



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

**PROGRAMA EN SISTEMAS SUSTENTABLES DE PRODUCCIÓN EN
EL TRÓPICO**

**DETERMINACIÓN DE CARBONO ORGÁNICO SOLUBLE
EN MUESTRAS DE SUELOS TROPICALES MEDIANTE
ESPECTROMETRÍA INFRARROJO CERCANO**

MARIA DEL CARMEN LÓPEZ ÁLVAREZ

TESINA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE**

MAESTRÍA TECNOLÓGICA

H. CÁRDENAS TABASCO, MÉXICO

2010

AGRADECIMIENTOS.

En especial, quiero agradecer a las siguientes personas y a sus instituciones por su inversión de tiempo, interés, energía y compromiso con la realización de esta tesis:

- Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, por haberme permitido las facilidades de equipo y material en el Laboratorio de Análisis de Suelos, Plantas y Aguas.

- Al Dr. Armando Guerrero Peña. Profesor Investigador y Coordinador del Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas del Campus Tabasco - Colegio de Postgraduados, por su constante apoyo y excelente disposición durante el desarrollo de este trabajo.

- Al personal del Laboratorio de Suelos, Plantas y Aguas, Esteban, Bernardo, Martha, Lorena H. Nataren, Georgina y Emilgar, por su apoyo y comprensión, muchas gracias.

- A todos aquellos que de una u otra manera aportaron su conocimiento y habilidad para lograr el éxito en este trabajo.

DEDICATORIA

A Dios y la Virgen del Carmen. Por guiarme por el buen camino y haberme ayudado a terminar esta etapa de mi vida tan importante.

A mis padres por estar siempre a mi lado y apoyarme en todo

Marlene Álvarez Aguirre

Bartolo López López

A mi hijo, que es el motor de vida y que me impulsa a salir adelante cada día,
gracias por existir

Ángel Eduardo

A mis abuelos: Octaviano (†), Irene, Manuel (†) y Eulalia (†).

Afronta tu camino con coraje, no tengas miedo de las críticas de los demás. Y, sobre todo, no te dejes paralizar por tus propias críticas.

Paulo Coelho

RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo desarrollar una técnica rápida, no destructiva, basada en la tecnología NIRS para la determinación de carbono orgánico soluble en muestras de suelos tropicales. La espectroscopía en el infrarrojo cercano (NIRS), es una técnica analítica rápida, no destructiva, que correlaciona la radiación infrarroja cercana con las propiedades químicas y físicas de los materiales y se ha utilizado para evaluar las cualidades del suelo. Ha demostrado ser rápida, cómoda, sencilla, precisa y capaz de analizar muchos de los elementos constituyentes al mismo tiempo. El análisis por infrarrojo puede realizar análisis de carbono orgánico soluble (COS) en minutos en suelos de diferentes naturaleza, sin embargo, presenta la dificultad de que el espectro de las muestras, esta formado por 1050 registros, lo que lo vuelve difícil en su interpretación y manipulación, razón por la que es necesario hacer uso de la quimiometría para resolver este problema. Para este trabajo fueron seleccionadas 214 muestras de suelos del trópico húmedo de Tabasco, por sus características químicas contrastantes. Las muestras fueron secadas, molidas y tamizadas a través de una malla de 0.5 mm, el contenido de carbono orgánico soluble se determinó por el método de Fox y Piekielek, (1978), las lecturas de COS se realizaron en un Espectroscopio de Reflectancia en el Infrarrojo Cercano modelo Versatile Agri Analyzer™6500 System II Vertical Type 461008, Serial No. 9503 100-240 Vac max 200 W, 50-60 Hz de la empresa FOSS NIRSystems, el intervalo que cubre el escáner es de 400 a 2500 nm. Los resultados obtenidos indican que el modelo obtenido para determinar carbono orgánico soluble presentó un buen

ajuste y explica el 96.12%, con una correlación del 0,9612, lo que permite considerar al NIRS como un método altamente comparable con el método tradicional. Por lo anterior, se puede concluir que a partir de los datos generados con el NIRS y mediante una interpretación quimiométrica, se pueden desarrollar modelos de calibración para estimar el contenido de carbono orgánico soluble en suelos.

ABSTRACT

The present investigation was to develop a rapid, non-destructive NIRS based technology for the determination of soluble organic carbon in tropical soils samples. The near-infrared spectroscopy (NIRS) is an analytical technique rapid, nondestructive, infrared radiation which correlates closely with the chemical and physical properties of materials and has been used to assess the qualities of the soil. Has proven to be fast, comfortable, simple, precise and able to analyze many constituents at once. The analysis by infrared analysis can be made soluble organic carbon (SOC) in minutes in soils of different nature, however, presents the difficulty that the spectrum of the samples consists of 1050 records, which makes it difficult in its interpretation and manipulation, why is it necessary to use chemometrics to solve this problem. For this work 214 samples were selected soils of the humid tropics of Tabasco, by contrasting chemical characteristics. The samples were dried, ground and sieved through a mesh of 0.5 mm, the soluble organic carbon content was determined by the method of Fox and Piekielek (1978), readings were made in an COS Reflectance Spectroscopy Near Infrared Versatile Agri Analyzer TM Model 6500 461 008 System II Vertical Type, Serial No. 9503 200 W max 100-240 Vac, 50-60 Hz FOSS NIRSystems company, the range covering the scanner is 400 to 2500 nm. The results indicate that the model obtained to determine soluble organic carbon showed a good fit and explains 96.12%, with a correlation of 0.9612, which allows us to consider the NIRS as a method highly comparable with the traditional method. Therefore, one can conclude that from the data generated by NIRS and chemometrics interpretation

can be developed calibration models to estimate the content of soluble organic carbon in soils.

ÍNDICE

	Pág.
RESUMEN	v
ABSTRACT	vii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MATERIALES Y MÉTODOS	4
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	6
3.1. Estadística Descriptiva de los Valores de Carbono Orgánico Soluble	6
3.2. Obtención y Validación de los Modelos Matemáticos	8
3.3. Representación Tridimensional de la Población de Muestras	11
3.4. Obtención de los Scores	13
3.5. Muestras Extrañas u <i>Outliers</i>	14
3.6. Validación Cruzada del Modelo de Predicción NIRS	17
3.6.1. Correlación	17
4. CONCLUSIONES	19
5. LITERATURA CITADA	20

1. INTRODUCCIÓN

La materia orgánica (MO) es un indicador de la calidad del suelo, ya que incide directamente sobre propiedades edáficas (físicas, químicas y biológicas), como la estructura, disponibilidad de carbono y nitrógeno, es fuente de nutrientes para los microorganismos; siendo un excelente indicador de la calidad del suelo y su productividad (Gregorich *et al.*, 1994 y Quiroga y Funaro, 2004).

Cuando los residuos y la materia orgánica del suelo son descompuestos, una parte del carbono es liberado en forma de CO₂ y otra queda presente en el suelo en forma de carbono soluble o como compuestos carbonados móviles (Blair *et al.*, 1997).

La fracción de C soluble del suelo, cuyo valor no supera generalmente los 200 mg de C/kg de suelo, constituye el carbono orgánico disponible en formas rápidamente utilizables como fuente de nutrición y energía de los microorganismos heterótrofos, la cual utilizan para llevar a cabo actividades como fijación de nitrógeno, denitrificación e inmovilización de nutrientes entre otras (Davidson *et al.*, 1987, Zsolnay y Gorlitz, 1994, Bradley y Fyles, 1995).

En fertilidad de suelos, la determinación del C soluble se realiza con objeto de obtener un indicador rápido y práctico de las reservas y flujos de C y de N contenidas en el suelo (Qualls, 2000, Gregorich *et al.*, 2003) ya que este se relaciona con las reservas orgánicas activas que varían según la cantidad y calidad del material orgánico presente, como mencionan Fox y Piekielek (1978). Sin embargo, el uso del C soluble es poco utilizado y/o escasamente estudiado, para estimar la disponibilidad de nitrógeno en las regiones tropicales.

El análisis del C soluble se realiza con procedimientos químicos. Las soluciones más utilizadas son: agua fría (Davidson *et al.*, 1987; Martens y Frankenberger, 1990; Mazzarino *et al.*, 1993; McGill *et al.*, 1986), agua en ebullición (Davidson *et al.*, 1987; Martens y Frankenberger, 1990); y sulfato de potasio 0.5 M (pH 6.5-6.8) (Sparling y West, 1988; DeLuca y Keeney, 1993a; Tate *et al.*, 1988). Los cuales implican etapas de preparación de la muestra (secado, molienda y tamizado), así como una etapa de análisis (extracción, filtración, cuantificación).

La interpretación quimiométrica de las huellas espectrales generadas con un espectrofotómetro de infrarrojo cercano (NIRS) son utilizados en la química analítica para reducir el tiempo de análisis por eliminación de etapas en el proceso de cuantificación del analito de interés. Con estas herramientas ha sido posible generar modelos de estimación, regresión por mínimos cuadrados parciales, en el área de alimentos (Cen y He, 2007; Hearn y Subedi, 2009), en estudios

ambientales (Schimann *et al.*, 2007, Awiti *et al.*, 2008, Christy, 2008), en la industria farmacéutica (Sasic, 2008; Montanus *et al.*, 2009), entre otros.

El objetivo de este trabajo fue proponer un modelo matemático para la estimación del contenido de carbono orgánico soluble en muestras de suelos mediante NIRS, lo que constituirá una herramienta analítica, económica, útil, rápida y sencilla, para su aplicación en fertilidad de suelos.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

Se colectaron 214 muestras de dos tipos de suelos con diferente uso y manejo (agrícola, forestal, y vegetación natural), procedentes del estado de Tabasco. Las muestras fueron tomadas durante el periodo seco del año, a dos profundidades 0-20 cm y 20-40 cm, de profundidad (Cuadro 1). Las muestras se prepararon mediante secado al aire y bajo sombra, molidas y tamizadas en malla de 2 mm.

Cuadro 1. Origen de las muestras de suelo utilizadas en la investigación.

No. De muestra	Origen	Tipo de suelo	Prof. (cm)
25	Melchor 1a. Municipio Cárdenas Tab.	Fluvisoles	0-20
25	Melchor 1a. Municipio Cárdenas Tab.	Fluvisoles	20-40
30	Melchor 2a. Municipio Cárdenas Tab.	Fluvisoles	0-20
30	Melchor 2a. Municipio Cárdenas Tab.	Fluvisoles	20-40
22	Melchor 1a. Municipio Cárdenas Tab.	Vertisoles	0-20
22	Melchor 1a. Municipio Cárdenas Tab.	Vertisoles	20-40
30	Melchor 2a. Municipio Cárdenas Tab.	Vertisoles	0-20
30	Melchor 2a. Municipio Cárdenas Tab.	Vertisoles	20-40

A este grupo de muestras se le realizaron análisis de carbono orgánico soluble por el método de Fox y Piekielek (1978) y se obtuvo la huella espectral de las muestras de suelo con un espectrofotómetro modelo Versatile Agri Analyzer™6500 System II Vertical Type 461008, Serial No. 9503 100-240 Vac max 200 W, 50-60 Hz de la empresa Foss NIRSystems, con una celda porta muestra rectangular de cuarzo de 24 cm³; el intervalo espectral utilizado para obtener los modelos fue de 1100 a 2500 nm. Los programas utilizados para realizar la interpretación quimiométrica de las huellas espectrales fueron ISISCAN (versión 2.81 copyright 2006), WinISI III, Excel y Pirouette (Chemometrics Software versión 3.11 para Windows de infometrix Inc. Copyright 2007).

El análisis quimiométrico consistió en obtener un modelo de calibración de regresión por mínimos cuadrados parciales (PLS) y se realizó la validación del modelo entre las muestras como parte de la calibración, mediante un análisis discriminante basado en la distancia de Mahalanobis calculada por componentes principales (con el programa Pirouette). Para obtener el modelo, los espectros NIRS se transformaron matemáticamente mediante el tratamiento 1era, 2da derivada, SNV y log 10 (Barnes *et al.*, 1989) para corregir los efectos de la dispersión de la luz y la tendencia.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Estadística Descriptiva de los Valores de Carbono Orgánico Soluble

La descripción estadística de los datos de COS de los suelos (Columna 1), la cual fue cuantificada con el método de Fox y Piekielek, (1978), es presentada en el Cuadro 2 y en la Figura 1; en la cual podemos observar que los valores no presentan simetría debido a que la mediana no se ubica en el centro de la caja, con una asimetría negativa al acercarse la mediana más al primer cuartil.

El 50 % de las muestras se ubican en el recorrido o rango de los cuartiles 1 y 3, que valen: $Q1=0.55\%$ y $Q4=0.90\%$. El resto se ubican entre los cuartiles mencionados y el valor máximos (2.883 A de COS) y el mínimo (0.3 A de COS).

En la Figura 1, observamos la presencia de diez muestras cuyos contenidos de COS corresponden a valores extremos, fuera de la tendencia general (*outliers*); estas muestras son: 1208 (2.883 A de COS), 1386 (2.143 A de COS), 12.58 (2.056 A de COS), 1186 (1.858 A de COS), 1190 (1.843 A de COS), 13.54 (1.776 A de COS), 1260 (1.680 A de COS), 1226 (1.620 A de COS), 1229 (1.525 A de COS) y 1334 (1.524 A de COS); siendo considerada la muestra 1208 como un *outlier*.

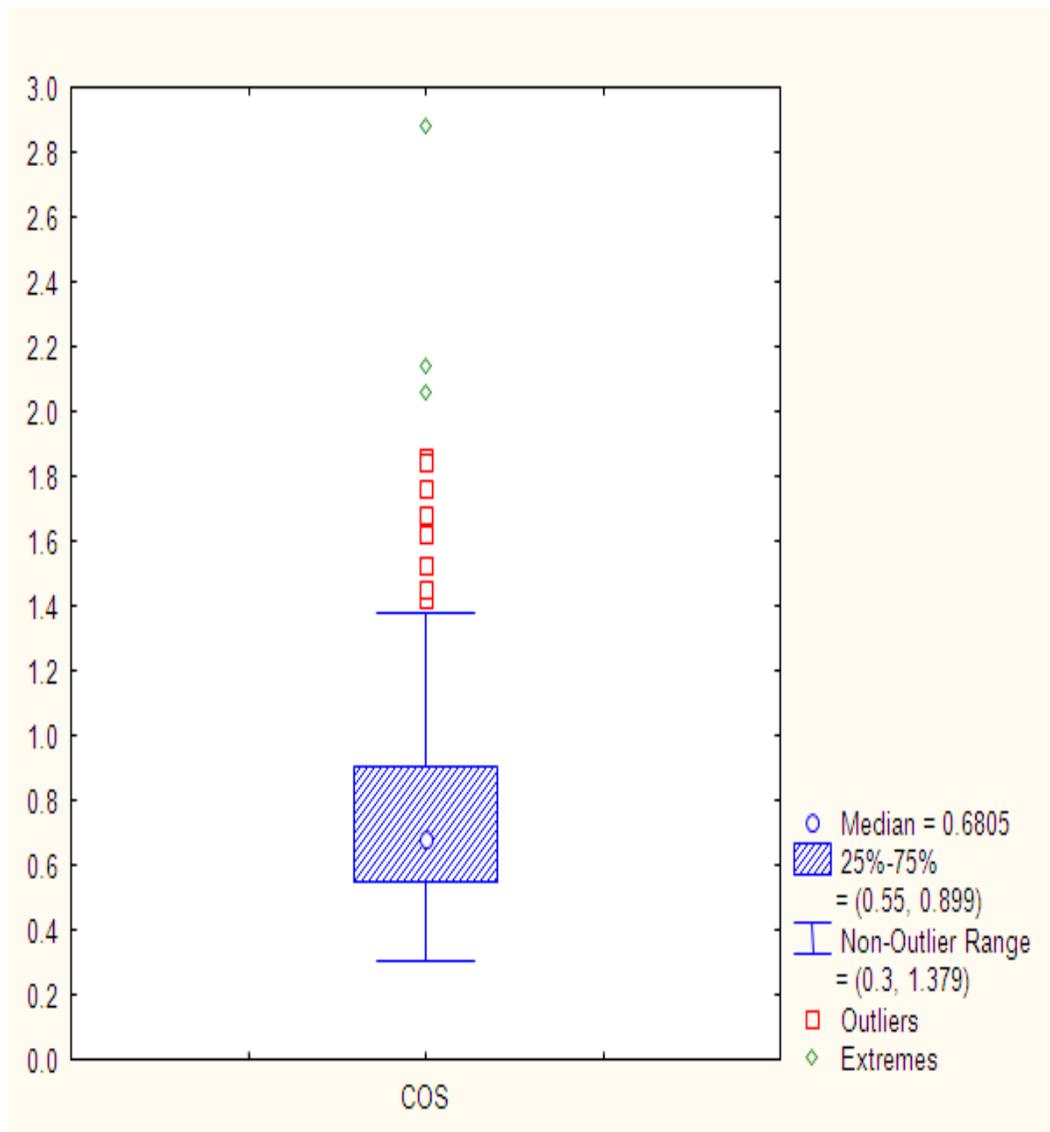


Figura 1. Distribución estadística de los datos de carbono orgánico soluble (COS)

Cuadro 2. Estadística descriptiva de los valores de carbono orgánico soluble.

<i>Columna1</i>	
Media	0,76300935
Error típico	0,0240735
Mediana	0,6805
Moda	0,582
Desviación estándar	0,35216496
Varianza de la muestra	0,12402016
Curtosis	7,7134164
Coefficiente de asimetría	2,17724687
Rango	2,583
Mínimo	0,3
Máximo	2,883
Suma	163,284
Cuenta	214

3.2. Obtención y Validación de los Modelos Matemáticos

Con el conjunto de espectros obtenidos, y transformados a variables de escala, se realizaron los tratamientos matemáticos correspondientes al método PLS. La elección de los mínimos cuadrados se hace teniendo en cuenta que el número de mínimos cuadrados elegido explica más del 96 % de la variabilidad espectral, y porque esta varianza es prácticamente constante.

El análisis quimiométrico, mediante PLS, de los espectros generaron los modelos de regresión; en total se evaluaron 150 modelos, para seleccionar el modelo que presentó los mejores indicadores de predicción. La construcción de las componentes se aplicó con objeto de construir una combinación lineal de las variables originales y proyectar, las muestras, dentro de un sub-espacio que se extiende en el primer componente principal y que representa la máxima covarianza lineal de la matriz con todas las variables respuesta.

En el Cuadro 3 se muestra el porcentaje de varianza espectral explicada para el contenido de carbono orgánico soluble, y tratamiento matemático efectuado en la construcción del modelo. En el cual consistió en un preprocesado de *Mean-center* (Mediana central) y una serie de transformaciones como *1st Derivative(15)*, *2nd Derivative(15)* (primera y segunda derivada con un número de punto de 15), *SNV* (*Standard Normal Variate*) y *Log 10* (Logaritmo de diez).

Cuadro 3. Tratamiento matemático y varianza explicada en el modelo de regresión PLS para la estimación de carbono orgánico soluble en las muestras

Tipo de análisis	Tratamiento matemático	Varianza explicada (%)
	Mean-center	
Carbono orgánico soluble	1st Derivative(15)	96.12
	2nd Derivative(15)	
	SNV	
	Log10	

Se determinó que el tratamiento matemático, para construir el modelo PLS, descrito anteriormente presentó la mejor R^2 y los menores errores en SEP (error estándar de predicción) y SEP (C) (error estándar de predicción corregido por el BIAS), en relación con los diferentes longitudes de onda a las que fue analizada, y después de aplicar los diferentes tratamientos matemáticos. En el Cuadro 4 se muestran los estadísticos del modelo seleccionado.

Cuadro 4. Estadísticas del modelo de calibración NIRS para carbono orgánico soluble.

	Y
SEP	0,0969
PRESS	2,0106
R	0,9612
Factors	9
Slope	0,9239
Intercept	0,0581
ModelESS	7039,187

En la validación interna del modelo de predicción para carbono orgánico soluble (Figura 2) se obtuvo una R^2 de 0.9612, un SEP de 0.0969 y un PRESS de 2.0106 (Cuadro 2), los errores estándar de calibración y de predicción resultaron ser bajos y muy similares entre sí, esto nos permite decir que el modelo puede funcionar para predecir contenidos de carbono orgánico soluble, de los suelos en los límites de estimación los cuales fueron: máximo 2.883 A y mínimo 0.3 A de carbono orgánico soluble.

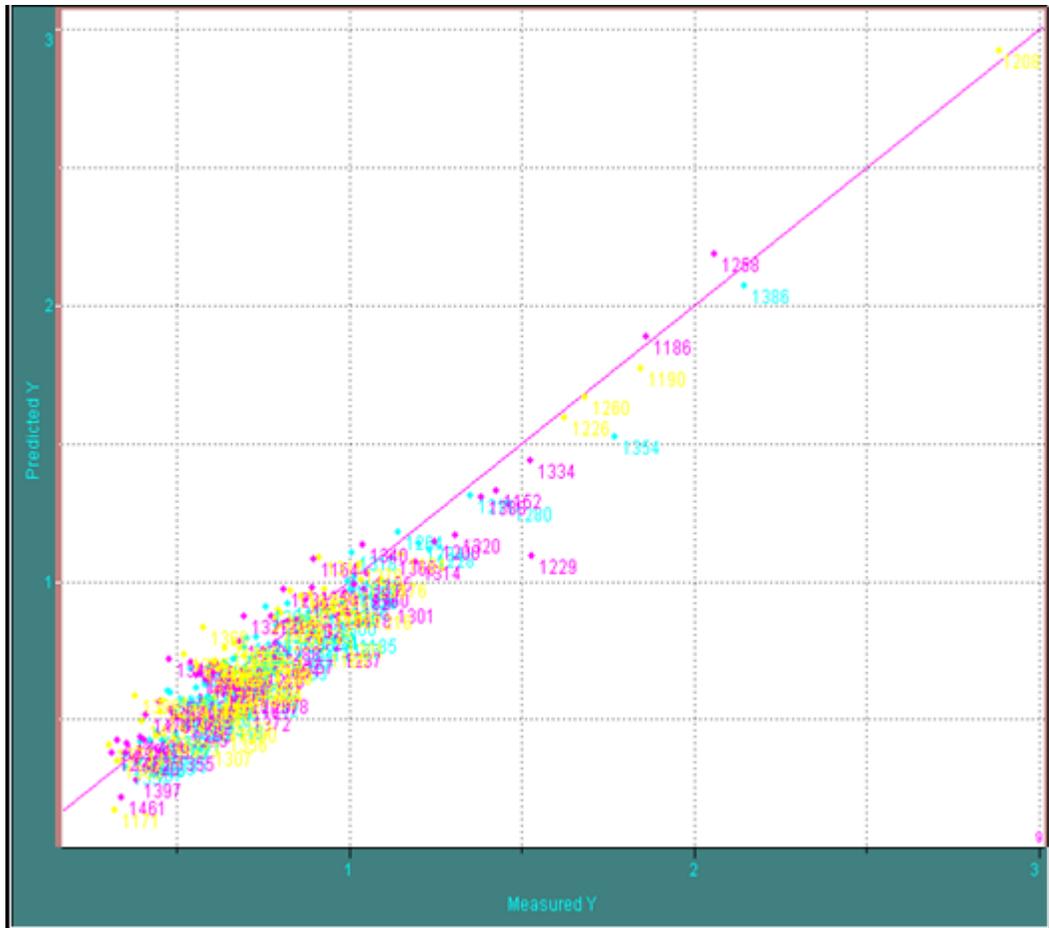


Figura 2. Validación interna del modelo NIRS para el parámetro carbono orgánico soluble.

3.3. Representación Tridimensional de la Población de Muestras

La información espectral se simplificó a través del centrado de la población mediante el análisis de componentes principales. Después del análisis de componentes principales, el conjunto de muestras aparece formando un elipsoide, en el cual se establece un radio que permitirá la detección de anomalías (“*outliers*”) utilizando la distancia de Mahalanobis global (GH) (se suele emplear un valor de GH de 3) (Figura 3). La causa de las muestras anómalas puede ser:

3.4. Obtención de los Scores

En la Figura 4 se representan los registros del PLS obtenidos durante el proceso de la validación del modelo, en ella podemos observar que en las diferentes combinaciones de factores, se muestra homogeneidad de los datos.

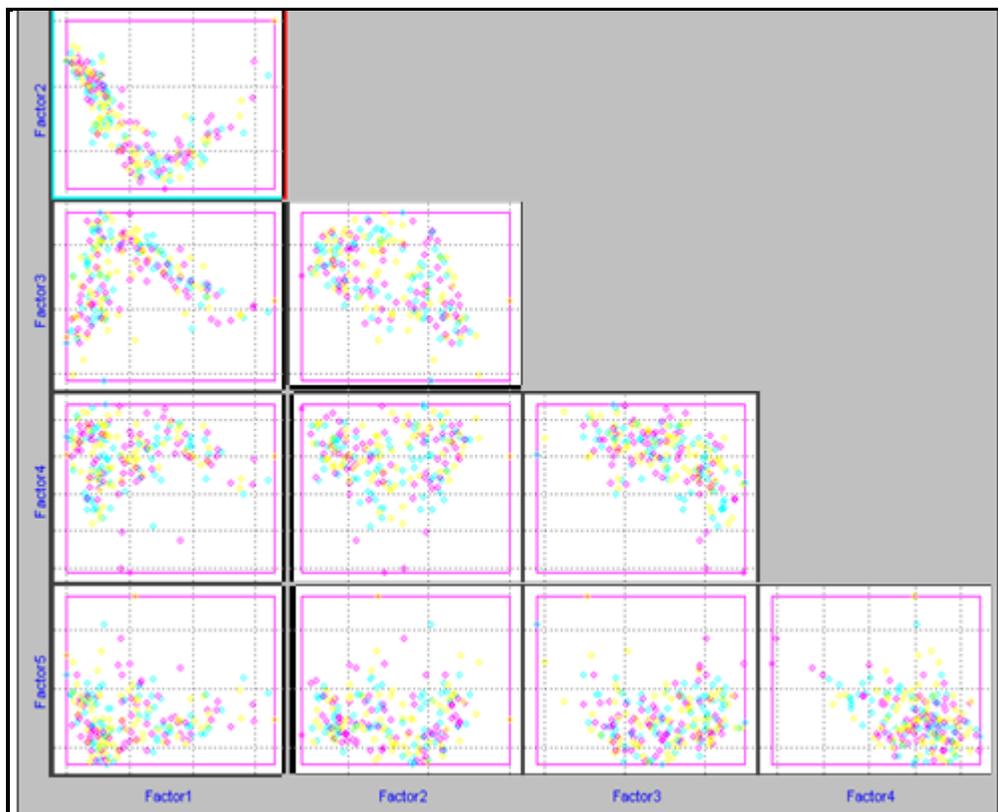


Figura 4. Registros del PLS obtenidos para la predicción de carbono orgánico soluble generados con los espectros NIRS.

3.5. Muestras Extrañas u *Outliers*

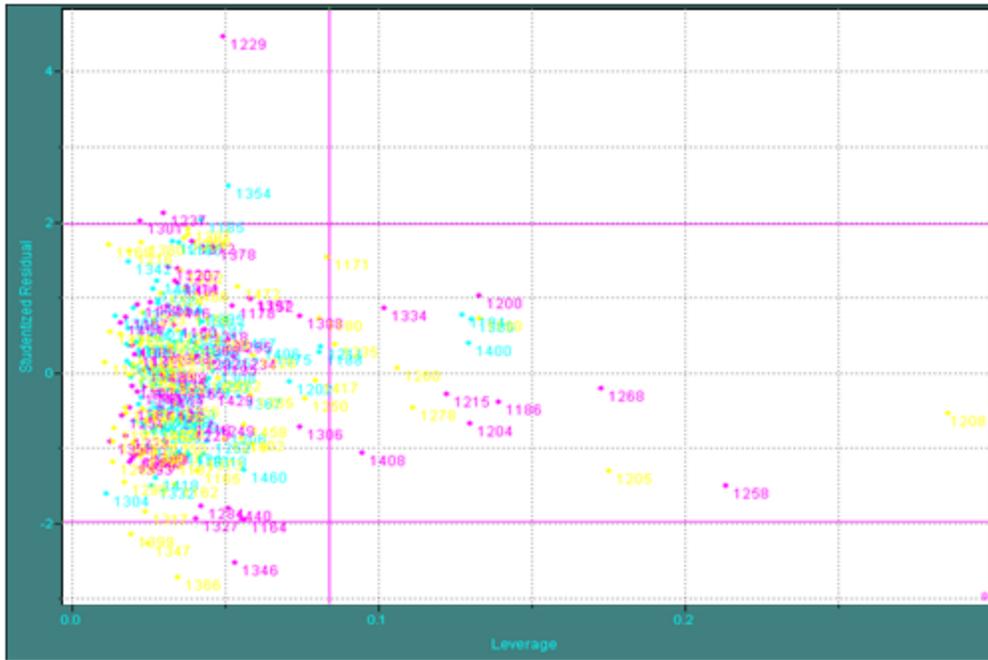
Durante el proceso de la validación del modelo se detectaron muestras que se considera extrañas o aberrantes (en inglés referidas como *outliers*), que no corresponden a la calibración (Figura 5). Para clasificar una muestra como extraña, se usan dos criterios. Uno es el residual (desvío) entre el valor de predicción (NIRS) (Figura 6) y el de referencia que son datos generados en el laboratorio por el método de Fox y Piekielek (1978), para cada muestra. El software Pirouette calcula un término t , que equivale a la relación entre el valor residual (desvío) y el SEC para el grupo. El valor t límite es definido arbitrariamente, pero frecuentemente se utiliza un valor de 2.5 por defecto.

El otro criterio estadístico para caracterizar, ahora desde el punto de vista de sus valores espectrales a una muestra, es el valor H , calculado mediante técnicas de análisis multivariable a través de componentes principales, y que corresponde a lo que en estadísticas se conoce como la distancia de Mahalanobis.

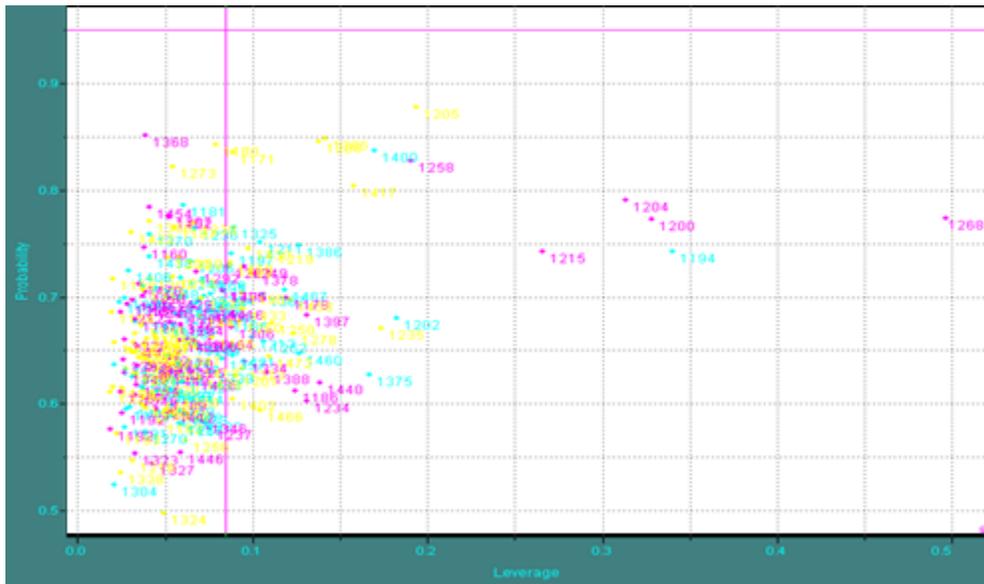
Este valor permite por tanto, discriminar si una muestra forma o no parte del grupo de calibración a través de su distancia al valor espectral promedio. Dado que cada grupo puede tener diferencias, se usa un valor H estandarizado, al dividir por el valor espectral promedio del grupo de calibración.

Frecuentemente se establece un valor límite de 3.0 y muestras con valor H estandarizado mayores, se consideran aberrantes.

Un aspecto importante a tener en cuenta, es que aún, cuando algunas de las muestras estudiadas, eran claramente *outliers* (sus valores de predicción se alejaban de la tendencia de sus muestras cercanas), se tuvieron en cuenta tanto para calcular el modelo de validación.



(a) Antes de la validación



(b) Después de la validación

Figura 5. Detección de las muestras extrañas u *outliers* durante el proceso de validación para el contenido de carbono orgánico soluble.

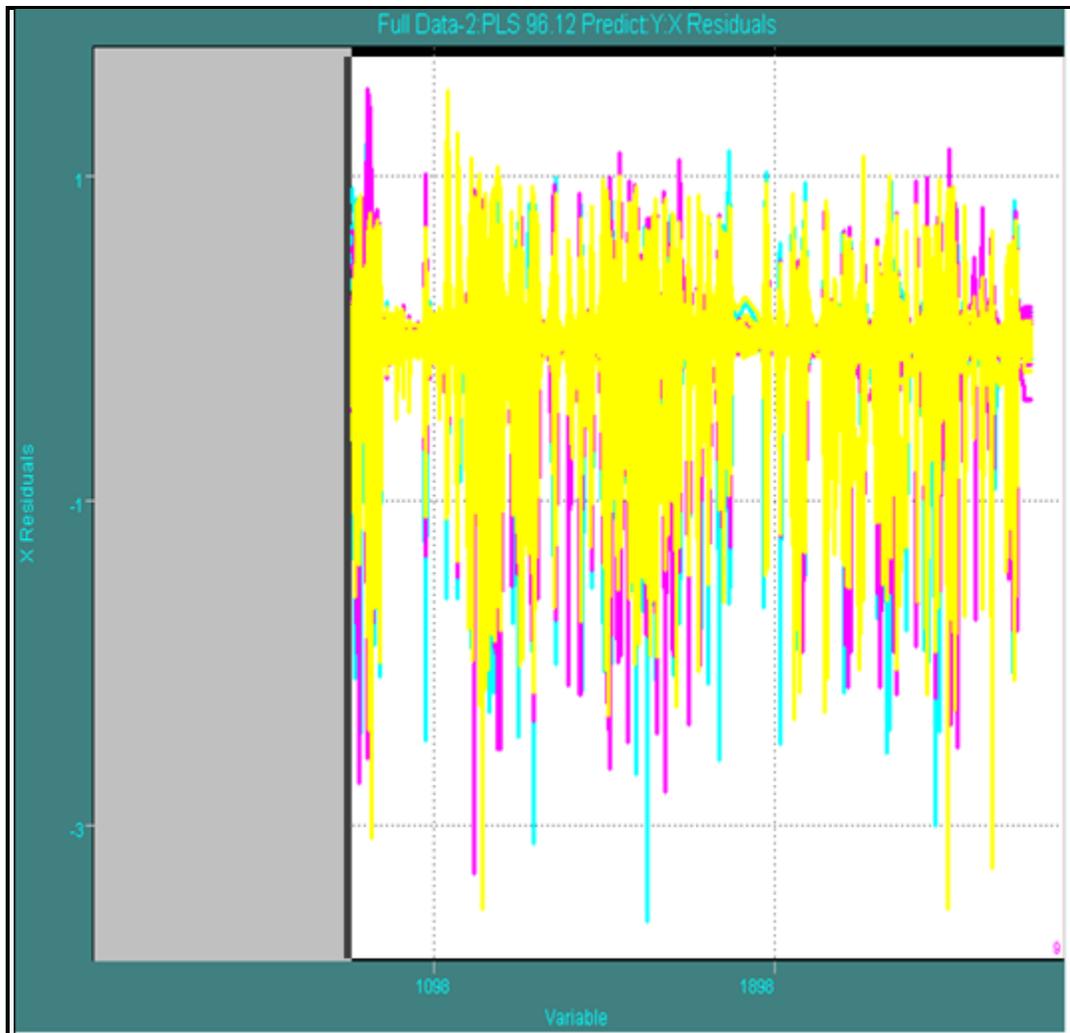


Figura 6. Detección de residuales en los valores espectrales para el contenido de carbono orgánico soluble.

3.6. Validación Cruzada del Modelo de Predicción NIRS

3.6.1. Correlación

En la Figura 7 se muestra la correlación entre los valores de referencia (estimados con el método convencional de Fox y Piekielek, 1978) y los valores predichos o estimados con el modelo establecido con las señales espectrales NIRS.

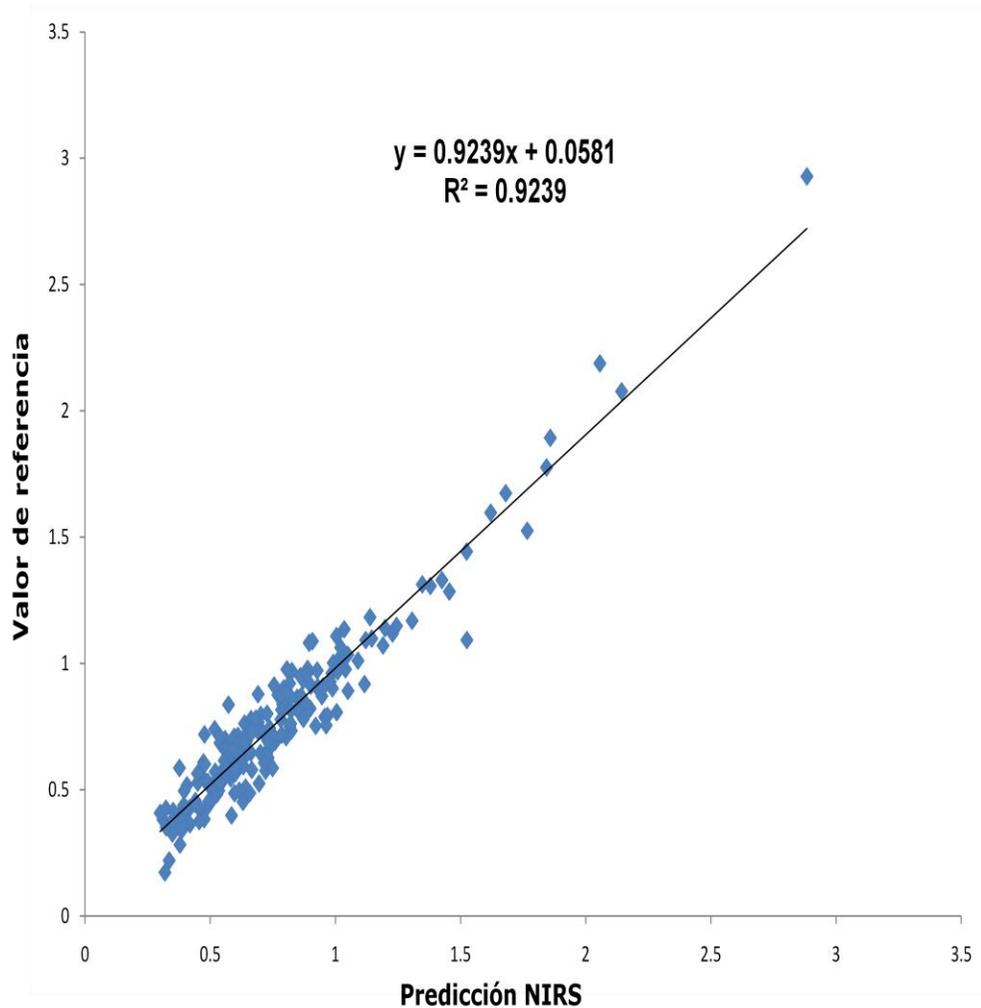


Figura 7. Correlación entre los valores de referencia y los predichos con el modelo NIRS.

El valor del coeficiente de correlación, entre los valores obtenidos con ambos procedimientos, es 0.923 el cual puede considerarse alto o aceptable; e indicar que la predicción con el modelo es buena. En la Figura 7, se observa como en la zona entre 1 y 1.5 de A de carbono orgánico soluble los valores se alejan de la línea de correlación.

4. CONCLUSIONES

Con la presente investigación se concluye que con la tecnología NIRS es posible estimar el contenido de carbono orgánico soluble de los suelos con resultados similares a los obtenidos con el método de referencia. Con la ventaja de que es una técnica no destructiva, ecológica al no generar desechos de laboratorio, con menor manipulación de la muestra y menor probabilidad de error, más rápida y más económica, que los métodos convencionales.

Con los datos obtenidos con el método químico de referencia, las huellas espectrales del NIRS y la técnicas quimiométricas fue posible desarrollar modelos de calibración para estimar el contenido de carbono orgánico soluble en muestras de suelo.

5. LITERATURA CITADA

- Alex O. Awiti, Markus G. Walsh, Jenesio Kinyamario. 2008. Dynamics of topsoil carbon and nitrogen along a tropical forest–cropland chronosequence: Evidence from stable isotope analysis and spectroscopy. In: *Agriculture, Ecosystems and Environment* 127: 265–272
- Angers, D. A.; N. Bissonnette; A. Legere y N. 1993. Samson, Microbial and chemical changes induced by rotation and tillage in a soil under barley production, Can. J. in: *Soil Sci*: 73, 39-50
- Barnes, R. J. Dhanoa, M. S. Lister, S. J. 1989. Standard Normal Variate and De-rendering of near diffuse reflectance spectra. In: *Appl. Spectroscopy*, 43: 772-777.
- Blair, G. J. R., Letroy, G. B., Singh, B. P. and Till, A. R. 1997. Development and use of a carbon managemet index to monitor changes in Soil Carbon pool size and turnover rate. CAB. International Driven by Nature: Plant Litter Quality and Descomposition. Eds. G. Cadisch y K. Ek Giller.

- Bowman, R. A., W. D. Guenzi and D. J. Savory. 1991. Spectroscopic for estimation of soil organic carbon. In: *Soil Sci.* 55: 563-566.
- Bradley, R. L y W. Fyles. 1995. A kinetic parameter describing soil available carbón and its relationship torate increase in C mineralization. In: *Soil Biol. Biochem.* 27: 167-172
- Davidson, E. A; L. F. Galloway y M. K. Strand. 1987. Assesing available carbon: Comparison of techniques across selected forest soils, Commun. In: *Soil Sci. Plant Anal:* 18: 45-64
- DeLuca, T. H. y D. R. Keeney. 1993a. Soluble Anthronereactive Carbon in Soil: Effect of Carbon and Nitrogen amendments. In: *Soil Sci.* 57: 1296-1300
- DeLuca, T. H. y D. R. Keeney. 1993b. Soluble organics and extractable Nitrogen in paires prarie and cultivated soils of central Iowa. In: *Soil Sci:* 155: 219-228
- Fox, R. H. and W. P. Piekielek. 1978. A rapid method for estimating the nitrogensupplying capability of a soil. In: *Soil Sci.* 42: 751-753

- Gianello, C. and Bremner, J. M. 1986. Comparison of chemical methods of assessing potential mineralizable organic nitrogen in soil. In: *Communication in soil science and plant analysis*. 17: 215-236.
- Gregorich EC, Carter MR, Angers VC, Monreal M y Ellert BH. 1994. Towards a minimum data set to assess soil organic matter quality in agricultural soil. *Can J. In: Soil Sci.* 22:367-385.
- Haiyan Cen and Yong He. 2007. Theory and application of near infrared reflectance spectroscopy in determination of food quality. In: *Trends in Food Science & Technology* 18: 72-83
- Heidi Schimann, Richard Joffre, Jean-Christophe Roggy, Robert Lensi, Anne-Marie Domenach. 2007. Evaluation of the recovery of microbial functions during soil restoration using near-infrared spectroscopy. In: *Applied soil ecology* 37: 223-232
- Hu. S.; D. C. Coleman; P. F. Hendrix; y M. H. 1995. Beare, Biotic manipulation effects on soil carbohydrates and microbial biomass in a cultivated soil. In: *Soil Biol. Biochem.* 27: 1127-1135

- L.K. Hearn, P.P. Subedi. 2009. Determining levels of steviol glycosides in the leaves of *Stevia rebaudiana* by near infrared reflectance spectroscopy. In: *Journal of Food Composition and Analysis* 22. 165–168
- Martens, D. A. y W. T. Frankerberger. 1990. Quantification of soil saccharides by spectrophotometric methods, in: *Soil Biol. Biochem.* 22: 1173-1175
- Mazzarino, M. J.; L. Szott y M. Jimenez. 1993. Dynamics of soil total C and N, microbial biomass, and wáter-soluble C in tropical agroecosystems. In: *Soil Biol. Biochem.* 25: 205-214
- McGill, W. B.; K. R. Cannon; J. A. Robertson y F. D. 1986. Cook, Dynamics of soil microbial biomass and water-soluble organic C in Breton L after 50 years of cropping to two rotations, Can. J. In: *Soil Sci.* 66: 1-19
- Piroutte: Comprehensive Chemometrics modeligs Software, Infometrix, Ver. 3.0, Woodinville, WA, 2007.

- Quiroga A. y D. Funaro. 2004. Materia orgánica. Factores que condicionan su utilización como indicador de calidad en Molisoles, de las Regiones Semiárida y Subhúmeda Pampeana. XIX Congreso Argentino de la Ciencia del Suelo. Actas Pp: 476.
- Saviozzi, A. R. Levui-Minzi y R. Riffaldi. 1994. The effect of forty years of continuous corn cropping on soil organic matter characteristics, *Plant and Soil*. 160: 139-145
- Slobodan Sasic. 2008. Chemical imaging of pharmaceutical granules by Raman global illumination and near-infrared mapping platforms. In: *Analytica chimica acta 611: 73–79*
- Sparling, G. P. y A. W. West. 1988. A direct extraction method to estimate soil microbial C: calibration in situ using microbial respiration and ¹⁴C labelled cells. In: *Soil. Biol. Biochem.* 20: 337-343
- Tate, K. R.; D. J. Ross y C. W. Feltham. 1988. A direct extraction method to estimate soil microbial C: effects of experimental variables and some different calibration procedures. In: *Soil Biol. Biochem.* 20: 329-335

- Zsolnay, A. y H. Grolitz. 1994. Water extractable organic matter in arable soils effects of drought and longterm fertilization. In: *Soil Biol. Biochem.* 26: 1257-1261