 Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16	Código: M-S-LC-I056
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 1 de 10

1. OBJETIVO

Establecer la metodología para la determinación de Nitrógeno total, en agua por combustión catalítica a alta temperatura y Detección por quimioluminiscencia en la matriz agua

2. ALCANCE

Esta técnica se aplica en el Laboratorio de Calidad Ambiental para el recurso hídrico superficial; los rangos de aplicación son: 0,50 – 50 mg /L


Los siguientes son los resultados obtenidos en la validación del método:

TABLA 1. Datos validación determinación de nitrógeno amoniacal

CUADRO PARÁMETROS DE CONFIRMACIÓN DEL MÉTODO			
CÓDIGO DEL INSTRUCTIVO DE ENSAYO: M-S-LC-I056			
FECHA DE INFORME DE ESTANDARIZACIÓN: 30-11-2018 y			
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LIMITE DE DETECCIÓN	0,50	mg N/L	Corresponde al límite de cuantificación
PRECISIÓN EN TERMINOS DE % CV	2,43	%	Nivel de concentración bajo STD Eb 4,0 mg /L
	2,42	%	Nivel de concentración bajo STD Em 30 mg /L
	1,49	%	Nivel de concentración alto STD Ea 45 mg /L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	6,40	%	Nivel de concentración bajo STD 4,0 mg /L
	1,28	%	Nivel de concentración alto STD 30 mg /L
	3,33	%	Nivel de concentración alto STD 45 mg /L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0,50-50	mg N/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO	0,50-50	mg N/L	Con la mayor dilución posible o aceptable
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	106,71	%	Nivel de concentración bajo M1Ab
	105,04	%	Nivel de concentración alto M1Aa

3. DEFINICIONES

- **Blanco de Reactivos o Blanco de Método (MB):** agua ultra pura que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos solventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra.
- **Blanco Fortificado de Laboratorio (LFB):** es una muestra de agua de reactivo a la que se ha añadido una concentración conocida del analito de interés. Se utiliza para evaluar el desempeño de laboratorio, y la recuperación del analito en una matriz en blanco.
- **Muestra (M):** cada sistema físico que sea sometido a la metodología de análisis.
- **Matriz Fortificada de Laboratorio (LFM):** es una muestra natural o real a la cual se le ha adicionado una cantidad conocida del analito de interés. Esta adición debe realizarse antes de la preparación de la muestra.
- **Duplicado de muestra o matriz fortificada por laboratorio (LFMD):** es una segunda porción de la muestra a la que se agrega una cantidad conocida de analito (s) de interés antes de la preparación de la muestra. Si se recolecta suficiente volumen de muestra, esta segunda porción de muestra se agrega y procesa de la misma manera que el LFM. Si no hay suficiente muestra para un duplicado LFM, entonces use una porción de una muestra alternativa (duplicado) para recopilar datos sobre la precisión.

 <p> IDEAM Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales </p>	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16	Código: M-S-LC-I056
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 2 de 10

- **Blanco fortificado (LFB):** es una muestra de agua de reactivo a la que se ha añadido una concentración conocida del analito de interés. Se utiliza para evaluar el desempeño de laboratorio, y la recuperación del analito en una matriz en blanco. (El LFB son los estándares de control de la técnica).
- **Límite de Detección del Método (LDM):** concentración de analito que, cuando se procesa a través del método completo, produce una señal con una probabilidad del 99% de ser diferente del blanco.
- **Límite de Cuantificación (LCM):** Es la concentración de analito que produce una señal suficientemente más fuerte que el blanco, de modo que se puede detectar con un nivel específico de confiabilidad durante las operaciones de rutina
- **Linealidad:** es la proporcionalidad entre la concentración y la señal producida por el instrumento y se debe verificar si en el laboratorio se cumple el intervalo y tipo de linealidad que reporta la literatura del método.
- **Intervalo de Linealidad:** hace referencia a la menor y la mayor concentración de analito en la muestra para las cuales se ha demostrado que el procedimiento analítico tiene el nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad.
- **Intervalo de Trabajo o de Lectura directa:** intervalo de concentraciones donde actúa el método en cuestión, sin ninguna dilución. Debe estar incluido en el rango lineal.
- **Intervalo de Aplicación del Método:** es el Intervalo de concentración para el método incluyendo la mayor dilución permitida para una muestra. En general se acepta hasta una dilución de cien veces, a menos de que el método no lo permita.

4. ASPECTOS DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO

Antes de iniciar el análisis químico, revisar el Manual de Higiene, Salud Ocupacional y Seguridad en el Laboratorio y las hojas de Seguridad que reposan en el mueble ubicadas a la entrada; en el área de recepción de muestras.

Utilizar los implementos de seguridad de acuerdo con lo señalado en el instructivo. En esta técnica son: bata, pantalón, zapatos antideslizantes, gafas de seguridad, máscara con filtro para vapores ácidos y guantes de nitrilo.

Los residuos producto del análisis de la determinación, se tratan de acuerdo al documento disposición de muestras y residuos de análisis.


5. EQUIPOS, MATERIALES Y REACTIVOS

5.1. Equipos

- Balanza analítica de cuatro cifras decimales.
- Analizador COT-NT.
- Auto muestreador SIA
- Módulo de NMT.
- Plancha con agitación magnética.

5.2. Materiales

- Micro-espátula metálica.
- Viales
- Balones aforados de 1L Clase A.

 IDEAM Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales.	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16	Código: M-S-LC-I056
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 3 de 10

- Balones aforados de 100 mL. Clase A.
- Transferpipeta de 1 a 10 mL
- Frasco lavador

5.3. Reactivos

- Agua libre de amoníaco: Usar agua Tipo 1 para preparar todos los reactivos, las diluciones de muestra y enjuagues.
- Nitrato de potasio trazable
- Sulfato de amonio
- Ácido clorhídrico
- Ácido sulfúrico

5.3.1. Preparación de soluciones estándares intermedias

Las soluciones intermedias se preparan como se muestra en la Tabla 2. Preparación de Soluciones Estándar Intermedias.

La solución Stock de Nitrato de Potasio de 1000 mg/L se prepara: Disolver en agua 7,218 g de nitrato de potasio (KNO_3) previamente secado a 120°C durante dos horas, y aforar a 1000 mL, en la Tabla 3 se presentan distintos pesos para preparar volúmenes menores.

TABLA 2. Preparación de soluciones estándar intermedias

CONCENTRACIÓN ESTANDAR (mg /L)	Vol. ALICUOTA Sin PARTIDA (mL)	CONCENTRACION Sin DE PARTIDA (mg /L)	VOLUMEN FINAL (mL)
100	5,0	1000	50
10	5,0	100	50

TABLA 3. Preparación de solución stock de nitrato

PESO KNO_3 (g)	CONCENTRACION Sin (mg /L)	VOLUMEN FINAL (mL)
3,609	1000	500
1,8045		250
0,7218		100

5.3.2. Preparación estándares curva de calibración

Para realizar las curvas se programa el equipo para hacer las diluciones correspondientes. Se prepararán dos estándares de concentraciones 10 y 100 mg /L. La preparación se muestra en la Tabla 2.

5.3.3. Preparación estándares de control

Los estándares de control se preparan a partir de la solución estándar intermedia de Nitrato de Potasio. Como se muestra en la Tabla 4. Preparación de Estándares de Control.

TABLA 4. Preparación de estándares de control.

CONCENTRACIÓN ESTANDAR (mg /L)	Vol. ALICUOTA Sin PARTIDA (mL)	CONCENTRACION Sin DE PARTIDA (mg /L)	VOLUMEN FINAL (mL)
25	2,5	1000	100
5	5	100	100

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16	Código: M-S-LC-I056
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 4 de 10

6. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Puede ser causa de interferencia:

- La saturación del catalizador, se debe regenerar el catalizador., en caso de seguir los inconvenientes debe cambiar.
- El daño del detector, se evidencia cuando las líneas base no son estables.
- La preservación de las muestras ya que la acidificación minimiza la interferencia que puede causar resultados bajos.
- La homogeneización de la muestra es necesaria cuando se presenta alta carga de partículas.

6.1 Condiciones ambientales

Las condiciones ambientales no afectan la validez de los resultados, sin embargo, en el área donde se realiza el análisis de sólidos totales cuenta con un termo higrómetro para registrar temperatura y humedad diariamente .M-S-LC-F021 formato condiciones ambientales.

7. CONTROL Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Las prácticas de control de calidad se consideran parte integrante de cada método, para este método se incluyen en la siguiente tabla, los cuales deben ser aplicados por cada 20 muestras o lote menor a 20 muestras. Adicionalmente, en los LFM y LFMD el volumen de estándar no debe exceder el 5% del volumen total de la muestra fortificada.

TABLA 5. Control de calidad del método ASTM D 8083-16.

Blanco del método (MB)	Blanco fortificado de laboratorio (LFB)	Matriz fortificada de laboratorio (LFM)	Duplicado de la matriz fortificada de laboratorio (LFMD)	Otros
X	X	X	X	Duplicado de muestras <10% QC (Estándares 5.0 y 25 mg/L) % Recuperación LFM y LFMD 75-125


Para los controles analíticos es importante tener en cuenta:

- Utilizar el material de vidrio al cual se le ha realizado el control de calidad.
- Efectuar el análisis dentro del tiempo estipulado, asegurando la confiabilidad del resultado. (28 días)
- Los resultados deben ser reportados en el formato correspondiente a captura de NT y COT con código M-S-LC-F076, y debe ser entregado al líder del grupo de análisis fisicoquímicos.
- Los resultados de los controles se deben reportar en los formatos digitales: Carta control de exactitud Código: M-S-LC-F055, Carta control de precisión – duplicados NT Código: M-S-LC-F056 y Carta control porcentaje de recuperación y duplicados de recuperación NT Código: M-S-LC-F057.
- Cada vez que el equipo se utilice se debe registrar el tiempo de uso, para que se usa y la firma del usuario. En el formato M-S-LC-F007 Formato Control Diario del Manejo de Equipos.

8. DESARROLLO

8.1. Principio del método

Para el desarrollo de esta técnica se utiliza como instrumento el analizador de COT, el cual tiene un módulo

 <p> IDEAM Instituto de Hidrógeno, Meteorología y Estudios Ambientales </p>	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16	Código: M-S-LC-I056
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 5 de 10

para la determinación de Nitrógeno Total. La muestra es inyectada en un tubo de digestión que se encuentra a $\geq 720^{\circ}\text{C}$. A esta temperatura la muestra pasa a una fase gaseosa que le permite pasar a través de un catalizador de platino, que garantiza la conversión de todos los compuestos que contienen nitrógeno a óxido de nitrógeno, este reacciona con ozono y se convierte a NO_2 , el cual pasa del estado excitado al fundamental, emitiendo radiación la cual es medida fotoeléctricamente.

Con este método de ensayo se puede determinar cuantitativamente el nitrógeno presente en una amplia gama de compuestos, se aplica al nitrógeno que se encuentre en la muestra que se pueda introducir en la zona de reacción. El tamaño de la jeringa limita el tamaño máximo de partículas que pueden ser inyectadas, utilizar la homogenización de muestras automática, agitando o burbujeando la muestra. Este método de ensayo, está basado en el rendimiento, quiere decir que se pueden hacer modificaciones para mejorar sin cambiar la técnica de oxidación o detección. Los valores son reportados unidades estándar de mg/L.

8.2. Toma y preservación de muestras

Si las muestras se analizan en el transcurso de 24 horas después de la recolección, refrigerar a 4°C sin acidificar. Para preservación y almacenamiento mayor a 24 horas, hasta 28 días, acidifique las muestras a $\text{pH} < 2$ con H_2SO_4 concentrado y almacenarlas a 4°C utilice recipiente plástico (polietileno o equivalentes). Tomar 1L de muestra.

8.3. Limpieza de vidriería y material de campo

Utilice únicamente el material de vidrio aprobado en el control de calidad, para el lavado de material de vidrio se debe seguir el M-S-LC-I015 Instructivo para el Lavado de Material de Vidrio y Plástico.

8.4. Ejecución de la técnica

8.4.1. Acondicionamiento del equipo

El equipo debe ser encendido y verificado paso a paso, como se indica a continuación:

- Revisar que el gas este abierto, encender el equipo, el auto muestreador y se verificar el buen funcionamiento.
- Verificar: la cantidad de agua de los frascos enfriadores y de residuos, el agua de la botella de dilución en caso que se requiera una dilución. Realizar la conexión entre el equipo y el sistema, para revisar la jeringa y el funcionamiento del embolo.
- En el sistema: Inicie el software abrir un Sample Table Editor (Editor de Tabla de Muestras)
- Crear una Sample Table (Tabla de Muestras).
- Crear un Archivo Analysis Parameters (Parámetros de análisis), Calibration Curve (Curva de calibración) esta se hace utilizando el sistema de auto dilución del equipo, Archivo Method (Método) según sea el caso.
- Editar el Sample Table (Editar la Tabla de Muestras), colocando el número de Vial en el auto muestreador.
- Conectar el computador con el analizador de COT.
- El indicador Ready, muestra el estado de la conexión con el instrumento y el estado operacional del instrumento.



La conexión no está establecida con el instrumento.

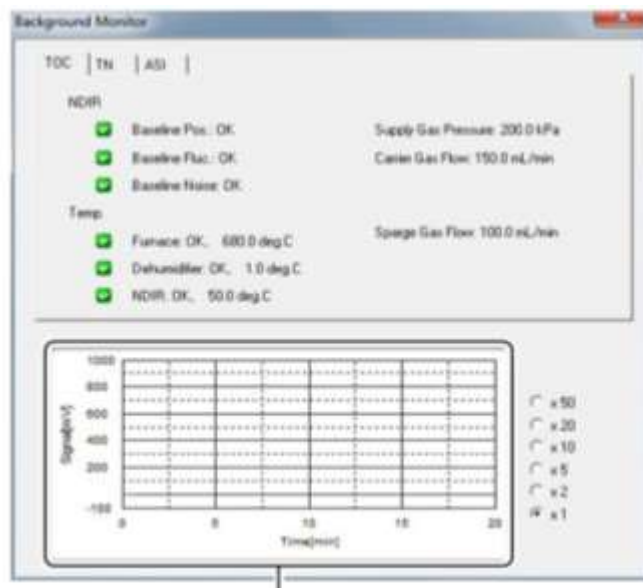
La conexión está establecida y el instrumento está LISTO.


La conexión está establecida, pero, el instrumento no está LISTO.

El análisis está en progreso.

La operación ha cambiado al modo de edición y la tabla de muestra que se utiliza para el análisis se puede editar.

- Visualizar la ventana del Monitor: **Background Monitor**, verificar las condiciones del equipo, temperatura y presión del gas, línea base, temperatura a 720 °C, estabilidad de la línea base, presión del gas de arrastre a 200 ± 10 KPa y el flujo de 150 mL/min.



	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16	Código: M-S-LC-I056
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 7 de 10



Indica el estado listo.



Indica el estado no listo.

- Realizar las lecturas correspondientes.

8.4.2. Calibración

Luego del acondicionamiento del equipo, y verificar las condiciones óptimas para el ensayo crear:

- Una nueva Sample Table.
- Un Archivo de Curva de Calibración establecer la curva por dilución automática,
- Dos curvas de calibración; Una de rango bajo con concentraciones de 0.50, 1.0, 2.5, y 5.0 mg /L. y una de rango alto con concentraciones de 5, 10, 20 y 50 mg /L.
- Para leer las curvas, arrastre a Sample Table cada una de las curvas y dar play.

El equipo leerá automáticamente la curva, adicionar suficiente estándar en cada vial para garantizar las lecturas. Colocar 3 viales con estándar de 100 mg/L. y 3 viales con estándar de 10 mg/L para las curvas de rango alto y bajo respectivamente

Como criterio de calidad, las curvas deben cumplir con un R mínimo de 0.995, si no cumplen deben leerse de nuevo.

8.4.3. Lectura de la muestra

Crear un Method que las incluya las curvas de calibración leídas en el ítem anterior

Para realizar el análisis de múltiples muestras, con las mismas condiciones insertar una muestra nueva en la Sample Table esto se puede realizar copiando y pegando; Seleccione la fila insertada, haga clic derecho y seleccione Copy en el menú desplegado y luego seleccione las filas en las que desea se copie, clic derecho y seleccione Paste. Introducir los números de vial correspondiente a cada muestra.

Las muestras deben estar a temperatura ambiente para ser servidas en los viales, si presentan sedimentos o material particulado adicionar un agitador magnético para que en el momento que el equipo tome el volumen de muestra esta sea homogénea.

El volumen ideal para servir es tres cuartos de la altura del vial.

Después de que los viales estén claramente marcados con el código de cada muestra y servidos se colocan en el auto muestreador verificando que las posiciones coincidan con lo establecido en el computador.


Se coloca la tapa del auto muestreador y hacer clic en play.

Se deben programar las lecturas de los controles y revisar los resultados si no cumplen con lo establecido, se detener el equipo inmediatamente y analizar las causas, de lo contrario terminar la corrida.

Los resultados se reportan en el M-S-LC-F076 FORMATO CAPTURA DE DATOS NT Y COT.

8.5. Formatos

- M-S-LC-F007 Formato Control Diario del Manejo de Equipos.

 IDEAM Instituto de Hidrógeno, Meteorología y Estudios Ambientales.	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16	Código: M-S-LC-I056
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 8 de 10

- M-S-LC-F055 Carta Control de Exactitud
- M-S-LC-F056 Carta Control De Precisión – Duplicados
- M-S-LC-F057 Carta Control Porcentaje de Recuperación y Duplicados de Recuperación
- M-S-LC-F076 Formato Captura de Datos NT y COT

8.6. Cálculos y Resultados.

La concentración de Nitrógeno Total es determinada por un equipo que reporta el resultado directamente. Si se tiene que hacer dilución se debe tener en cuenta para el reporte final. Escribir el resultado con dos cifras significativas, redondeando de acuerdo a los criterios establecidos en el procedimiento de lineamientos de control de calidad analítica.

9. DIAGRAMA

Ver anexo 1.

10. DOCUMENTOS DE REFERENCIA Y BIBLIOGRAFÍA

- Instructivo de confirmación o validación de métodos analíticos M-S-LC-I038.
- Método normalizado ASTM D 8083-16, método para la determinación de Nitrógeno Total y TKN por cálculo en agua por combustión catalítica a alta temperatura y detección por quimioluminiscencia.

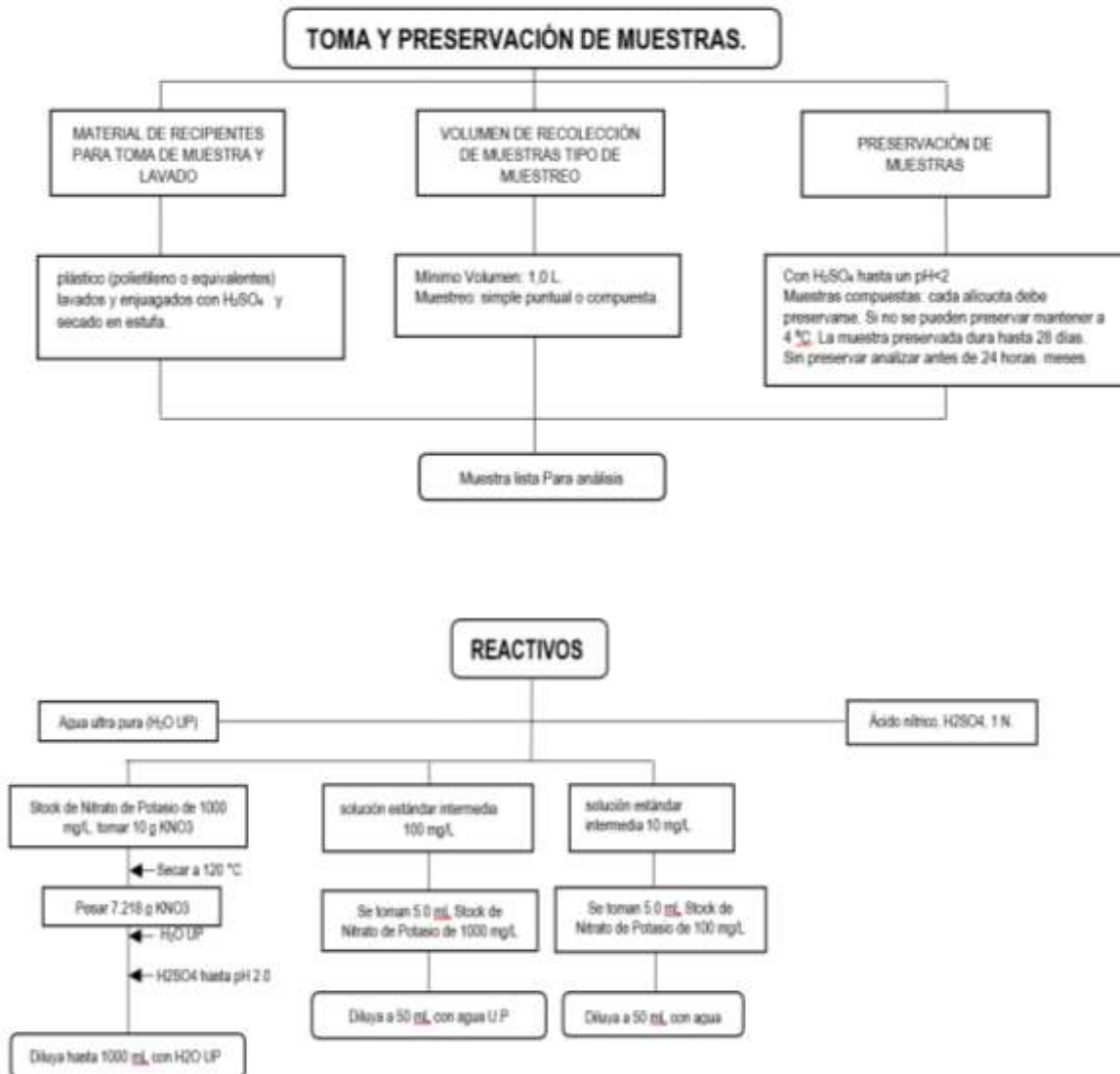
11. HISTORIAL DE CAMBIOS

VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN
01	23/04/2019	Sobre el documento base se hizo modificación de Alcance en límite de cuantificación, modificación en Control y Aseguramiento de la Calidad en los controles de calidad de las muestras, modificación en Calibración en los puntos a evaluar en las curvas de calibración y modificación al ANEXO 1 en el diagrama de Lectura de Muestra.
02	21/10/2020	Nueva versión producto de la actualización de la documentación del Sistema Integrado de Gestión.

ELABORÓ: Daniel Ignacio Mendoza Velásquez Contratista Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental	REVISÓ: Carlos Martín Velásquez Ramírez Contratista Líder Técnico Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental	APROBÓ: Nelson Omar Vargas Martínez Subdirector de Hidrología
---	---	---

ANEXO 1. Diagrama

DETERMINACIÓN DE NITRÓGENO TOTAL POR COMBUSTIÓN CATALÍTICA A ALTA TEMPERATURA Y DETECCIÓN POR QUIMIOLUMINISCENCIA. ASTM D 8083-16



LECTURA DE LA MUESTRA

