



TÍTULO: NITROGENO TOTAL EN AGUA POR EL METODO SEMI-MICRO
KJELDAHL - ELECTRODO DE AMONIACO.

CÓDIGO: TP0432

VERSIÓN: 02

FECHA ÚLTIMA REVISIÓN:

COPIA N°: _____

ELABORADO POR:

CARLOS HERNÁN RODRÍGUEZ M.
TECNICO QUÍMICO

REVISADO POR:

ROCIO DEL PILAR BOJACÁ B.
QUÍMICA U.N.

APROBADO POR:

MARTA ELENA DUQUE S.
Coordinadora GLCA

* Este documento debe ser revisado por lo menos cada dos años.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0432	Fecha de elaboración: 16/04/2007	Versión: 02
NITROGENO TOTAL EN AGUA POR EL METODO SEMI-MICRO KJELDHL – ELECTRODO DE AMONIACO			

1. INTRODUCCIÓN:

De acuerdo con el ciclo del Nitrógeno, una concentración alta de Nitrógeno orgánico es característica de una contaminación fresca o reciente, y por consiguiente de gran peligro potencial. Todo el Nitrógeno presente en compuestos orgánicos puede considerarse Nitrógeno orgánico. El contenido de Nitrógeno orgánico en un agua incluye el Nitrógeno de aminoácidos, aminas, polipéptidos, proteínas y otros compuestos orgánicos del Nitrógeno. El Nitrógeno amino de la mayoría de materiales orgánicos y el amoníaco libre son convertidos a amonio en presencia de H_2SO_4 , sulfato de potasio (K_2SO_4), y sulfato de Cobre II ($CuSO_4$) como catalizador.

Durante la digestión, el carbono y el hidrógeno son oxidados a dióxido de carbono y agua, mientras el sulfato es reducido a dióxido de azufre y el grupo amino es liberado como amoníaco, el cual no puede escapar del medio ácido y permanece como una sal de amonio. Después de la adición de Hidróxido, el amoníaco es destilado desde el medio alcalino y absorbido en ácido sulfúrico 0.02M, de la solución ácida el amoníaco es liberado por adición de NaOH a pH 11 y es leído con un electrodo selectivo de amoníaco.

El método se aplica en este laboratorio para la matriz aguas residuales industriales y superficiales. Se emplea para el intervalo de 0,50 a 1.000 mg de N/L. Es un método electrométrico, en el que se determina el amoníaco y se expresa como Nitrógeno (N).

El método Kjeldahl determina el Nitrógeno en estado tri negativo; el “Nitrógeno Kjeldahl” es la suma del Nitrógeno Orgánico y el Nitrógeno Amoniacal.

2. DEFINICIONES:

EIS = Electrodo de ión selectivo
 LDM = Límite de detección del método

3. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Utilice los implementos de seguridad como son: Blusa de laboratorio, pantalón, zapatos antideslizantes, gafas de seguridad, respirador, guantes de caucho.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0432	Fecha de elaboración: 16/04/2007	Versión: 02
NITROGENO TOTAL EN AGUA POR EL METODO SEMI-MICRO KJELDHL – ELECTRODO DE AMONIACO			

El ácido Sulfúrico y el hidróxido de Sodio son compuestos con los que debe trabajarse con extremo cuidado por su alta corrosividad, por lo tanto es necesario emplear los implementos mencionados anteriormente. (ver hojas de seguridad No. 44 y 163 respectivamente)

4. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Nitrato: Durante la digestión Kjeldahl, un exceso de nitrato superior a 10 mg/L puede oxidar una porción del amoníaco liberado a partir del Nitrógeno orgánico digerido, para producir N_2O y causar una interferencia negativa. Cuando está presente suficiente materia orgánica en un bajo estado de oxidación, el nitrato puede ser reducido a amoníaco, resultando en una interferencia positiva. Las condiciones bajo las cuales ocurren interferencias significantes no están bien definidas y no hay una vía probada para eliminar la interferencia en conjunción con los métodos Kjeldahl.

Sales y sólidos inorgánicos: El contenido de ácido y sal del reactivo de digestión Kjeldahl tiene la intención de producir una temperatura de digestión cercana a 380°C. Si la muestra contiene una cantidad muy grande de sales o sólidos inorgánicos que se disuelvan durante la digestión, la temperatura puede elevarse sobre 400°C, punto en el cual empieza a ocurrir una pérdida pirolítica de Nitrógeno. Para prevenir una temperatura de digestión excesiva, agregar más H_2SO_4 para mantener el balance ácido-sal. No todas las sales causan precisamente la misma elevación de temperatura, pero la adición de 1 mL H_2SO_4/g de sal en la muestra da resultados razonables. Demasiado ácido puede disminuir la temperatura de digestión por debajo de 380°C y resultar en una digestión y recuperación incompleta.

Grandes cantidades de sales o sólidos también pueden causar sacudidas durante la destilación. Si esto ocurre, agregar más agua de dilución después de la digestión.

Materia orgánica: Durante la digestión Kjeldahl, el H_2SO_4 oxida la materia orgánica a CO_2 y H_2O . Si está presente una gran cantidad de materia orgánica, se consumirá una gran cantidad de ácido, se incrementará la relación de sal a ácido, y se incrementará la temperatura de digestión. Si está presente suficiente materia orgánica, la temperatura puede ascender sobre 400°C, resultando en una pérdida pirolítica de Nitrógeno. Para prevenir esto, diluir la muestra de manera que sea suficiente el reactivo de digestión adicionado.



5. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO

NITROGENO TOTAL EN AGUA POR EL METODO SEMI-MICRO KJELDAHL - ELECTRODO DE AMONIACO.			
NOMBRE DEL METODO:		ELECTRODO DE AMONIACO.	
CÓDIGO DEL PSO:		TP0432	
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:		06/10/06	
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACION
LIMITE DE DETECCION	0.5	mg/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISION EN TÉRMINOS DE %CV	2.9	mg/L	Nivel de Concentración 0.5 mg/L
	1.1	mg/L	Nivel de Concentración 100 mg/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	-0.5	mg/L	Nivel de Concentración 0.5 mg/L
	-1.7	mg/L	Nivel de Concentración 100 mg/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0.5 - 100	mg/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL METODO	0.5 - 1000	mg/L	Con una dilución de 10 veces
RECUPERACION EXPRESADO COMO %	91.6	mg/L	Nivel de Concentración 5.0 mg/L
	95.1	mg/L	Nivel de Concentración 25 mg/L

6. TOMA Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

Tome la muestra de tal manera que sea representativa del punto de muestreo en estudio. Utilice frascos plásticos de polipropileno de 500 o 1000 mL de capacidad.

Los resultados más significativos se obtienen en muestras frescas. Si no es posible un análisis inmediato, preservar las muestras para digestión Kjeldahl acidificando a pH < 2,0 con H₂SO₄ concentrado y almacenándolas a 4°C.

Efectúe el análisis dentro de los 28 días siguientes a la toma de la muestra, cuando ésta ha sido preservada.

7. APARATOS, REACTIVOS Y MATERIALES

7.1. Aparatos

- Balanza analítica de cuatro cifras decimales (Mettler Toledo AG 204)
- Aparato de digestión: Unidad de digestión BÜCHI 435 Usar tubos de digestión con una capacidad de 200 mL en un bloque de digestión con elementos de calentamiento para acomodar los tubos y una salida de



succión para el escape de los gases. Los elementos de calentamiento deben proveer un rango de temperatura de 375 a 385°C para una digestión efectiva.

- Aparato de destilación: Unidad de destilación BÜCHI 323
- Scrubber BÜCHI 412
- Potenciómetro (Orion 920A).
- Electrodo selectivo a amoniaco (Orion)
- Agitador magnético, con barra recubierta de TFE.

7.2. Reactivos

- Agua ultra pura. Usar agua ultra pura para preparar todos los reactivos, las diluciones de muestra y enjuagues.
- Ácido Sulfúrico concentrado. H_2SO_4 Reactivo Analítico (aprox 98 %)
- Hidróxido de Sodio. NaOH. Reactivo Analítico (En lentejas)
- Hidróxido de Sodio. NaOH. Reactivo técnico o industrial (En laminas)
- Sulfato de Potasio K_2SO_4 . Reactivo Analítico.
- Sulfato de Cobre $CuSO_4$. Reactivo Analítico.
- Sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético dihidrato ($Na_4EDTA.2H_2O$) (Titriplex III) EDTA
- Cloruro de Amonio NH_4Cl . Reactivo Analítico.
- Reactivo de digestión: Disolver 134 g de K_2SO_4 y 7,3 g de $CuSO_4$ en cerca de 800 mL de agua. Cuidadosamente agregar 134 mL de H_2SO_4 conc. Cuando se haya enfriado hasta temperatura ambiente, diluir la solución a 1 L con agua. Mezclar bien. Mantener a una temperatura cercana a 20°C para prevenir la cristalización.
- Hidróxido de sodio, NaOH, 32%. Disuelva 320 g de NaOH Reactivo técnico en aproximadamente 800 mL de agua, luego complete a 1L.
- Solución absorbente, ácido Sulfúrico 0,02 M. Disuelva 1.1 mL de H_2SO_4 concentrado en aproximadamente 800 mL de agua y complete 1L
- Solución patrón de EDTA 1000 mg N/L. Disuelva 13,4286 g de sal tetrasódica del ácido etilendiaminotetraacético en aproximadamente 800 mL de agua y complete a 1L en un balón aforado.
- Solución de NaOH/EDTA, 10 N. Disolver 400 g de NaOH Reactivo analítico, en 800 mL de agua; agregar 45,2 g de sal tetrasódica de ácido etilendiaminotetraacético dihidrato ($Na_4EDTA.2H_2O$) y agitar para disolver. Enfriar y diluir a 1000 mL con agua.



- Solución estándar de amonio. Disolver en agua 3,819 g de NH_4Cl anhidro, secado a 100°C , a peso constante y diluir a 1000 mL; 1,00 mL = 1,00 mg N = 1,22 mg NH_3 .
- Soluciones patrón de amonio. A partir de la solución estándar de NH_4Cl prepare los estándares de 100, 10.0 y 1.0 mg/L .

7.3. Materiales

- Botellas de Polipropileno de 500 mL o 1 L.
- Tubos para la digestión BÜCHI
- Microespátula metálica.
- Balón aforado de 1L Clase A.
- Balones aforados de 100 mL Clase A y Clase B.
- Erlenmeyer de 125 mL.
- Pipetas graduadas de 1, 10, 25 mL. Clase B
- Pipetas aforadas de 5, 10, 20, 50 mL Clase A
- Probetas de 25 y 50 mL
- Frasco lavador

8. PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA DE VIDRIERÍA:

Lave toda la vidriería con jabón alcalino, enjuague con agua de la llave, posteriormente déjelo en H_2SO_4 diluido al 5% y enjuague muy bien con agua destilada. Remítase al Procedimiento TP0125 (Lavado de material)

Utilice la vidriería a la que se le haya efectuado control de calidad .

9. PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES

En un pesa - sustancias coloque 13,4286 gramos de EDTA. Transfíralos de forma cuantitativa a un balón aforado de 1 litro, utilice agua ultrapura para esta operación. La solución así obtenida tiene una concentración de 1000 mg N/L.

Para las diluciones posteriores es conveniente preparar una solución de 100 mg/L, a partir de la solución de 1000 mg/L.

9.1 Estándares de calibración y control:



Estándar de 1,0 mg N/L . Tome 10 mL del patrón de 10 mg/L y adicione 40 mL de agua ultrapura en el tubo de digestión. La concentración reportada se encuentra en el destilado.

Estándar de Control de 5,0 mg N/L . Tome 5 mL del patrón de 100 mg/L y adicione 45 mL de agua ultrapura en el tubo de digestión. La concentración reportada se encuentra en el destilado, este es el estándar de control de bajo.

Estándar de 10,0 mg N/L . Tome 10 mL del patrón de 100 mg/L y adicione 40 mL de agua ultrapura en el tubo de digestión. La concentración reportada se encuentra en el destilado.

Estándar de Control de 50 mg N/L . Tome 5 mL del patrón de 1000 mg/L y adicione 45 mL de agua ultrapura en el tubo de digestión. La concentración reportada se encuentra en el destilado, este es el estándar de control alto.

Estándar de 100 mg N/L . Tome 10 mL del patrón de 1000 mg/L y adicione 40 mL de agua ultrapura en el tubo de digestión. La concentración reportada se encuentra en el destilado.

10. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

- *Verificación del Medidor de Iones y del Electrodo:* Es recomendable que el analista verifique que el sistema de medición este funcionando adecuadamente. Utilice estándares no digeridos de NH_4Cl , para hacer una precalibración y lea a manera de prueba uno o dos estándares como muestras. Evalúe los resultados para continuar con el procedimiento de análisis.
- *Digestión:* agregue cuidadosamente 10 mL de reactivo de digestión al tubo que contiene 50 mL de la muestra o alícuota conveniente, completada a 50 con agua ultrapura. Ajuste cada unidad de calentamiento en el aparato de digestión hasta el punto 3 y coloque los tubos accionando el equipo de evacuación disponible para remover los vapores ácidos. Aumente el calentamiento gradualmente hasta la posición 5 pero evitando que la ebullición sea muy fuerte y produzca salpicadura. Continuar la ebullición hasta que la solución se haga transparente y verde esmeralda y se observen copiosos vapores en todos los tubos, entonces gire el control de cada unidad de calentamiento al punto 6 y permita que haya digestión entre 10 y 15 min. adicionales. La digestión se ha completado en el punto en el cual, se observa el ácido sulfúrico en reflujo en la parte mas alta del tubo (aproximadamente 5 cm por debajo de la boca del tubo). Apague la unidad y saque el montaje colóquelo en el soporte para este fin, deje enfriar y apague la unidad de extracción.



- **Destilación:** Prepare el numero de balones conveniente de 100 mL con 30 mL de H₂SO₄ 0.02 M, coloque el balón en el soporte e introduzca el tubo se salida del destilador cuidando que quede sumergido en la solución absorbente. Realice un enjuague a las paredes del tubo con una pequeña porción de agua, coloque el tubo de digestión en el soporte del equipo y siga el procedimiento descrito en el manual del destilador BÜCHI 323. Verifique en la programación del equipo las siguientes condiciones: 10 mL de agua, 15 mL de hidróxido de sodio al 32% y un tiempo de destilación de tres minutos.
- **Medición final de amonio:** transfiera la muestra destilada a un erlenmeyer de 125 mL, añadir suficiente solución de NaOH 10 N (1 mL suele ser suficiente) para aumentar el pH por encima de 11, agite de manera constante e introduzca el electrodo selectivo de amoniaco. Permita que haya estabilidad en la lectura y registre el resultado en el formato TF0021 Captura de datos – Electrometría.

Calibración del Medidor de Iones: Comprobar el funcionamiento del elemento sensor del electrodo según las instrucciones del fabricante para asegurar que es correcto. Ver instructivo No. TI0364.

Curva de Calibración:

Realizar la calibración del equipo siguiendo el procedimiento TP 0134 de determinación de amonio, trabajando sobre los patrones digeridos y destilados.

NOTA: Si la concentración de la muestra es superior a 100 mg N/L, tome una alícuota menor e inicie la digestión.

11. PROCESAMIENTO DE DATOS Y CÁLCULO DE RESULTADOS:

La concentración de Nitrógeno Total es determinada directamente por el instrumento de medida, pero, es importante tener en cuenta el factor de dilución para realizar el cálculo respectivo. Debido al proceso de digestión sobre 50 mL de muestra y destilación a 100 mL, esta se encuentra afectada por un factor de dilución de dos. Si se realiza dilución adicional multiplicar los factores de dilución.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0432	Fecha de elaboración: 16/04/2007	Versión: 02
NITROGENO TOTAL EN AGUA POR EL METODO SEMI-MICRO KJELDHL – ELECTRODO DE AMONIACO			

12. SECCIÓN DE CONTROL DE CALIDAD (CC) Y ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Los resultados son diligenciados en el formato FT0021 correspondiente a captura de datos electrométricos, y debe ser entregado al líder del grupo de análisis fisicoquímicos. Cuando realice la curva de calibración acéptela si cumple con las especificaciones dadas en el instructivo TI0364 (Pendiente entre -54 mV y -60 mV)

En forma paralela, con cada grupo o lote de muestras, es necesario procesar en un mismo día, un blanco, un duplicado de muestra, un estándar de control (Cuando se procesen muestras de agua residual procese un estándar de control de 50 mg de N/L y cuando se trate de muestras de agua superficial procese un estándar de control de 5,0 mg de N/L). Registre los resultados en la CARTA DE CONTROL del método. Si estos resultados están por fuera de los límites de control consulte con el líder de Análisis.

La diferencia entre los duplicados no debe ser mayor al 10%, si la variación excede este límite, debe repetirse el análisis.

13. REFERENCIAS:

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 19ed., New York, 1995. Pp 5-36 – 5- 39.

ROMERO ROJAS J A. (2002). Calidad del Agua. 1ª. Edición, Escuela de Ingeniería 2002

IDEAM, Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental. Nitrógeno Amoniacal Electrométrico Amoniacal TP0134. Bogotá, 2005.

IDEAM, Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental. Instructivo del electrodo de amoniaco Orion 95 – 12, TI0398. Bogotá, 2005.