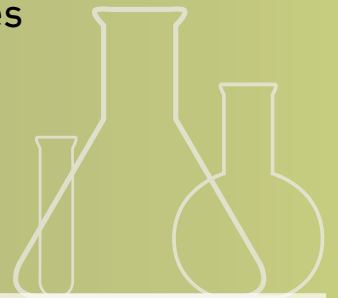


# 4080UY

Determinación de Amonio en aguas naturales (superficiales o subterráneas) y efluentes industriales líquidos



Método espectrofotométrico

---

**Elaborado** - N. Barboza

---

**Modificado** - R. Galvez

---

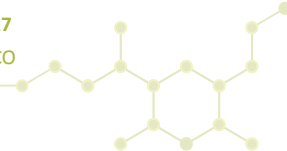
**Revisado** - S. Azambuya, Jefe Sección Físicoquímico

---

**Aprobado** - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental

---





## 1. APLICACIÓN

1.1. Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de amonio en aguas naturales (superficiales o subterráneas) y en efluentes industriales. No es aplicable a muestras salinas.

Rango de trabajo entre el límite de cuantificación y un valor máximo de 250 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> N/L (obtenido por dilución máxima validada).

El límite de detección calculado es de 0,0044 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> N/L, y el límite de cuantificación de 0,013 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> N/L. Este método es alternativo a la determinación por potenciometría.

## 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
- 2.1. Carpeta de mantenimiento y control de equipos – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.2. Ruta de análisis código (RIN 25)
- 2.3. Instructivo de uso de espectrofotómetro (INE 38)
- 2.4. Instructivo de uso de balanzas (INE 06, INE 16)

## 3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. Se considera amonio disuelto tanto al amoníaco libre (NH<sub>3</sub>(aq)) como a los iones amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) presentes en solución.
- 3.2. En aguas naturales y residuales las formas de nitrógeno de mayor interés son, en orden decreciente de estado de oxidación, nitrato, nitrito, amonio y nitrógeno orgánico. Todas estas formas son interconvertibles siendo componentes del ciclo del nitrógeno.
- 3.3. La formación de un compuesto de color azul intenso, indofenol, está dada por la reacción entre el amonio, hipoclorito y fenol en presencia de nitroprusiato de sodio como catalizador. El desarrollo de color se mide espectrofotométricamente a 640 nm.

## 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. Tener especial cuidado con la solución de fenol, ya que esta emite vapores tóxicos.

## 5. INTERFERENCIAS

- 5.1. La interferencia producida por turbidez se elimina por filtración; con filtro de acetato de celulosa y tamaño de poro 0,45 µm.
- 5.2. Se elimina la posible interferencia de iones magnesio y calcio por formación de un complejo con citrato, produciéndose la precipitación del mismo a altos valores de pH.
- 5.3. Si hay presencia de sulfuro de hidrógeno, removerlo acidificando la muestra a un pH 3 con HCl diluido, y aireando la misma hasta que el olor a sulfuro no sea detectado.
- 5.4. Las aminas volátiles dan interferencia positiva.
- 5.5. Las posibles interferencias de muestras coloreadas, que puedan absorber en la misma longitud de onda de determinación, se eliminan midiendo la absorbancia inicial, previo al desarrollo de color.

## 6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar la muestra en envases de vidrio o plástico (polietileno o equivalente); se requieren como mínimo 250 mL para la realización del análisis. Refrigerar a temperatura ≤ 6 °C (> 0 °C). Las muestras deben ser filtradas por filtro de 0,45 µm de tamaño de poro.
- 6.2. Sin preservación se recomienda el análisis dentro de las 24 h de realizado el muestreo.  
De no ser posible, ajustar a pH < 2 con ácido sulfúrico concentrado y analizar dentro de los 7 días siguientes; la muestra debe ser llevada a pH 7 previa a su análisis, con NaOH o KOH.

Para preservar la muestra por 28 días y congelar (sin acidificar) a -20 °C.

6.3. Es de destacar que la preservación acidificando no es conveniente para todo tipo de muestras.

## 7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

- 7.1. Tubos con tapa rosca de al menos 25 mL de capacidad.
- 7.2. Pipetas automáticas de volumen variable calibradas (10-100 µL; 100 a 1000 µL y 1-10mL).
- 7.3. Balanza de resolución 0,0001 g
- 7.4. Balanza de resolución 0,001 g
- 7.5. Espectrofotómetro Spectronic 20 Genesys. Se trabaja a una longitud de onda de 640 nm con una celda de camino óptico de 2,5 cm.
- 7.6. Equipo de filtración para interferencias por turbidez.

*Nota 1: Puede ser utilizado cualquier espectrofotómetro que se ajuste a los requerimientos específicos.*

## 8. REACTIVOS

- 8.1. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente).
- 8.2. Solución de fenol: mezclar 11,1 mL de fenol líquido (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>OH Nro. CAS 108-95-2 pureza mayor o igual a 89 %) con etanol (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>OH Nro. CAS 64-17-5) 95 % v/v hasta un volumen final de 100 mL. Preparar semanalmente.
- 8.3. **Nitroprusiato de sodio, 0,5 % p/v:** Disolver 0,5 g de nitroprusiato de sodio (dihidrato nitroferricianuro sódico Na<sub>2</sub>Fe(CN)<sub>5</sub>NO·2H<sub>2</sub>O Nro. CAS 13755-38-9) en 100 mL de agua desionizada. Almacenar en botella color ámbar. Preparar mensualmente.
- 8.4. **Citrato alcalino:** disolver 20 g de citrato trisódico (C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>Na<sub>3</sub>O<sub>7</sub>·2H<sub>2</sub>O Nro. CAS 6132-04-3) con 1 g de NaOH (Nro. CAS 1310-73-2) en agua desionizada. Diluir a 100 mL.
- 8.5. **Hipoclorito de sodio** (NaOCl Nro. CAS 7681-52-9): utilizar solución comercial al 5 %, tener en cuenta que esta solución se descompone lentamente, reponer cada dos meses.
- 8.6. **Solución oxidante:** Mezclar 100 mL de la solución de citrato alcalino con 25 mL de la solución de hipoclorito. Preparar diariamente.
- 8.7. **Solución stock de amonio:** Disolver 3,819 g de NH<sub>4</sub>Cl anhidro (Nro. CAS 12125-02-9, secado a 100 °C) en agua desionizada y llevar a 1000 mL (1000 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> N/L). 1 mL = 1,00 mg N = 1,22 mg NH<sub>3</sub>. Almacenar en recipiente de plástico a ≤ 6 °C (> 0°C), hasta 6 meses.
- 8.8. **Solución estándar de amonio:** Tomar 1 mL de la solución stock de amonio y llevar a un volumen final de 100 mL, 10 mg NH<sub>4</sub><sup>+</sup> N/L. 1mL = 10 µg N. Preparar diariamente. (Se puede utilizar material de referencia certificado)
- 8.9. **Solución control:** ver Manual de Control de Calidad Analítico.

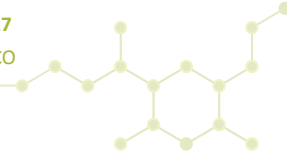
*Nota 2: Salvo que se especifique, deben emplear reactivos para análisis (PA), que son aquellos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice.*

## 9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. En caso de haber acidificado la muestra, neutralizarla con NaOH o KOH previo a la determinación del analito.

## 10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. La curva de calibración se prepara a partir de la solución estándar de amonio, tomando volúmenes variables según el rango de medida y llevar a un volumen final de 25 mL con agua 8.1. Los estándares de la curva de calibración deben cubrir el rango lineal del método (hasta 0,6 mg NH<sub>3</sub><sup>-</sup> N/L)
- 10.2. Medir la absorbancia de cada tubo a 640 nm. (Abs inicial)
- 10.3. Agregar 1 mL de la solución de fenol, 1ml de la solución de nitroprusiato de sodio y 2,5 mL de la solución oxidante, agitando después de cada agregado.
- 10.4. Tapar los tubos y dejar a temperatura ambiente (22 a 27 °C) en un lugar con luz tenue por al menos 1 hora. Tener en cuenta que el color es estable por 24 horas.



10.5. Medir la absorbancia obtenida luego del desarrollo de color a 640 nm. (Abs final)

## 11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

11.1. Realizar una toma de 25 mL de muestra o una dilución apropiada de la misma y llevar a 25 mL con agua 8.1

11.2. Continuar según los pasos 10.2, 10.3, 10.4 y 10.5.

*Nota 3: se realizan todas las tomas en peso, considerando densidad 1 mg/mL*

## 12. ANÁLISIS DE DATOS

12.1. Graficar datos de absorbancia en función de la concentración de los estándares y obtener la ecuación de la curva.

Curva de calibración lineal:  $Abs = a \times (mg \text{ NH}_4^+ \text{ N / L}) + b$

12.2. La concentración de amonio se calcula según:

$$\text{Amonio, mg N /L} = \frac{(Abs - b) \times FD1 \times FD2}{A}$$

donde:

Abs: corresponde a la absorbancia de la muestra = (Abs final- Abs inicial)

a: corresponde a pendiente de la curva obtenida con los estándares

b: corresponde a la ordenada en el origen de la curva obtenida con los estándares

FD1 = toma de muestra / volumen final; (dilución previa)

FD2 = toma de la dilución previa / volumen final en el tubo

*Nota 4: Para muestras muy concentradas puede ser necesario realizar una dilución previa (FD1), esta dilución tiene un máximo de 100 veces, este máximo fue obtenido en la validación del método.*

Para el FD2, se toman 5 mL aproximadamente en peso de la dilución previa, y se llevan a volumen final de 25 mL (en peso, asumiendo densidad 1, obteniendo de esta manera una dilución máxima de 500 veces).

12.3. El % de recuperación de la fortificación se calcula según:

$$\% \text{ Fortificación, mg N/L} = \frac{(\text{Vol final} \times \text{Conc final}) - ((\text{vol final} - \text{toma de muestra}) \times \text{Conc.mtra})}{(\text{Toma std} \times \text{Conc.std})}$$

### 13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

- 13.1. **Control de la exactitud:** analizar la solución de “Control de Amonio” (elaborada por el sector Control de Calidad) simultáneamente con las muestras, realizar una toma de la solución control de forma tal que se ajuste a la curva de calibración a elaborar y proceder según análisis de muestra (11). Se aceptará un valor de concentración que esté entre los límites establecidos en el gráfico de control de exactitud del método. Cuando el resultado no se encuentre dentro de los límites permitidos, se debe revisar el procedimiento y evaluar la repetición el análisis (según Manual de Control de Calidad Analítico).
- 13.2. **Control de la precisión:** Se realizaran por duplicado una muestra de cada cinco, y como mínimo uno por serie de muestras. Verificar que el rango normalizado de los duplicados sea menor al límite establecido en el gráfico de control de precisión.
- 13.3. **Fortificación:** Se realizaran fortificaciones (con la solución control) en todas las muestras de efluentes industriales o que se sospecha interferencia de la matriz. Verificar que el porcentaje de recuperación de la fortificación se encuentre bajo control estadístico. Si algún resultado se encuentra fuera de control revisar el procedimiento; y si corresponde repetir el análisis.
- 13.4. Si se cuenta con material de referencia certificado para esta técnica, se puede realizar la curva de calibración con dicho material.

### 14. BIBLIOGRAFÍA

- 14.1. American Public Health Association (APHA) (2012) Standard Methods for the examination of water and wastewater, 22nd edition APHA, AWWA, WEF, Washington, DC. Método 4500 NH3 F Phenate method 4-115 a 4-116.