for the element of interest (Wold *et al.*, 2001). Nevertheless, there are some technical aspects of NIRS application in soil analysis that must be elucidated (Ehsani *et al.*, 1999; Viscarra *et al.*, 2005; He *et al.*, 2007), such as reading soil samples using the optical fiber probe and soil samples stored in polyethylene bags; thus, carrying out the reading is easier, and cleaning the probe between readings, done when this is placed directly on the soil, can be avoided. Therefore, the objective of the present study was using NIRS technique, generating a model to predict Nt amount in humid soils of the tropic of Tabasco, México, in a rapid and reliable way.

MATERIALS AND METHODS

Soils under study

With the purpose of obtaining a model allowing the assessment of Nt amount in soil, 156 samples were selected from the collection of soils of the Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, obtained in October 2005. The samples belong to the units: Vertisols, Fluvisols, Cambisols, Gleysols, and Ultisols

colección de suelos del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, obtenidas en octubre del 2005. Las muestras pertenecen a las unidades Vertisol, Fluvisol, Cambisol, Gleysol y Ultisol (Palma-López *et al.*, 2007), con un amplio intervalo de contenido de Nt. Estos suelos presentan características contrastantes en textura, pH, MO, Nt y capacidad de intercambio catiónico (CIC). En las muestras se hicieron análisis aleatorios y se encontró que la variación de los resultados no causaba problemas con el desarrollo del modelo. Las muestras de suelos se secaron a temperatura ambiente (26 °C) y bajo sombra, se molieron y tamizaron con un tamiz (0.5 mm de diámetro) para los análisis de MO (Walkley and Black) y Nt (Kjeldhal), y 2 mm para P_{Olsen} , K, Ca, Mg, Na, CIC (acetato de amonio 1 N pH 7) y textura (Bouyoucos). Los análisis se realizaron con los métodos establecidos en la Norma Oficial Mexicana 021 (NOM, 2000).

Análisis mediante NIRS

El análisis de las muestras de suelo para determinar Nt mediante NIRS se realizó con un espectrofotómetro de infrarrojo cercano FOSS 5000 (NIRsystems) calibrado, con una sonda de fibra óptica integrada con una ventana de cuarzo de 25 cm² y con intervalo de lectura de 1100 a 2500 nm. El tamaño de la muestra de suelo fue 200 g y la dimensión de la bolsa de polietileno fue 20.8 cm × 9.9 cm (peso, 1.5 g). Las lecturas se realizaron en suelo dentro y fuera de la bolsa. En el primer caso se presionó la ventana de la sonda para asegurar un contacto total con el suelo dentro de la bolsa y se efectuó la lectura. En el segundo caso el suelo se depositó sobre una placa de vidrio, se colocó la sonda en contacto con el suelo y se efectuó la lectura; la sonda se limpió después de cada medición. El intervalo de registro útil fue de 1100 nm a 2000 nm, realizando una lectura cada 2 nm, lo que generó 450 datos para cada observación con y sin bolsa (el análisis requiere 3 min aproximadamente).

Para el análisis quimiométrico de los datos se usó el software ISI 1.02 (WinISI II, 1999), aplicando los siguientes tratamientos matemáticos y estadísticos: análisis por componentes principales, aplicación de primera y segunda derivadas a los espectros, varianza normal estándar (SNV), corrección de la dispersión multiplicativa (MSC), DT (detrent); para calibrar el modelo se usó el método de mínimos cuadrados parciales (MPLS), y como criterios de bondad de ajuste se usó el análisis de error de predicción (SEP) y el error de predicción de la calibración (SEPC) (Geladi, 2003; Miller y Miller, 2002). Estos tratamientos matemáticos tienen diferentes parámetros estadísticos que permiten seleccionar la mejor ecuación. Los tratamientos se expresan en una serie de números que indican cual tratamiento matemático usar. El primer número indica uso de derivadas, las cuales se utilizan para encontrar y corregir problemas de ruidos del espectro.

(Palma-López *et al.*, 2007), with a wide interval of Nt content. These soils have contrasting characteristics in texture, pH, organic matter (MO), Nt, and cationic interchange capacity (CIC). Random analyses of the samples were made, and it was found that the variation of the results did not cause problems with the development of the model. The soil samples were dried at environmental temperature (26 °C) and in the shade, they were ground and sifted through a sieve of 0.5 mm diameter for analyses of MO (Walkley and Black) and Nt (Kjeldahl), and 2 mm for P_{Olsen} , K, Ca, Mg, Na, CIC (ammonium acetate 1 N pH 7), and texture (Bouyoucos). The analyses were conducted with the methods established in the Official Mexican Standard 021 (NOM, 2000).

Analysis by NIRS

The analysis of soil samples for Nt determination by means of NIRS was carried out with a calibrated FOSS 5000 near-infrared spectrophotometer (NIR-systems) with a probe of integrated optical fiber, having a quartz window of 25 cm² with reading ranged from 1100 to 2500 nm. The soil sample size was 200 g and the plastic bag had a dimension of 20.8 cm × 9.9 cm (weight 1.5 g). The readings were taken in soil within and outside the bag. In the first case the probe window was pressured in order to secure total contact with the soil inside the bag, and the reading was made. In the second case the soil was deposited on a glass plate, the probe placed in contact with the soil, and the reading was done; the probe was cleaned after each measurement. The interval of the useful range was from 1100 nm to 2000 nm, reading being carried out every 2 nm, which generated 450 data for every observation with and without bag (the analysis takes approximately 3 min).

The ISI software 1.02 (WinISI II, 1999) was utilized for chemometric data analysis, applying the following mathematical and statistical treatments: analysis by main components, application of first and second derivatives to the spectra, standard normal variance (SNV), correction of multiplicative diffusion (MSC), DT (detrent); the method of minimum partial squares (MPLS) was used to gauge the model, and the analysis of prediction error (SEP) as criteria for goodness of fitting and error of calibration prediction (SEPC) (Geladi, 2003; Miller and Miller, 2002). These mathematical treatments have different statistical parameters, which allow selecting the best equation. The treatments are expressed in a series of numbers indicating which mathematical treatment must be used. The first number indicates the use of derivatives, which are utilized to find and correct noise problems of the spectrum. The second number points out the use of GAP, representing the distance of the interval from the independent variable that separates the two

El segundo número indica el uso de GAP, que representa la distancia del intervalo de la variable independiente que separa los dos segmentos promediados. El tercer número representa el uso de Smooth que indica el suavizado obtenido de cada espectro. El cuarto número indica un arreglo extra aplicado al suavizado para mejorar la linealidad (WinISI II, 1999).

Los modelos de regresión se construyeron usando la concentración de Nt obtenido con el método Kjeldhal de las muestras como variable independiente, y como variable dependiente el valor máximo observado después de las lecturas obtenidas en el espectro NIR de cada muestra en el intervalo de longitudes de onda entre 1100 y 2000 nm. Cada modelo se expresó como:

$$Nt (\%) = \beta_0 + \beta_1 X_{\lambda_1} + \beta_2 X_{\lambda_2} + \beta_3 X_{\lambda_3} + \beta_4 X_{\lambda_4} + \dots + \beta_{450} X_{\lambda_{450}}$$

donde, β_0 es la ordenada al origen, β_n son los coeficientes de la curva de calibración, X_{λ_n} son las longitudes de onda leídas cada 2 nm, donde el coeficiente de correlación de los componentes es máxima en forma positiva o negativa. Para el presente estudio se encontraron 450 coeficientes β para cada modelo.

El modelo se evaluó mediante validación cruzada; el programa genera mínimo seis grupos de cancelación del conjunto de calibración y separa uno para comprobar los resultados, es decir verificar la predicción. Esta operación se repite tantas veces como los grupos existentes pasen por el grupo de calibración y el de predicción. El mejor modelo es el que presenta menor SEP, SEPC y mayor R^2 (Geladi, 2003; Miller y Miller, 2002; Wold *et al.*, 2001). Además se realizó una validación externa con un grupo de 26 muestras de suelo independientes que tuvieran diferentes características físicas y químicas con la finalidad de evaluar la precisión del modelo. Estas muestras se analizaron en las mismas condiciones que aquellas usadas para construir el modelo.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Propiedades químicas y físicas de los suelos tropicales

El contenido de Nt de las muestras fue de muy bajo a muy alto (NOM, 2000). Suelos con estas características y variabilidad de color (datos no presentados), textura, contenido de MO (Cuadro 1) se usan mayormente con fines agrícolas en el trópico.

El intervalo de las variables pH, Nt, P_{-Olsen} , el K, Ca, capacidad de intercambio catiónico, arena, limo, arcilla, se presentan en el Cuadro 1. El coeficiente de variación se usó para seleccionar los suelos para establecer el modelo matemático, y se eliminaron aquellos

averaged segments. The third number represents the use of Smooth, which indicates the softness obtained by each spectrum. The fourth number expresses an extra arrangement applied to smoothness in order to improve linearity (WinISI II, 1999).

The regression models were constructed utilizing the Nt concentration achieved from the samples with the Kjeldahl method as independent variable, and as dependent variable the highest value observed after the readings obtained in the NIR spectrum of each sample in the range of wavelengths between 1100 and 2000 nm. Each model was expressed as:

$$Nt (\%) = \beta_0 + \beta_1 X_{\lambda_1} + \beta_2 X_{\lambda_2} + \beta_3 X_{\lambda_3} + \beta_4 X_{\lambda_4} + \dots + \beta_{450} X_{\lambda_{450}}$$

where β_0 is the ordinate to the origin, β_n are the coefficients of the calibration curve, X_{λ_n} are the wavelengths read every 2 nm, where the correlation coefficient of the components is maximum in positive or negative form. For the present study 450 β coefficients were found for each model.

The model was evaluated by means of crossed validation; the program generates at least six cancellation groups of the calibration set and separates one in order to confirm the results, in other words, to verify the prediction. This operation is repeated as many times as the existing groups pass the calibration and the prediction group. The best model is the one presenting lower SEP, SEPC, and higher R^2 (Geladi, 2003; Miller and Miller, 2002; Wold *et al.*, 2001). Furthermore, external validation was carried out with a group of 26 independent soil samples having different physical and chemical characteristics, with the purpose of evaluating the precision of the model. These samples were analyzed under the same conditions as those used for constructing the model.

RESULTS AND DISCUSSION

Chemical and physical properties of tropical soils

The Nt content of the samples ranged from very low to very high (NOM, 2000). Soils with these characteristics and variability of color (data not presented), texture, MO content (Table 1) are the ones mostly used with agricultural purposes in the tropics.

The interval of the variables pH, Nt, P_{-Olsen} , K, Ca, cationic interchange capacity, sand, silt, and clay are shown in Table 1. The variation coefficient was used to select the soils for establishing the mathematical model, and those that did not show differences

que no presentaron diferencias. Lo anterior sirvió para establecer un conjunto de suelos que presentara la mayor diversidad de contenidos de Nt, aunque pertenecieran a la misma clase.

Descripción de los espectros NIR

Los espectros de cada muestra en bolsa (Figura 1) presentaron señales más suavizadas, a 1400 y 1900 nm, que las de las muestras sin bolsa (Figura 2). El intervalo de 2001 a 2500 nm se eliminó en ambas condiciones experimentales debido a que se presentó ruido de fondo de la señal. Esto confirma que la zona de 1100 a 2000 nm presenta mayor utilidad para establecer modelos de predicción, como lo reportan Viscarra *et al.* (2005). Los espectros de las muestras leídas con y sin bolsa presentaron señales en las longitudes de onda entre 1200 y 1750 nm, donde se ubican las moléculas: N-N, C-N, O-N, S-N, C-O-O-N. Ambos casos presentan las mismas señales de esos grupos funcionales.

were eliminated. The aforesaid served to establish a group of soils which had the greatest diversity of Nt contents, although they belonged to the same class.

Description of NIR spectra

The spectra of each sample in bag (Figure 1) had smoother signals at 1400 and 1900 nm than the samples without bag (Figure 2). The interval from 2001 to 2500 nm was eliminated under both experimental conditions, due to the fact that there was a background noise of the signal. This proves that the zone from 1100 to 2000 nm has greater utility for establishing prediction models, as reported by Viscarra *et al.* (2005). The spectra of the samples read with and without bag had signals in the wavelengths between 1200 and 1750 nm, where the following molecules are located: N-N, C-N, O-N, S-N, C-O-O-N. Both cases show the same signals of these functional groups.

Cuadro 1. Características químicas y físicas de los suelos tropicales utilizados.

Table 1. Chemical and physical characteristics of the tropical soils utilized.

Valores	pH (H ₂ O 1:2)	Nt (%)	MO	P _{-Olsen} (mg kg ⁻¹)	K	Ca	Mg	Na	CIC	Arena	Limo	Arcilla
Mínimo	3.9	0.02	0.02	0.3	0.01	0.1	0.01	0.1	2.5	11	1	20
Máximo	8.2	0.50	10.0	41.4	2.76	20.4	16.4	30.3	36.3	55	34	86
Media	5.3	0.12	2.90	6.3	0.23	3.0	2.4	1.3	12.3	31	14	55
CV	16.9	78.6	88.4	134.3	170.8	119.1	155.8	380.1	62.3	32.7	46.1	22.5

CIC: capacidad de intercambio catiónico ♦ Cationic interchange capacity.

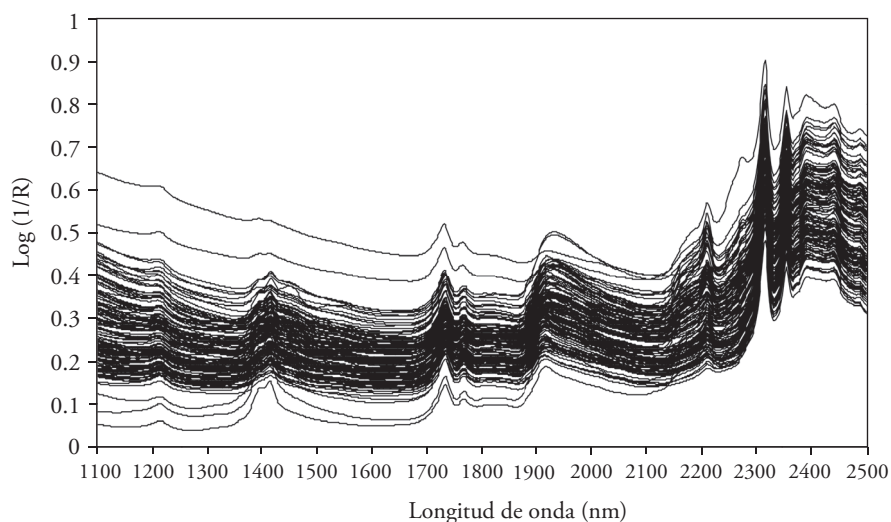


Figura 1. Espectro de los suelos analizados con bolsa.

Figure 1. Spectrum of analyzed soils with bag.

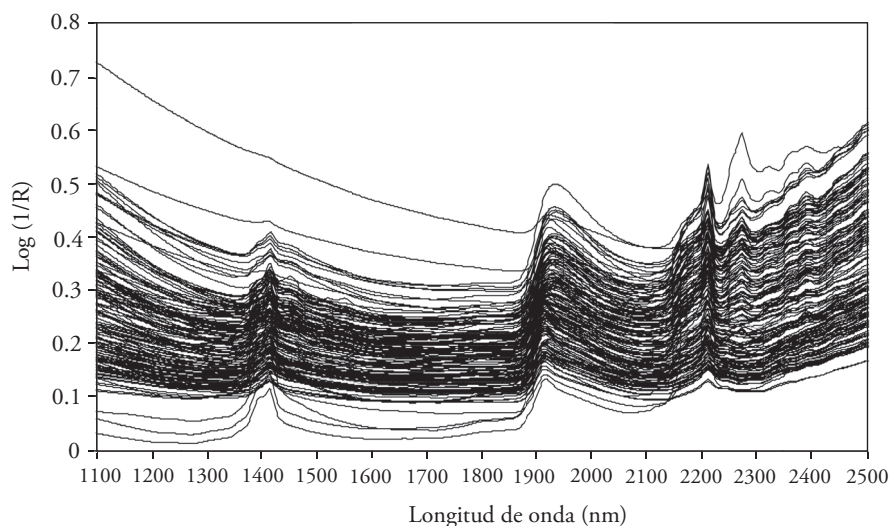


Figura 2. Espectro de los suelos analizados sin bolsa.

Figure 2. Spectrum of analyzed soils without bag.

Los espectros de las muestras de suelo en bolsa presentaron menor dispersión que los de las muestras sin bolsa y esto se atribuye a la presión que se ejerce sobre la muestra por la sonda en el momento de la lectura. Por lo anterior, la profundidad a la cual llega el haz infrarrojo es diferente ya que al colocar la sonda reiteradamente el suelo se compacta en proporción distinta en dependencia del tipo de partículas que lo forman. La variabilidad disminuye al usar las bolsa de polietileno debido a que mantiene el orden de las partículas del suelo y disminuye la variación de los espacios entre ellas por efecto de la presión aplicada.

El análisis de componentes principales permitió eliminar cinco muestras en ambos modelos, aquellas cuya varianza no contribuyó a aumentar el porcentaje de variabilidad explicada en los modelos (Cuadro 2).

Obtención y validación de los modelos matemáticos

Nt de suelo en bolsa

El tratamiento matemático SNV only 0,0,1,1 (varianza normal estándar) presentó mayor R^2 . La función de este tratamiento es escalar cada espectro para que una desviación estándar permita reducir los efectos del tamaño de partícula, el error estándar de calibración (SEC) y el error estándar de validación cruzada (SECV) del intervalo de longitud de onda usado en el análisis. La Figura 3 corresponde al espectro promedio generado con este modelo. El modelo se generó con 113 muestras (Cuadro 3) en contraste con las 60 muestras indicadas como necesarias

The spectra of the soil samples in bag had lesser diffusion than those of the samples without bag, which may be attributed to the pressure on the sample applied by the probe at the moment of reading. According to the aforesaid, the depth reached by the infrared beam is different, since the soil – at repeatedly placing the probe on it – gets compacted in different proportion, depending on its particle type. The variability diminishes at using the plastic bag, as it maintains the order of soil particles and it reduces the variation of the spaces among them because of the pressure applied.

The analysis of principal components allowed eliminating five samples in both models, those whose variance did not contribute to increase the percentage of explained variability in the models (Table 2).

Cuadro 2. Análisis de componentes principales para cada grupo de suelo.

Table 2. Analysis of principal components for each soil group.

Tipo de análisis	Tratamiento matemático	Variabilidad explicada (%)	Muestras eliminadas
Nt en suelo con bolsa	SNV only 2,4,4,1	99.97	5
Nt en suelo sin bolsa	None 2,8,6,1	99.83	5

SNV only = sólo varianza normal estándar; None = ningún tratamiento matemático ♦ SNV only = only standard normal variance; None = not any mathematical treatment.

(WinISI II, 1999). Esto se debió a una validación cruzada que separó algunas muestras en grupos e identificó las que tienen comportamientos inusuales o que presentaron diferencia ($2 \frac{1}{2}$ veces el error estándar de la ecuación) entre los datos del laboratorio y las predicciones. El SEC fue menor que SECV, y R^2 fue 0.92; estos resultados indican que el modelo presenta buen ajuste y que predice Nt en muestras desconocidas (Fidencio *et al.*, 2008).

Nt de suelo sin bolsa

La corrección al espectro fue innecesaria pero se realizaron tratamientos matemáticos, derivadas, Gaps y Smooths, lo cual fue suficiente para que el modelo presentara un valor similar bajo de SEC y

Obtaining and validation of the mathematical models

Soil Nt in bag

The mathematical treatment with only 0,0,1,1 SNV (standard normal variance) had higher R^2 . The function of this treatment is to escalate every spectrum in order to cause a standard deviation to allow reducing the effects of particle size, standard error calibration (SEC), and the standard error crossed validation (SECV) of the range of the wavelength used in the analysis. Figure 3 corresponds to the average spectrum generated with this model. The model was created with 113 samples (Table 3) in contrast to the 60 samples indicated as necessary (WinISI II, 1999).

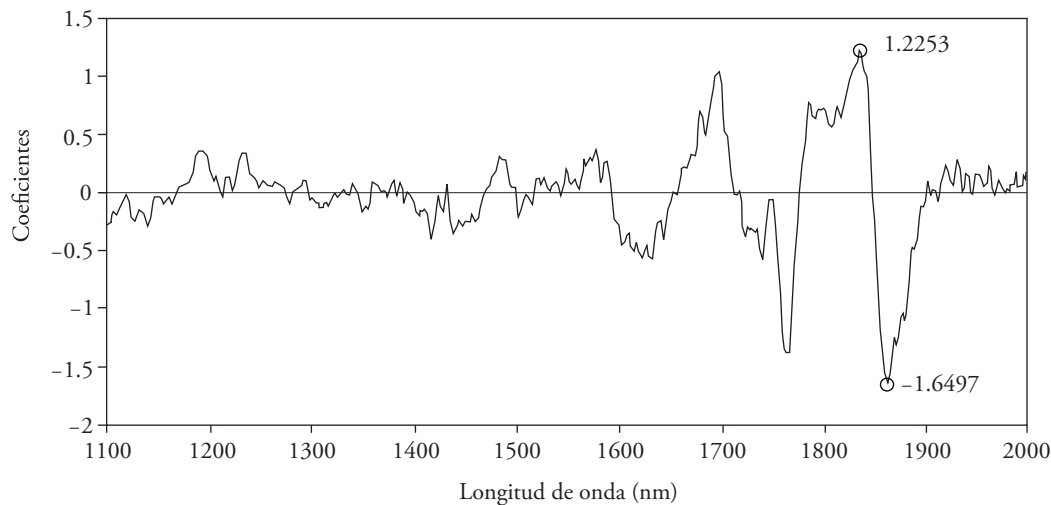


Figura 3. Coeficientes obtenidos para el modelo de predicción de Nt de suelo en bolsa después de los tratamientos matemáticos.
Figure 3. Coefficients obtained for the prediction model of soil Nt in bag after mathematical treatment.

Cuadro 3. Estadísticas de los modelos de calibración para nitrógeno total.

Table 3. Statistics of calibration models for total nitrogen.

Tipo de análisis	Tratamiento matemático	n	Media (%)	SD	R^2	Estimación Nt (%)		SEC	SECV
						Min	Max		
Nt en suelo con bolsa	SNV only	113	0.10	0.07	0.92	0.00	0.32	0.02	0.03
	0,0,1,1								
Nt en suelo sin bolsa	None	109	0.10	0.07	0.89	0.00	0.32	0.03	0.03
	2,8,6,1								

SNV only = sólo varianza normal estándar; None = ningún tratamiento matemático; SEC = error estándar de calibración; SECV = error estándar de validación cruzada ♦ SNV only = only standard normal variance; None = not any mathematical treatment; SEC = standard calibration error; SECV = standard error crossed validation.

SECV (Cuadro 3), con R^2 0.82. Estos resultados indican que el modelo presentó buen ajuste para predecir los contenidos de Nt en muestras desconocidas. En la Figura 4 se presenta el espectro promedio de Nt de este modelo.

Validación externa de los modelos

Nt de suelo en bolsa

Para validar externamente el modelo generado se seleccionaron al azar 20 muestras de suelos en bolsa y 26 sin bolsa, se registraron igual que las del grupo de calibración, se utilizó el modelo elegido para cada caso y se calculó Nt. El motivo de usar 20 y 26 muestras de suelos para validar el modelo es que la rutina es usar un mínimo del 10 % del total de las muestras para realizar la validación externa; en este caso se usó 18 y 19 % del total de muestras con y sin bolsa. También es posible comparar dos poblaciones con menos de 30 datos, con la prueba de Tukey (Wodeld *et al.*, 2001).

En la Figura 5 se presenta la validación externa del modelo de predicción de Nt en suelos con la bolsa de polietileno de acuerdo con los valores obtenidos por el método Kjeldahl y por NIRS. En esta validación se presentaron seis "outliers", los cuales no se muestran en la Figura 5. El coeficiente de correlación fue 0.96 y valores bajos de SEP y SEPC (0.02), lo cual muestra que el modelo predice con buena aproximación los

This was due to a crossed validation which divided some samples in groups identifying those with unusual performance or presenting differences ($2 \frac{1}{2}$ times the standard error of the equation) between laboratory data and the predictions. SEC was lower than SECV, and R^2 was 0.92; these results indicate that the model has good adjustment and predicts Nt in unknown samples (Fidencio *et al.*, 2008).

Soil Nt without bag

The correction of the spectrum was not necessary but mathematical treatments, derivatives, Gaps, and Smooths were carried out, which was enough for the model to present similar low value of SEC and SECV (Table 3) with 0.82 R^2 . These results indicate that the model had good adjustment for predicting Nt contents in unknown samples. Figure 4 presents the average Nt spectrum of this model.

External validation of models

Soil Nt in bag

In order to validate the generated model externally, 20 soil samples in bag and 26 without bag were selected at random; they were registered equally as those of the calibration group; the model chosen for each case was used and Nt was calculated. The reason for using 20 and 26 soil samples to validate

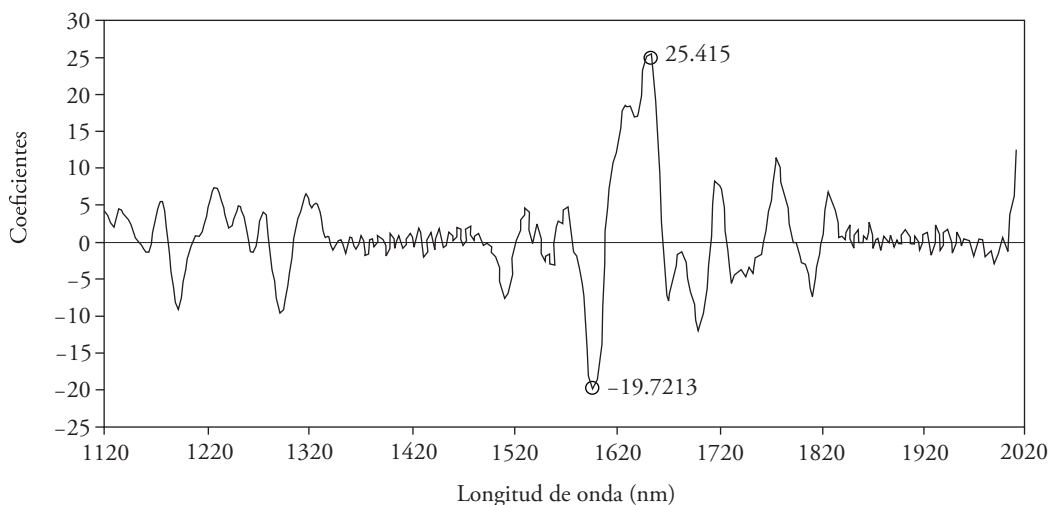


Figura 4. Coeficientes obtenidos para el modelo de predicción de Nt en suelo sin bolsa después de los tratamientos matemáticos .
 Figure 4. Coefficients obtained for the prediction model of soil Nt in bag after mathematical treatment.

contenidos de Nt. La prueba de Tukey mostró que los valores para Nt obtenidos con ambos métodos no son diferentes ($p>0.05$).

Nt de suelos sin bolsa

La correlación entre NIRS y el método Kjeldahl fue 0.90 (Figura 6) y en esta validación se presentaron seis outliers que no se muestran en la Figura 6. La correlación es alta y permite considerar que los resultados obtenidos por NIRS son similares a los del método de Kjeldahl (Takuya *et al.*, 2001; He *et al.*, 2007; Fidencio *et al.*, 2008). Los errores de predicción SEP (0.027) y de calibración (0.028) indican que es posible obtener buenas predicciones de Nt cuando se analizan muestras por NIRS sin bolsa. La prueba de Tukey corroboró que ambos métodos son estadísticamente similares.

CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos mediante los modelos de predicción generados por NIRS correlacionan bien con los datos de las muestras de suelos analizados por el método de Kjeldahl para determinar Nt, independientemente de las características de cada suelo particular. Los modelos para predecir Nt de suelos con y sin bolsa de polietileno, presentaron un ajuste que permite explicar 92 y 89 % de la variación. La

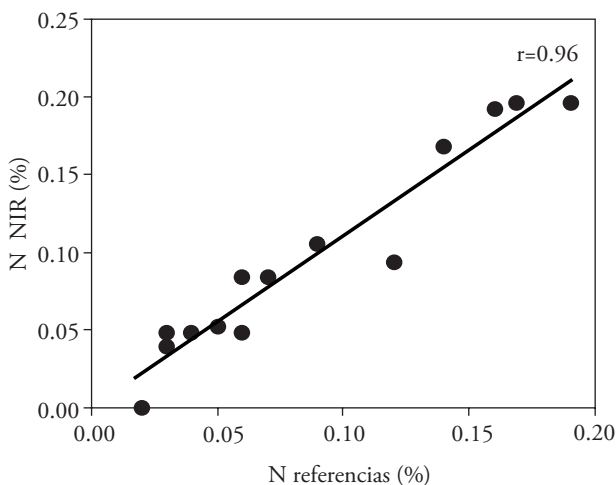


Figura 5. Validación externa del modelo NIRS para Nt en suelo con bolsa.

Figure 5. External validation of the NIRS model for soil Nt with bag.

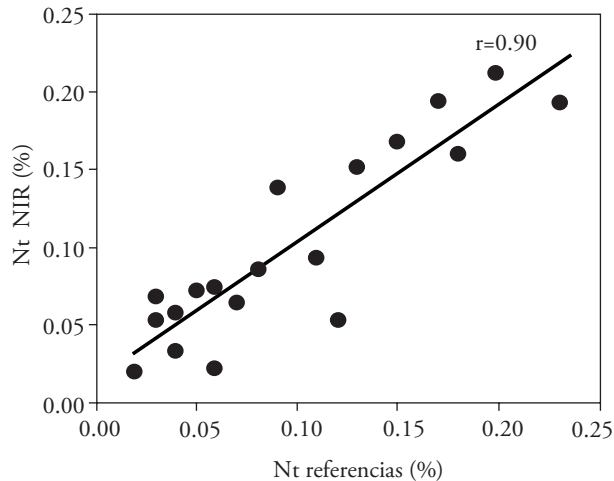


Figura 6. Validación externa del modelo NIRS para Nt en suelo sin bolsa.

Figure 6. External validation of the NIRS model for soil Nt without bag.

the model is that the routine is using a minimum of 10% of the total of the samples in order to carry out external validation; in this case, 18 and 19 % of the total of samples with and without bag were used. It is also possible to compare two populations with fewer than 30 data, based on the Tukey test (Wodeld *et al.*, 2001).

Figure 5 shows the external validation of the prediction model of Nt in soils with plastic bag, according to the values obtained by Kjeldahl method and by NIRS. In this validation six “outliers” were presented, which are not shown in the Figure. The correlation coefficient was 0.96 and low values of SEP and SEPC (0.02), which shows that the model predicts the Nt contents with good approximation. The Tukey test showed that the values obtained for NT with both methods are not different ($p>0.05$).

Soil Nt without bag

The correlation between NIRS and the Kjeldahl method was 0.90 (Figure 6), and in this validation six outliers were presented that are not shown in the Figure 6. The correlation is high and allows considering that the results obtained by NIRS are similar to those of the Kjeldahl method (Takuya *et al.*, 2001; He *et al.*, 2007; Fidencio *et al.*, 2008). The SEP errors of prediction (0.027) and of calibration (0.028) indicate that it is possible to achieve good

interferencia por el uso de bolsas de polietileno como preparación de las muestras de suelos puede ser corregida con el uso de quimiometría.

El análisis por NIRS es confiable, rápido y sencillo para la determinación de Nt de muestras de suelo en bolsa, ya que se elimina la limpieza del módulo de lectura de la fibra óptica entre las muestras.

LITERATURA CITADA

- Bremner, J. M., and S. Mulvaney C. 1982. Nitrogen total. *In*: Page, A. L., R. H. Miller, and D. R. Keeney (eds). *Methods of Soil Analysis. Part II. Am. Soc. Agron. No 9 in Agronomy Series*. Madison, Wisconsin, USA. pp: 595-624.
- Cozzolino D., and A. Morón. 2006. Potential of near-infrared reflectance spectroscopy and chemometrics to predict soil organic carbon fractions. *Soil Tillage Res.* 85: 78-85
- Ehsani, M. R., K. Upadhyaya S., D. Slaughter, S. Shafii, and M. Pelletier. 1999. A NIR technique for rapid determination of soil mineral nitrogen. *Precision Agric.* 1(2):217-234.
- Fidencio H. P., R. Poppi J., J. Andrade C., and F. Abreu M. 2008. Use of radial basis function networks and near-infrared spectroscopy for the determination of total nitrogen content in soils from Sao Paulo State. *Analytical Sci.* 24: 945-948.
- Geladi, P. 2003. Chemometrics in spectroscopy. Part 1. Classical chemometrics. *Spectrochimica Acta part B.*, 58: 767-782.
- He Y., M. Huang., A. Pereira G., A. Gómez H., and H. Song. 2007. Prediction of soil macronutrients content using near-infrared spectroscopy. *Computers and Electronics in Agric.* 58(2): 144-153.
- Loveland P., and J. Webb. 2003. Is there a critical level of organic matter in the agricultural soils of temperate regions: a review. *Soil Tillage Res.* 70(1): 1-18.
- Miller N. J., y J. Miller C. 2002. *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*. Ed. Pearson Educación S. A. Madrid, España. 278 p.
- NOM-2000, Norma Oficial Mexicana (2000) que establece las especificaciones de fertilidad, salinidad y clasificación de suelos. Estudios, muestreo y análisis. NOM-021-REC-NAT-2000. Diario Oficial 31 de diciembre de 2002. México.
- Odlare M., K. Svensson, and M. Pell. 2005. Near infrared reflectance spectroscopy for assessment of spatial soil variation in an agricultural field. *Geoderma* 126: 193-202.
- Palma-López D. J., J. Cisneros D., E. Moreno C., y J. A. Rincón-Ramírez. 2007. Suelos de Tabasco su uso y manejo sustentable.

Nt predictions when samples are analyzed by NIRS without bag. The Tukey test corroborated that both methods are statistically similar.

CONCLUSIONS

The results obtained by means of the prediction models generated by NIRS correlate well with the data of the soil samples analyzed with the Kjeldahl method for determining Nt, independently of the characteristics of each particular soil. The models to predict soil Nt with and without plastic bag showed adjustment that permits to explain 92 and 89% of the variation. The interference because of the use of plastic bags as preparation of the soil samples can be corrected using chemometrics.

Analysis by NIRS for Nt determination of soil samples in bag is reliable, rapid, and easy, since the cleaning of the optical fiber of the reading module between the samples, can be omitted.

—End of the English version—

-----*-----

- ble. Colegio de Postgraduados-ISPROTAB-Fundación Produce Tabasco, A.C. Villahermosa, Tabasco. 195 p.
- Takuya O., T. Konoshin, N. Kosuke, and I. Yoshinobu. 2001. Rapid determination of miso quality using near infrared spectroscopy. *Bulletin of the Hyogo Prefectural Agric. Institute. Agriculture Section* 49 (2): 9-13.
- Viscarrá R, R, A., J. J. Walvoort D., L. McBratney J., and O. Skjemstad J. 2005. Visible, near infrared, mid infrared or combined diffuse reflectance spectroscopy for simultaneous assessment of various soil properties. *Geoderma* 131: 59-75.
- WinISI II. 1999. *Manual FOSS NIRsystems/TECATOR by Intrasoft International, LLC*. Versión 1.02. 232 p.
- Wold S., M. Sjöström, and L. Eriksson. 2001. PLS-Regression: a basic tool of chemometrics. *Chemo. Intell. Lab. Syst.* 58: 109-130.