

# Precisión y exactitud de las determinaciones de nitrógeno total Kjeldhal en aguas

Precision and accuracy of determinations of total Kjeldahl nitrogen in water

COLCIENCIAS TIPO 5. REPORTE DE CASO

RECIBIDO: NOVIEMBRE 21, 2012; ACEPTADO: DICIEMBRE 19, 2013

Carlos Alberto Severiche Sierra, M.Sc  
cseveriches@gmail.com

Judith Yaneth Luna Jara  
judylunajara@hotmail.com

Humberto Gonzalez García, Ph.D  
hgonzalez1953@hotmail.com

Laboratorio de Calidad de Aguas, Aguas de Cartagena S.A. E.S.P. Cartagena-Colombia

## Resumen

Se halló la precisión y exactitud para las determinaciones de nitrógeno total Kjeldhal en aguas. El objetivo fue confirmar la aplicación correcta del método para el análisis de aguas. Se trabajaron muestras de agua superficial, residual y marinas, siguiéndose estrictamente los protocolos de verificación. Se encontraron resultados satisfactorios en precisión y exactitud.

## Palabras Clave

Agua; exactitud; Kjeldhal; nitrógeno; precisión.

## Abstract

It was found precision and accuracy for Total Nitrogen Kjeldhal determinations in water. The aim was to confirm the correct application of the method for water analysis. It worked surface water samples, residual and marine being followed strict protocols verification. Results were found satisfactory precision and accuracy.

## Keywords

Water; accuracy; Kjeldhal; nitrogen; precision.

## I. INTRODUCCIÓN

La calidad del agua se afecta por diversos factores como los usos del suelo, la producción industrial y agrícola, los aumentos de población; sus impactos relacionados, continúan ejerciendo una gran presión sobre los recursos de agua alrededor del mundo (Álvarez, Panta, Ayala, & Acosta, 2008). Al mismo tiempo, el aumento de residuos municipales y vertimientos, aguas de desagüe y productos derivados de la industria, además de los efectos climáticos globales y desequilibrios ecológicos comprometen aún más la calidad del agua (Álvarez et al., 2008; Romero, 2002).

La presencia de nutrientes en aguas residuales domésticas puede constituir un problema, no siempre de fácil solución. En términos generales la mayor parte de los componentes presentes son materia orgánica e inorgánica, nutrientes y microorganismos; con relación a los nutrientes nitrógeno y fósforo, se destaca el problema de la eutrofización, el cual puede causar daños al cuerpo receptor, entre los que se pueden enumerar: problemas estéticos y recreacionales, condiciones anaeróbicas en el fondo, eventual mortalidad de peces, mayor dificultad y elevación de los costos de tratamiento de aguas de consumo y problemas con el abastecimiento de aguas industriales (Cárdenas et al., 2012).

Las formas inorgánicas del nitrógeno incluyen nitratos ( $\text{NO}_3^-$ ) y nitritos ( $\text{NO}_2^-$ ), amoníaco ( $\text{NH}_3$ ) y nitrógeno molecular ( $\text{N}_2$ ). De forma natural, en el medio acuático, también se producen compuestos orgánicos nitrogenados que contienen nitrógeno amínico o amídico, constituyendo compuestos heterocíclicos, tales como purinas y piridinas (Caldera, Gutiérrez, Luengo, Chávez, & Ruesga, 2010; Méndez, San-Pedro, Castillo, & Vázquez, 2010).

El amoníaco es un gas incoloro a presión y temperatura ambiente; cuando se disuelve en agua se forman iones amonio ( $\text{NH}_4^+$ ), estableciéndose un equilibrio químico entre ambas formas, la no ionizada (amoníaco) y la ionizada (amonio), en nuestro caso se busca la cuantificación del Nitrógeno *Kjeldahl* [NKT] que es la suma del nitrógeno orgánico y el nitrógeno amoniacal (Marín, 2003; Tchobanoglous, 2000).

En el método *Kjeldahl* los compuestos nitrogenados de la muestra se descomponen con ácido sulfúrico concentrado en caliente, transformándose el nitrógeno de la mayoría de los grupos funcionales orgánicos en amonio. Cuando la descomposición se ha completado, la disolución

se enfría, se diluye y se alcaliniza. El amoníaco liberado se destila y se recoge en una disolución de concentración conocida de ácido bórico que se valora con ácido sulfúrico. Los grupos amino y amido se convierten cuantitativamente a ión amonio. Sin embargo, los grupos nitro, azo o azoxi generan en las mismas condiciones, en otros productos nitrogenados  $-\text{N}_2$  u óxidos de nitrógeno- (Rice, Baird, Eaton & Clesceri, 2012).

En el presente trabajo se llevó a cabo el cálculo de precisión y exactitud de las determinaciones de nitrógeno total *Kjeldahl* en aguas por digestión y volumetría.

## II. MATERIALES Y MÉTODOS

El Método de referencia aplicado es el descrito en la edición 22 de los Métodos Normalizados para el Análisis de Aguas Potables y Residuales, método 4500 Norg y 4500  $\text{NH}_3\text{C}$  (Rice et al., 2012); este es apropiado para aguas superficiales, aguas residuales domésticas e industriales y efluentes tratados; la mayoría de las interferencias pueden producirse porque, durante la digestión, el nitrato a concentraciones superiores a 10 mg/L puede oxidar parte del amoníaco liberado produciendo  $\text{N}_2\text{O}$  y dando lugar a una interferencia negativa. Cuando se encuentra presente materia orgánica reductora, el nitrato se puede reducir a amoníaco, resultando en una interferencia positiva; además, durante la digestión puede haber pérdidas de nitrógeno por pirolisis; por último, la materia orgánica, durante la digestión,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  oxida la materia orgánica a  $\text{CO}_2$  y  $\text{H}_2\text{O}$ . Si hubiera presente una cantidad de materia orgánica apreciable, se consumirá mucho ácido, aumentará la proporción de sal a ácido y aumentará la temperatura necesaria para la digestión.

Se muestra a continuación en detalle la ruta desarrollada:

### 1) Colección, preservación y almacenaje de muestras

Utilizando un envase de plástico se debe coleccionar como mínimo 100 mL de muestra, simple o compuesta. La muestra debe preservarse con ácido sulfúrico concentrado hasta  $\text{pH} < 2$ . Posteriormente se refrigera a  $6^\circ\text{C}$  hasta su análisis, por un tiempo máximo de 28 días.

### 2) Equipos y materiales

Bureta; equipos Buchi (digestor, scrubber y destilador); vidriería (erlenmeyers graduados boca ancha de 250 mL, tubos de digestión, ebulliciones –que deben ser exclusivos

para este procedimiento—. Para su lavado, se remojan durante una hora en ácido sulfúrico al 10% y se enjuagan con agua destilada).

### 3) Reactivos

Todos los reactivos son de grado analítico, excepto que se indique alguna especificación:

- solución patrón de amonio (pesar 0.3819 g de  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , disolver y aforar a 1L con agua desionizada. Guardar en frasco ámbar por seis meses. 1 mL = 100 g N = 122 g  $\text{NH}_3$ ).
- ácido bórico al 2% (disolver 20 g de  $\text{H}_3\text{BO}_3$  a 1 L con agua destilada);
- hidróxido de sodio al 30% (disolver 300 g de  $\text{NaOH}$  a 1 L con agua destilada);
- solución de indicador mixto para valoraciones de amoníaco;
- ácido sulfúrico 0.1N (adquirirla comercialmente o prepararla a partir de una solución concentrada);
- ácido sulfúrico 0.02 N (adquirirla comercialmente o prepararla a partir de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  0.1 N (pipetear 100 mL de él y completar con agua desionizada en balón aforado de 500 mL);
- solución de carbonato de sodio anhidro al 20% (disolver 200 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  con agua destilada por litro a preparar, adicionar indicador azul de bromotimol hasta que adquiera color azul intenso);
- tabletas Kjeldahl exentas de selenio y mercurio;
- ácido sulfúrico concentrado; y
- ácido sulfúrico al 10% (para lavado de vidriería).

### 4) Procedimiento

Las condiciones ambientales no son críticas para la realización de este ensayo. El análisis comprende tres etapas: digestión, destilación y titulación. Por cada lote de muestras se debe realizar un ensayo en blanco por duplicado reemplazando la muestra por agua desionizada. Coloque los blancos en los puestos delanteros del digestor. Para los patrones se debe garantizar que el volumen añadido es también de 25 mL. A continuación se explican las tres partes principales y primordiales de la metodología, en su orden:

#### a) Digestión

Añádanse con cuidado 10 mL de reactivo de digestión a un matraz Kjeldahl contenido la muestra. Agregar 5 o 6

cuentas de vidrio para evitar los saltos en la digestión. Ajustese cada unidad calefactora de aparato de digestión micro-Kjeldahl a su posición media y caliéntense los matraces bajo vitrina o con un equipo de eyección adecuado para eliminar los humos de  $\text{SO}_3$ . Continúese hirviendo vivamente hasta que la solución se aclare y se observen vapores abundantes. Ajustese entonces cada unidad calefactora al máximo y digiérase durante otros 30 minutos. Enfríese y transfírase cuantitativamente la muestra digerida por dilución y lavado varias veces a un aparato de destilación micro-Kjeldahl, de modo que el volumen total en aparato de destilación no supere mL. Añádanse 10 mL de reactivo hidróxido-tiosulfato y conéctese el vapor.

#### b) Destilación

Contrólese la tasa de producción de vapor al contenido de ebullición en la unidad destiladora, de forma que no se produzcan escapes de vapor desde el extremo del condensador ni burbujeo del contenido del matraz receptor. Destílese y recójase de 30 a 40 mL de destilado por debajo de los 10 mL de solución de ácido bórico contenidos en un erlenmeyer de 125 mL.

#### c) Valoración

El blanco es cero cuando el destilado es de color lila; Si el blanco no tiene coloración lila, valórela con ácido sulfúrico 0.02 N hasta que la coloración torne a color lila. Anote el volumen gastado. Para las muestras, valore con ácido sulfúrico 0.02 N hasta que la coloración verde de la muestra se torne de color lila. Anote el volumen gastado.

### 5) Cálculos y presentación de resultados

Los resultados finales entre 1-10 mg/L, se informarán con una cifra decimal; lo valores superiores a 10 mg/L, se redondearán a la unidad. La Ecuación 1 se utiliza para el cálculo y la obtención de resultados.

$$\text{mg-NKT/L} = \{[(A-B) * (N) * (14) * (1000)] / (V)\} \quad (1)$$

Donde:

**A** = mL de ácido sulfúrico gastados en la valoración de la muestra

**B** = mL de ácido sulfúrico gastados en la valoración del blanco

**N** = Normalidad del ácido sulfúrico

**V** = volumen de muestra en mL

**14** = peso equivalente del nitrógeno

Por cada lote de muestras se deben analizar blancos por duplicado; se deben evaluar la exactitud y/o la precisión, mediante un patrón de concentración conocida o recobrado y duplicado de alguno de estos u otra muestra, respectivamente.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De acuerdo con los protocolos de verificación se evaluaron los siguientes parámetros: precisión y exactitud (Cortés, 1999, 2009, 2010; Coy, 1999; Blanch, 1997).

A continuación se exponen e interpretan los resultados obtenidos en los ensayos de verificación del método, que se realizaron siguiendo el procedimiento de análisis referenciado; los datos descritos se obtuvieron con muestras de agua superficial, residual o marina así como con muestras certificadas, internas de control rutinario y las empleadas en las pruebas de desempeño del Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales [IDEAM] y Mollabs.

#### A. Precisión

Para el hallazgo de este parámetro estadístico de calidad analítica, se utilizaron la repetibilidad y la reproducibilidad interna, los datos de repetibilidad se muestran en la Tabla 1. Con base en los contenidos y la tabla de Horwitz, puede considerarse satisfactoria, excepto para las muestras de bajo contenido ( $< 2$  mg/L) (Cortés, 1999; Coy, 1999; Chamorro, Rodríguez, Enríquez, & Rosero, 2010).

**Tabla 1. Repetibilidad con muestras de diferente procedencia**

Tipo de muestra (mg/L)	n	CV % promedio (intervalo)
residual (20-23)	2	3.2 (1.4-3.9)
residual o mar adicionada (2.5-70)	5	4.0 (1.6-7.9)
residual o mar ( $< 2$ )	4	22.1 (11.8-39.3)
estándar (10)	8	4.1 (1.5-8.9)
estándar (100)	5	2.0 (0.4-3.5)
muestra certificada (20)	5	4.2 (2.0-5.5)

La Tabla 2 detalla la reproducibilidad interna; se consideraron patrones internos y muestras certificadas que se analizaron en más de un día diferente y se consideraron los valores promedios y se considera también satisfactoria, excepto para las muestras de bajos contenidos (Gómez, Martínez, & Martínez, 2010; Velázquez, Pimentel, & Ortega, 2011).

**Tabla 2. Datos de reproducibilidad interna**

Tipo de muestra (mg/L)	CV%	N
estándar (100)	5.1	12
estándar (10)	7.3	6
IDEAM baja 2011 (4.6)	10.6	4
IDEAM baja 2012 (2.3)	32.2	2
IDEAM baja 2013 (12)	1.9	2
IDEAM alta 2011 (21)	5.1	6
IDEAM alta 2012 (16)	8.9	2
IDEAM alta 2013 (22)	4.0	2
certificada 2011 (2.4)	35.0	5

#### B. Exactitud

Las pruebas de desempeño del IDEAM, las muestras certificadas, las pruebas inter-laboratorio Mollabs, el añadido-recobrado y los patrones internos constituyen el derrotero para la consecución de este parámetro de calidad analítica. En la Tabla 3, se evidencian los resultados de estándares analizados rutinariamente.

**Tabla 3. Estándares en mg/L analizados rutinariamente**

Estándar	Error %		N
	promedio	intervalo	
1.3 mg/L	-74.2	-228.2/4.5	12
5 mg/L	-6.8	-16.0/0.8	3
10 mg/L	-1.6	-30.3/16.6	56
100 mg/L	-3.9	-13.6/5.9	12

Se demuestra que a bajas concentraciones, la exactitud no es satisfactoria, al igual que ha ocurrido con las pruebas de desempeño, un detalle a tener en cuenta a este rango de concentraciones y muestras que presenten esta característica; en compendio, las pruebas de evaluación de desempeño del IDEAM muestran resultados satisfactorios en 2010 (90 puntos) pero insatisfactorios en 2009 (40 puntos) y 2011 (50 puntos), motivados por la baja concentración. Para la prueba de Mollabs, se presenta desempeño satisfactorio en dos ejercicios de agua residual –2009 y 2010– (Zscore -0.71 y 0.0, respectivamente); por último, las pruebas de añadido-recobrado se presentan para el agua residual, la superficial, la marina y las muestras certificadas (n=8) para concentraciones teóricas entre 2.3 y 38 mg/L; recobrados entre 86-136% con promedio de 107%, lo cual trae como consecuencia que el método estandarizado presenta adecuadas características de desempeño, al ser preciso y veraz.

Con respecto a las concentraciones bajas y para el establecimiento de la concentración mínima a reportar, dado que el NKT es un parámetro que presenta valores

bajos en aguas potables, pero no está regulado por la legislación sobre su calidad y su utilidad fundamental, es la caracterización de aguas residuales. Se considera como concentración (mínima) a reportar la de 5 mg/L para aquellas muestras cuyo resultado analítico sea inferior.

#### IV. CONCLUSIONES

El método estandarizado presenta adecuadas características de desempeño, al ser preciso (coeficientes de variación <10%), veraz (no presenta sesgo significativo), con un adecuado intervalo de concentración y una concentración mínima a reportar se estima en 5 mg/L. Se recomienda, para concentraciones debajo de la concentración mínima, utilizar otros métodos para la cuantificación de nitrógeno orgánico; no obstante, el método estudiado es una excelente técnica para muestras con concentraciones superiores a 5 mg/L, ya que de aquí en adelante posee características que permiten que el mismo se ajuste al propósito para el cual fue diseñado, que consiste en la determinación de Nitrógeno Total Kjeldhal en muestras de aguas, especialmente residuales industriales y domésticas.

Se vuelve entonces un método de referencia para otros laboratorios que deseen aplicarlo en Colombia, al estar este parámetro acreditado ante el IDEAM, ya que pueden reportar resultados correctos y confiables, además de ser una guía a nivel internacional.

#### V. REFERENCIAS

- Álvarez, J., Panta, J., Ayala, C., & Acosta, E. (2008). Calidad Integral del Agua Superficial en la Cuenca Hidrológica del Río Amajac. *Revista Información Tecnológica*, 19(6), 21-32
- Blanch, N. (1997). *Estadística aplicada a la investigación* [6a ed.]. Córdoba, Argentina: Universidad Nacional de Córdoba
- Caldera, Y., Gutiérrez, E., Luengo, M., Chávez, J., & Ruesga, L. (2010). Evaluación del sistema de tratamiento de aguas residuales de industria avícola. *Revista Científica*, 20(4), 409-416, 2010.
- Cárdenas, C. et al. (2012). Desempeño de un reactor biológico secuencial (RBS) en el tratamiento de aguas residuales domésticas. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 14(2), 111-120
- Chamorro, X., Rodríguez, G., Enriquez, A., & Rosero, M. (2010). Montaje y validación del método de análisis por combustión y detección por infrarrojo no dispersivo para determinación de carbono orgánico total (COT) en agua. *Revista Luna Azul*, (30), 10-23
- Cortés, C. (2010). *Validación de métodos* [Dcto. No. MP-CA005-02]. México D.F., México: Entidad Mexicana de Acreditación [EMA]
- Cortés, G. (1999). *Lineamientos para el control de calidad analítica*, Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Bogotá, Colombia: IDEAM
- Cortés, G. (2009). *Validación con base en los criterios de aplicación de la norma NMX-EC-17025-IMNC-2006 en mediciones químicas y físicas*. México D.F., México: Entidad Mexicana de Acreditación [EMA]
- Coy, G. (1999). *Protocolo estandarización de métodos analíticos*, Instituto de Hidrología, Meteorología y estudios ambientales. Bogotá, Colombia: IDEAM
- E. Rice, R. Baird, A. Eaton & L. Clesceri [Eds.]. (2012). *Standard methods for the examination of water and wastewater* [22a ed.]. Washington, DC: APHA/AWWA/WEF.
- Gómez, S., Martínez, J., & Martínez, F. (2010). Validación de un método analítico empleando cromatografía líquida de alta eficiencia para la determinación de ibuprofeno en medios biorrelevantes. *Revista Quim. Nova*, 33(8), 1794-1799
- Marín, G. (2003). *Fisicoquímica y microbiología de los medios acuáticos tratamiento y control de calidad de aguas* [1a ed.]. Sevilla, España: Díaz de Santos
- Méndez, R., San-Pedro, L., Castillo, E., & Vázquez, E. (2010). Modelación del tiempo de conservación de muestras biológicas de agua. *Rev. Int. Contam. Ambient*, 26(4), 327-335
- Romero, J. (2002). *Calidad del agua Escuela Colombiana de Ingeniería*. Bogotá, Colombia: Escuela Colombiana de Ingeniería Julio Garavito
- Tchobanoglous, G. (2000). *Tratamiento de aguas residuales en pequeñas poblaciones*. Bogotá, Colombia: McGraw-Hill
- Velázquez, M., Pimentel, J. & Ortega, M. (2011). Estudio de la distribución de boro en fuentes de agua de la cuenca del río Duero, México, utilizando análisis estadístico multivariado. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 27(1), 9-30

#### VI. CURRÍCULOS

*Carlos Alberto Severiche Sierra*. Químico, Especialista en Ingeniería Sanitaria y Ambiental, Magister en Desarrollo Sostenible y Medio Ambiente. Docente Catedrático de la Universidad de Cartagena y la Universidad Tecnológica de Bolívar, con experiencia en el Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras de Colombia [Invemar] y el Laboratorio de Calidad de Aguas de Aguas de Cartagena S.A. E.S.P. Beca Joven Investigador e Innovador del Departamento Administrativo de Ciencia, Tecnología e Innovación de Colombia [Colciencias]. Representante docente al Comité Curricular del Programa de Sistemas de Saneamiento Ambiental e investigador del Grupo de Investigaciones en Sistemas Ambientales y Materiales GISAM de la Universidad Tecnológica de Bolívar.

*Judith Yaneth Luna Jara*. Técnico especialista en análisis de laboratorio de aguas, Regente en Farmacia, con más de 25 años de experiencia en laboratorio analíticos ambientales, desde el año 1999 hasta la actualidad hace parte del Laboratorio de Calidad de Aguas de la empresa Aguas de Cartagena S.A. E.S.P., en Cartagena de indias, Colombia.

*Humberto González García*. Químico de la Universidad de La Habana (Cuba) y Doctor en Ciencias Químicas del Instituto Cubano de Ciencia. Cuanta con más de 60 publicaciones científicas y técnicas acerca de la química analítica ambiental; desde 1998 es el Jefe del Laboratorio de Calidad de Aguas de la empresa Aguas de Cartagena S.A. E.S.P., en Cartagena de indias, Colombia.

