

4081UY

Determinación de amonio mediante utilización de kits en aguas naturales y efluentes industriales

Elaborado - J. Martínez, V. Croce

Modificado - J. Martínez

Revisado - P. Simone, Jefe Depto. Análisis Físicoquímicos y Biológicos

Aprobado - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental



1. APLICACIÓN

- 1.1. Esta normativa técnica es adecuada para la determinación de amonio en aguas naturales (subterráneas y superficiales) y en efluentes industriales. En el caso de muestras de agua salobre (salinidad >0,5‰), no es posible usar el kit de bajas concentración.
- 1.2. El límite de detección es 0,015 mg N/L y el límite de cuantificación 0,044 mg N/L.
- 1.3. El rango de trabajo queda definido entre el límite de cuantificación y 8000 mg N/L (obtenido por dilución máxima validada 1/100).

2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.5. Instructivo de uso de balanzas (INE 06, INE 15, INE 16A, INE 16B, INE 94 e INE 115)
- 2.6. Instructivo de uso del equipo de destilación (INE 136)
- 2.7. Instructivo de uso de prensa para tubos de destilación (INE 137)
- 2.8. Ruta de análisis (RFQ 53 y 54)
- 2.9. Instructivos de uso de destilador y desionizador de agua (INE 82, INE 109, INE 121)
- 2.10. Instructivos de kits 1.14739 y 1.14559
- 2.11. Especificaciones mínimas de calidad para reactivos y agua utilizada en Laboratorio Ambiental de DINACEA (ES 01).

3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. El nitrógeno en forma de amonio ($\text{NH}_4\text{-N}$) se presenta en parte en forma de iones amonio y en parte en forma de amoníaco. Entre ambas formas de aparición existe un equilibrio dependiente del pH. En solución fuertemente alcalina, en la que prácticamente sólo existe amoníaco, tiene lugar con iones hipoclorito una transformación en monocloramina. Esta forma con un fenol sustituido, un derivado azul de indofenol que se determina fotométricamente. Debido a la tinción propia de color amarillo del valor en blanco de los reactivos, la solución de medición aparece en color amarillo-verde a verde.

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 en cuenta las advertencias de peligro que se encuentran en los diferentes componentes del envase!
- 4.3. Precaución: los tubos de reacción contienen fenol. Se debe mantener buena ventilación para minimizar la exposición del personal a esta sustancia.

5. INTERFERENCIAS

5.1. El proveedor del kit evaluó la influencia de sustancias extrañas. No se han controlado efectos cumulativos; sin embargo, éstos no pueden ser excluidos.

Concentraciones de sustancias extrañas en mg/l o %					
Al ³⁺	500	Mn ²⁺	5	EDTA	500
Ca ²⁺	250	Ni ²⁺	10	Aminas primarias ¹⁾	0
Cd ²⁺	100	NO ₂ ⁻	500	Aminas secundarias ²⁾	2
CN ⁻	10	PB ²⁺	500	Aminofenoles	5
Cr ³⁺	5	PO ₄ ³⁻	100	Anilina	10
CR ₂ O ₇ ²⁻	100	S ²⁻	1	Trietanolamina	500
Cu ²⁺	10	SiO ₃ ²⁻	500	Surfactantes ³⁾	500
F ⁻	500	Zn ²⁺	10	Na-acetato	5%
Fe ³⁺	10			NaCl	5%
Hg ²⁺	10			NaNO ₃	5%
Mg ²⁺	25			Na ₂ SO ₄	5%

Los agentes reductores interfieren en la determinación:

- 1) probado con metilamina.
- 2) probado con dimetilamina.
- 3) probado con tensioactivos no iónicos, catiónicos y aniónicos.

6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar al menos 250 mL de muestra en frasco de vidrio o plástico (polietileno o equivalente) y refrigerar ≤ 6 °C (> 0 °C). Las muestras de agua natural y aquellos efluentes que no requieren destilación previa a la determinación deben ser filtradas por filtro de 0,45 µm de tamaño de poro.
- 6.2. Realizar el análisis dentro de las 24 horas de realizado el muestreo.
- 6.3. De no ser posible congelar la muestra a -20 °C y analizarla antes de los 28 días.

7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

- 7.1. Balanza de resolución 0,001 g.
- 7.2. Pipetas automáticas de volumen variable de rango de (1,00 - 10,00) mL, (20 – 100) µL y (100 – 1000) µL.
- 7.3. Matraces Erlenmeyer de 150 ó 250 mL.
- 7.4. Equipo de destilación de muestras (LACHAT Micro Dist o similar)
- 7.5. Tubos de destilación.
- 7.6. Prensa para tubos de destilación.
- 7.7. Equipo de filtración compuesto por: embudo Büchner, con portafiltro de 47 mm de diámetro y frasco de succión de 250 mL o 1000 mL.
- 7.8. Bomba de vacío.
- 7.9. Filtro de membrana de 47 mm de diámetro y 0,45 µm de tamaño de poro.
- 7.10. Espectrofotómetro para realización de lecturas a 710nm.

8. REACTIVOS

- 8.1. Kit determinación de amonio Merck 1.14739 (o similar) para bajas concentraciones en el rango 0,010-2,000 mg N/L.
- 8.2. Kit determinación de amonio Merck 1.14559 (o similar) para altas concentraciones en el rango 4,0-80,0 mg N/L.
- 8.3. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente).

- 8.4. Material de referencia certificado, de concentración 1000 mg NH₄/L (776,42 mg N/L) para curva de calibración. En caso de no contar con MRC, es posible prepararla según Manual de Control de Calidad Analítico, debiendo ser independiente a la solución 8.5.
- 8.5. Solución control para chequeo de exactitud de 200mgN/L (de origen totalmente independiente del 8.4). (NH₄Cl Nro. CAS 12125-02-9) en un matraz aforado de 500 mL disolver 0,3819 g de cloruro de amonio que es previamente secado en estufa durante 2 horas a 110 °C en aproximadamente 400 mL de agua Diluir hasta el aforo el invertir para mezclar. Es posible utilizar un MRC vigente independiente al utilizado para la preparación de la curva de calibración.
- 8.6. Solución control de 1 mgN/L: preparar a partir de solución 8.5, realizando dos diluciones seriadas 1/10 y 1/20.
- 8.7. Solución control de 10 mgN/L: preparar a partir de solución 8.5, realizando una dilución de 1/20.

9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. Enjuagar el material de vidrio con agua destilada hasta ausencia de amonio.
- 9.2. Al usar por primera vez substituir la tapa roscada del frasco de reactivo NH₄-1K por el dosificador azul. Mantener verticalmente el frasco de reactivo y en cada dosificación apretar el cursor en el dosificador hasta el tope. Antes de cada dosificación poner cuidado en que el cursor esté completamente sacado.
- 9.3. Acabada la serie de mediciones, cerrar el frasco de reactivo, ya que la absorción de humedad del aire perjudica el funcionamiento del reactivo.

10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. **Curva de calibración:** Realizar una curva de calibración de por lo menos 5 diluciones del estándar para cada kit. Es posible utilizar una curva preparada con anterioridad siempre y cuando se haya definido la vigencia máxima en etapa de validación de la técnica.
- 10.2. Blancos: el blanco de reacción se realiza con agua desionizada. Se prepara uno para cada kit. Estos se utilizan para “cerar” el equipo y se trata como al resto de las muestras.

Para curva de bajas concentraciones (0,010-2,000 mg N/L)

- 10.3. Preparar una solución intermedia de 0,77642 mg N/L a partir de la solución de amonio de 776,42 mg N/L para la curva de calibración, tomando 0,1 mL del MRC y agregando agua desionizada hasta alcanzar 100 mL. Realizar tomas de 0,644 y 6,440 mL de la solución intermedia y completar con agua desionizada hasta 50 mL. Estas soluciones corresponden a 0,01 y 0,1 mg N/L respectivamente. A su vez, realizar tomas de 0,032, 0,064 y 0,129 mL de la solución de amonio de 776,42 mg N/L y completar con agua desionizada hasta 50 mL. Estas soluciones corresponden a 0,5, 1 y 2 mg N/L.
- 10.4. Pipetear 5 mL de la solución y agregarla al tubo de reacción del kit. Cerrar el tubo y mezclar. Luego, utilizando el dosificador del kit, agregar una dosis del reactivo NH₄-1K y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Dejar en reposo 15 minutos y medir absorbancia a 710 nm.

Para curva de altas concentraciones (4,0-80,0 mg N/L)

- 10.5. Realizar tomas de 0,258, 0,644, 1,288, 2,576 y 5,152 mL de la solución de amonio de 776,42 mg N/L para la curva de calibración y luego completar un volumen final de 50 mL con agua desionizada. Estas soluciones corresponden a 4, 10, 20, 40 y 80 mg N/L.
- 10.6. Pipetear 0,10 mL de la solución y agregarla al tubo de reacción del kit. Cerrar el tubo y mezclar. Luego, utilizando el dosificador del kit, agregar una dosis del reactivo NH₄-1K y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Dejar en reposo 15 minutos y medir absorbancia a 710 nm.

Para determinaciones empleando una u otra curva

- 10.7. Registrar los datos obtenidos en RFQ 53 luego de la determinación.
- 10.8. En ambos casos graficar Absorbancia en función de la concentración.
- 10.9. En caso de que la marca del kit y del espectrofotómetro utilizado coincida, normalmente este último tiene precargada la curva de calibración, para cuyo caso no es necesaria la preparación de la misma. En caso contrario, realizar curva de calibración.

11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

- 11.1. Para kit de bajas concentraciones: agitar y pipetear 5 mL de la muestra y agregarla al tubo de reacción del kit. Cerrar el tubo y mezclar. Luego, utilizando el dosificador del kit, agregar una dosis del reactivo $\text{NH}_4\text{-1K}$ y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Dejar en reposo 15 minutos y medir absorbancia a 710 nm.
- 11.2. Para kit de altas concentraciones: agitar y pipetear 0,10 mL de la muestra y agregarla al tubo de reacción del kit. Cerrar el tubo y mezclar. Luego, utilizando el dosificador del kit, agregar una dosis del reactivo $\text{NH}_4\text{-1K}$ y agitar vigorosamente hasta que el reactivo se haya disuelto completamente. Dejar en reposo 15 minutos y medir absorbancia a 710 nm.
- 11.3. Registrar los datos obtenidos en RFQ 54 luego de la determinación.

Nota 1: Para el caso de efluentes, en caso de que el resultado final de la muestra sea de $5 \text{ mg NH}_4\text{-N/L} \pm 20\%$ se debe repetir dicha muestra realizando una destilación previa como se especifica en los instructivos INE 136 e INE 137.

12. ANÁLISIS DE DATOS

- 12.1. Las curvas de calibración de ambos kits están representadas por la siguiente curva lineal:

$$Abs = a \times (mg \text{ N/L}) + b$$

donde:

a y b corresponden a la pendiente y ordenada en el origen, respectivamente

La concentración de amonio se calcula según la siguiente ecuación:

$$\text{NH}_4(\text{mg N/L}) = (Abs - b)/a \times FD$$

donde:

FD corresponde al factor de dilución de la muestra.

Los resultados se expresan en mg N/L.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

- 13.1. **Curva de calibración:** para esta técnica, la curva de calibración debe ser realizada cada 45 días, en ambos rangos, en caso de que los kits que se empleen no sean de la misma marca del espectrofotómetro que se utilice, por lo que la misma no esté precargada con anterioridad en el equipo.
- 13.2. **Control de la exactitud:** analizar la solución control simultáneamente con las muestras. Cuando se utiliza el kit de bajas, utilizar la solución control de 1mgN/L y el caso de curva de altas, la solución control de 10mgN/L. Se aceptara una recuperación entre 80-120% hasta contar con gráficos de control. En caso de no cumplimiento, consultar en el Manual de Control de Calidad Analítico.
- 13.3. **Control de la precisión:** Realizar un duplicado cada 5 muestras de aguas y uno cada 3 muestras de efluentes, o al menos uno por serie de muestras. Se aceptará hasta 10% de rango normalizado hasta no contar con el gráfico de control correspondiente.
- 13.4. **Porcentaje de recuperación:** Se realizarán fortificaciones (con la solución control) en todas las muestras de efluentes industriales y en aquellas otras muestras que se sospeche interferencia de la matriz.
Para el kit de bajas concentraciones tomar aproximadamente 30 g de muestra y fortificar con 0,10 mL de una dilución de material de referencia o de la solución preparada según el punto 8.5.
Para el kit de altas concentraciones tomar aproximadamente 20 g de muestra y fortificar con 0.1 mL de la solución preparada según el punto 8.5.
Se aceptará una recuperación entre 80-120% del fortificado hasta no contar con gráficos de recuperación de la fortificación. En el caso de efluentes, cuando el porcentaje de recuperación de la adición, no se encuentre dentro de los límites de control y/o el valor a reportar este en el entorno de $5\text{mgN/L} \pm 20\%$, se deberá repetir el análisis con destilación previa.

14. BIBLIOGRAFÍA

- 14.1. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. In: Lipps WC, Braun-Howland EB, Baxter TE, eds. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24th ed. Washington DC: APHA Press; 2023. Nitrogen (Ammonia) 4500-NH3 A Introduction, F Phenate Method. pp. 424 a 433.
- 14.2. ISO 23695 Determination of ammonium nitrogen in water — Small-scale sealed tube method (Análogo a EPA 350.1, APHA 4500-NH3 F, ISO 7150-1 y DIN 38406-5.)
- 14.3. U.S. Environmental Protection Agency. In: Ohrel RL, Register KM, eds. Volunteer Estuary Monitoring Manual: A Methods Manual, 2nd ed. Washington DC: U.S. Environmental Protection Agency, Office of Water; 2006. Chapter 14: Salinity. EPA-842-B-06-003. pp. 14-1 a 14-8.

