

4014UY

Determinación de fósforo total en aguas y efluentes



Flow Injection Analysis (FIA)

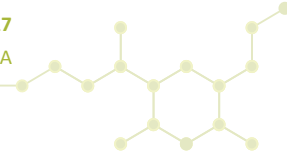
Elaborado - E. Broggi

Modificado - E. Rodó

Revisado - S. Azambuya, Jefe Sección Físico-Químico

Aprobado - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental





1. APLICACIÓN

- 1.1. Se denomina fósforo total a todo el fósforo presente en una muestra, que corresponde a ortofosfato, fosfatos condensados y fosfatos unidos a materia orgánica.

Esta normativa técnica es adecuada para la determinación de fósforo total en aguas naturales, salobres o salinas, y tratadas, así como en aguas residuales domésticas e industriales.

El rango de trabajo es de (0,050 – 50) mg P/L y el rango lineal (0,050 – 10) mg P/L. El límite de detección es de 15 µg P/L

2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.5. Instructivo de uso del equipo de análisis por inyección en flujo (INE 78)
- 2.6. Instructivo de uso de balanzas (INE 16A, INE 16B, INE 06)
- 2.7. Ruta de análisis (RFQ 27)

3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. El método se basa en la digestión de varias formas de fósforo a ortofosfato mediante peroxodisulfato con digestión UV en línea. El fósforo orgánico es transformado a ortofosfato por la digestión con persulfato catalizada mediante luz UV. Los polifosfatos son transformados a ortofosfato por digestión con ácido sulfúrico también en línea. El proceso de digestión se lleva a cabo previo a la válvula de muestra del equipo. Una porción de la muestra digerida es luego inyectada y los fosfatos determinados mediante FIA.

El ión ortofosfato (PO_4^{3-}) reacciona con molibdato de amonio y tartrato de antimonio y potasio en medio ácido para formar un complejo. Este complejo es reducido con ácido ascórbico para formar un complejo de color azul que absorbe a 880 nm. La absorbancia es proporcional a la concentración de ortofosfato en la muestra en el rango de (0,050 – 10) mg P/L.

4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Se requieren túnica, guantes y anteojos de protección.
- 4.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial para la salud, la exposición a los mismos debe ser minimizada.
- 4.3. En particular el persulfato de amonio y el tartrato de antimonio y potasio son tóxicos por lo que se aconseja leer la hoja que acompaña las especificaciones de dichos reactivos.
- 4.4. El ácido sulfúrico es corrosivo y debe tratarse con las precauciones del caso.

Nota 1: Al preparar el ácido sulfúrico diluido, verter el mismo sobre el agua destilada y no al contrario debido a que produce una reacción exotérmica.

5. INTERFERENCIAS

- 5.1. Interferencia positiva: el arseniato reacciona con el reactivo de molibdeno produciendo color azul intenso, en concentraciones por encima de 0,1 mg As/L.
- 5.2. Interferencias negativas: el cromo hexavalente y los nitritos interfieren dando resultados 3 % más bajo a concentraciones de 1 mg/L y entre 10 % y 15 % más bajo a concentraciones de 10 mg/L.
- 5.3. Na_2S no interfiere con la determinación si se encuentra en concentraciones menores que 1,0 mg/L
- 5.4. El ión silicato interfiere si está presente en concentraciones mayores que 10 mg/L. En general la interferencia es insignificante ya que se requeriría una concentración de aprox. 30 mg/L para producir una interferencia positiva de 0,005 mg P/L.
- 5.5. Concentraciones de hierro mayores a 50 mg/L producen un error negativo por competencia con el complejo por el agente de reducción de ácido ascórbico.

- 5.6. La contaminación del material de vidrio es un problema en las determinaciones de bajos niveles de fósforo. El material debe lavarse idealmente con HCl diluido caliente y luego con agua desionizada.

6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar aproximadamente 100 mL muestra en frasco de vidrio, o plástico lavado sin detergente y enjuagado con HCl 1+1 y posteriormente con agua desionizada.
- 6.2. Mantener la muestra refrigerada a ≤ 6 °C (> 0 °C).
- 6.3. Filtrar la muestra (si se desea analizar el contenido soluble). Realizar la determinación dentro de las 48 h luego del muestreo.
- 6.4. En caso de no poder determinarse en los tiempos mencionados, la muestra puede ser preservada congelada, a temperatura ≤ -10 °C, durante un máximo de 28 días. Las muestras con bajo contenido de fósforo no deben ser almacenadas en plástico por períodos largos de tiempo a menos que se preserven congeladas.

7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

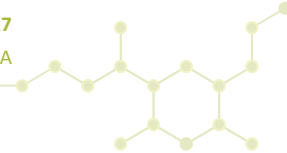
- 7.1. Balanza de resolución 0,001 g (Uso: preparación de curva de calibración y diluciones de soluciones control)
- 7.2. Balanza de resolución 0,0001 g (Uso: preparación de solución estándar stock y soluciones control)
- 7.3. Balanza de resolución de 0,01 g (Uso: dilución de muestras)
- 7.4. Pipetas automáticas de volumen variable de rango de (1,00 – 10,00) mL y (100 – 1000) μ L.
- 7.5. Matraces aforados de 1000 mL y 100 mL.
- 7.6. Frascos o matraces Erlenmeyer de 250 mL y 500 mL
- 7.7. Sistema de análisis por inyección en flujo provisto de Manifold y digestor para la determinación de fósforo total (LACHAT QuickChem 8500 o similar)

Nota 2: todo el material que se utilice debe lavarse sin detergente, enjuagarse con HCl 1+1 y posteriormente con agua desionizada.

8. REACTIVOS

Nota 3: Es recomendable desgasear los reactivos que se utilizan en el sistema de inyección en flujo (excepto los estándares y controles) para prevenir formación de burbujas en el sistema.

- 8.1. **Solución de molibdato de amonio:** pesar 20,0 g de molibdato de amonio tetrahidratado $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$ Nro. CAS 12054-85-2) y verter en un matraz aforado de 500 mL pesar. Agregar agua desionizada y disolver con agitador magnético durante al menos 4 horas. Llevar hasta aforo con agua desionizada. Almacenar en plástico y refrigerar. La solución es estable por 4 meses.
- 8.2. **Solución de tartrato de antimonio y potasio:** pesar 1,61 g de tartrato de antimonio y potasio trihidratado ó 1,50 g del reactivo hemihidratado $[\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}]$ Nro. CAS 28300-74-5) y verter en un matraz aforado de 500 mL. Agregar agua desionizada y disolver con agitador magnético. Llevar hasta aforo con agua desionizada. Almacenar en plástico oscuro y refrigerar. La solución es estable por 4 meses.
- 8.3. **Reactivo combinado de color:** pesar en un recipiente adecuado 178,75 g de agua desionizada, agregar 53,25 g de la solución de molibdato de amonio y 18 g de la solución de tartrato de antimonio y potasio. Luego añadir 5,7 g de hidróxido de sodio ($\text{NaOH}_{(s)}$ Nro. CAS 1310-73-2). Agitar y disolver (desgasear en caso de ser necesario). Preparar semanalmente.
- 8.4. Solución de reducción de ácido ascórbico: pesar en un recipiente adecuado 14 g de ácido ascórbico ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$ Nro. CAS 50-81-7) y agregar 195 g de agua desionizada. Mezclar con agitador magnético hasta disolver (desgasear si es necesario). Añadir 0,2 g de dodecil sulfato de sodio ($\text{NaC}_{12}\text{H}_{25}\text{SO}_4$ Nro. CAS 151-21-3). Mezclar con agitador magnético. La solución es estable durante 2 días.
- 8.5. Solución carrier de ácido sulfúrico: en un recipiente adecuado pesar 240,5 g de agua desionizada, agregar lentamente 17,5 g de ácido sulfúrico concentrado (H_2SO_4 Nro. CAS 7664-93-9). Enfriar la solución (desgasear si es necesario) y agregar 1,25 g de cloruro de sodio (NaCl Nro. CAS 7647-14-5). Luego añadir 0,20 g de dodecil sulfato de sodio. Invertir para mezclar.
- 8.6. **Reactivo de digestión 1:** en un recipiente adecuado agregar 223,4 g de agua desionizada y luego, lentamente,



49,0 g de ácido sulfúrico concentrado. (CUIDADO: esta solución se torna muy caliente). Desgasear si es necesario antes de utilizar. Preparar semanalmente.

- 8.7. **Reactivo de digestión 2:** en un recipiente adecuado agregar 250 g de agua desionizada y luego 6,5 g de persulfato de potasio ($K_2S_2O_8$ Nro. CAS 7727-21-1). Mezclar con agitador magnético hasta disolver. Preparar semanalmente y desgasear si es necesario antes de utilizar.
- 8.8. **Solución estándar stock de fosfato, 50 mg P/L:** usar estándar comercial de alrededor de 1000 mg/L de concentración (con valor certificado). Alternativamente disolver en agua destilada 219,5 mg de fosfato de potasio monobásico anhidro previamente secado a 105 °C (KH_2PO_4 Nro. CAS 7778-77-0) y llevar a 1000 mL en matraz aforado. Esta solución es estable por 6 meses. Otra opción es utilizar estándar comercial, de alrededor de 1000 mg P/L de concentración (con valor certificado).
- 8.9. **Solución control de fosfato, 50 mg P/L.** La misma se prepara de acuerdo a lo establecido en el Manual de Control de Calidad Analítico del laboratorio de la DINAMA.
- 8.10. **Soluciones control de digestión, 1000 mg P/L.** (Fenil fosfato $C_6H_5Na_2O_4P \cdot 2H_2O$ Nro. CAS 66778-08-3, Trimetil fosfato $C_3H_9O_4P$ Nro. CAS 512-56-1, Pirofosfato de sodio $Na_4P_2O_7 \cdot 10H_2O$ Nro. CAS 13472-36-1, Tripolifosfato de sodio $Na_5P_3O_{10}$ Nro. CAS 7758-29-4). Las mismas se preparan de acuerdo a lo establecido en el Manual de Control de Calidad Analítico del laboratorio de la DINAMA.
- 8.11. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente)

Nota 4: Salvo que se especifique, se debe emplear reactivos para análisis (PA), que son aquellos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice.

9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. Todo el material utilizado debe tener un tratamiento de lavado especial, sin detergente. Se realiza el lavado de todo el material con agua caliente, luego un enjuague con ácido clorhídrico 1:1 y finalmente tres enjuagues con agua destilada.

10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. Preparar una serie de estándares a partir de la solución 8.8, de acuerdo al siguiente cuadro:

Conc. Std. (mg PO_4 - P/L)	masa sol. estándar (g)	masa fin (g)	Conc. aprox. fin (mg PO_4 - P/L)
50	10	50	10
10	5	50	1
10	2,5	50	0,5
10	1,25	50	0,25
10	0,5	50	0,10
10	0,25	50	0,050

- 10.2. Preparar una solución control para el chequeo de la curva de calibración a partir de la solución 8.9, de acuerdo a la siguiente dilución:

Conc. Std. (mg PO_4 - P/L)	masa sol. estándar (g)	masa fin (g)	Conc. aprox. fin (mg PO_4 - P/L)
50	0,50	50	0,50

Nota 5: se asume una densidad de 1 g/mL para todas las diluciones

- 10.3. En caso de analizar únicamente aguas naturales, puede utilizarse el rango de (0,050 – 1) mg PO_4 -P/L. Para efluentes es recomendable trabajar en el rango de (0,050 – 10) mg PO_4 -P/L. En cualquiera de los dos rangos es suficiente con trabajar con 5 estándares para la construcción de la curva de calibración. Asimismo, es posible analizar tanto aguas y efluentes trabajando en un único rango entre (0,050 – 10) mg PO_4 -P/L.

- 10.4. Encender el equipo de inyección en flujo y el digestor.
- 10.5. Colocar todas las líneas de reactivos en un recipiente con agua destilada y hacer circular por todo el sistema unos minutos.
- 10.6. Colocar cada línea de reactivos en el recipiente conteniendo el reactivo correspondiente y dejar estabilizar a la temperatura de trabajo (125 °C) por unos 15 minutos. **Nunca trabajar con el digestor por encima de 70 °C sin hacer pasar líquido a través del mismo.**
- 10.7. Colocar los estándares de la curva de calibración y el control en los tubos del rack del autosampler en el orden apropiado. Se recomienda comenzar con el blanco de agua desionizada y luego del estándar de menor a mayor concentración.

11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

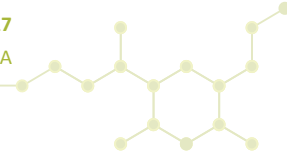
- 11.1. Colocar una porción de cada muestra a analizar en los tubos del rack del autosampler (enjuagar previamente cada tubo con la muestra a ser contenida en el mismo)
- 11.2. Las muestras de aguas naturales se analizan en forma directa (sin dilución).
- 11.3. Para efluentes cargados se aconseja realizar una dilución entre 10 y 20 veces. Realizar y registrar la masa de la muestra y la masa final de la dilución.
- 11.4. Ingresar en el programa de control del sistema (PC) la secuencia de análisis a realizar con los estándares de calibración, controles y muestras.
- 11.5. No ingresar los factores de dilución de aquellas muestras diluidas, los cálculos están considerados en la planilla de cálculo madre.
- 11.6. Iniciar la secuencia de análisis; una vez completada, el equipo finaliza automáticamente y eventualmente queda listo para otra secuencia.

12. ANÁLISIS DE DATOS

- 12.1. El programa construye automáticamente la curva de calibración Área en función de la Concentración y calcula la concentración de los controles y las muestras.
- 12.2. Verificar que la forma de los picos en el registro del programa sea la adecuada y no ha habido ninguna interferencia en la secuencia.
- 12.3. Eventualmente se pueden seleccionar los estándares que efectivamente se desea que conformen curva de calibración y recalcular las concentraciones (esto es efectuado automáticamente por el programa)
- 12.4. Generar el reporte de la secuencia en el programa e imprimirlo.
- 12.5. Ingresar los datos correspondientes en la planilla de cálculo de la técnica para verificar los resultados de exactitud, precisión y fortificaciones.
- 12.6. Se toma el mismo criterio de aceptación de la curva patrón que el utilizado en la validación del método.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

- 13.1. **Control de la exactitud:** Preparar el control de la curva de calibración de acuerdo al punto 10.2. Analizar el control de exactitud luego de la curva de calibración. Obtener el resultado del porcentaje de recuperación en la planilla de cálculo y contrastarlo con los límites de aceptación correspondientes. Si el resultado del control de la curva está fuera de control revisar el procedimiento y si corresponde repetir el análisis de todas las muestras de esa serie.
- 13.2. **Control de la exactitud continuo:** Analizar el control de exactitud (según punto 10.2) en la secuencia luego de la curva de calibración y cada 5 muestras de efluentes ó 10 muestras de aguas, y al final de toda la secuencia. Se aceptara una desviación de $\pm 10\%$ del valor real de concentración del estándar.
- 13.3. **Control de la precisión:** Realizar un duplicado cada cinco muestras de aguas y uno cada tres muestras de efluentes, o al menos uno por serie de muestras. Obtener de la planilla de cálculo el valor de rango normalizado para el duplicado. Los límites de aceptación de los duplicados deben surgir de los gráficos de control correspondientes, según la matriz analizada. En caso de no contar con los gráficos de control correspondientes, se acepta un 10 % para matrices líquidas. Si algún resultado se encuentra fuera de control, proceder de acuerdo a lo establecido por el Manual de Control de Calidad Analítico.
- 13.4. **Porcentaje de recuperación:** En un recipiente adecuado pesar 50 g de la muestra a ser analizada y fortificar con 250 μL , tomados con pipeta de (100 – 1000 μL) calibrada, de la solución control de 50 mg PO_4/L . Si los



efluentes fueron diluidos se debe fortificar la dilución y no la muestra original. Se fortifican todos los efluentes y una de cada 5 muestras de aguas. Obtener de la planilla de cálculo los porcentajes de recuperación de las muestras fortificadas y verificar que los mismos se encuentren bajo control estadístico en el gráfico de control. Si algún resultado se encuentra fuera de control, revisar el procedimiento y si corresponde repetir el análisis.

- 13.5. **Control de digestión:** Preparar rutinariamente soluciones de digestión de 1 mg P/L, mediante dilución de los controles de digestión preparados de acuerdo al Manual de Control de Calidad. Para dichos controles se aceptaran recuperaciones superiores al 90 %. Cuando el resultado no se encuentre dentro del límite establecido, revisar el procedimiento y de ser necesario repetir el análisis de todas las muestras de esa serie.
- 13.6. **Control de blancos:** Realizar una inyección de un blanco de agua desionizada después de la curva de calibración y cada cinco muestras de efluentes y/o aguas. La concentración de esta muestra blanco debe ser menor al límite de cuantificación, de forma de verificar que el equipo no arrastra contaminación. Cuando el resultado no se encuentre dentro del límite establecido, revisar el procedimiento y de ser necesario repetir el análisis de todas las muestras de esa serie.

14. BIBLIOGRAFÍA

- 14.1. LCHAT METHOD MANUAL, QuikChem® Method 10-115-01-3-A, Determination of total phosphorus by FIA colorimetry with on-line digestion. (basado en EPA-600/R-93-100, Revised March 1993, Method 365.1).
- 14.2. American Public Health Association (APHA) (2012) Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 22nd Edition APHA, AWWA, WEF, Washington, DC. MPHA, 4500-P E Ascorbic Acid Method y 4500-P I In line UV/persulfate digestion and flow injection analysis for total phosphorus pp. 4-155 a 4-157 y 4-160 a 4-162.