

**Centro Universitario de Estudios Medioambientales:
Seminarios de la reunión semanal del CUEM.**

Fecha: 01-08-2022

Expositora: Romina Belén Godoy.

Tema: Avances en la medición de TKN

El nitrógeno (N) es un gas que abunda en la atmósfera (78 %). Existe en forma orgánica, inorgánica y en diferentes estados de oxidación. El N presente en compuestos orgánicos como aminoácidos, aminas, polipéptidos y proteínas puede considerarse N orgánico. Éste junto con el amonio y amoníaco constituyen en N total kjeldahl. Recibe dicho nombre ya que el procedimiento inicial que se lleva a cabo para su medición se denomina “método de Kjeldahl”. Consiste en un proceso de digestión, durante el cual la materia orgánica presente en la muestra de agua, se descompone por acción del ácido sulfúrico concentrado a una temperatura elevada y en presencia de sustancias catalizadoras. Dichos catalizadores aceleran el proceso de digestión al aumentar el punto de ebullición del ácido sulfúrico. Estos elementos se encuentran presentes en el reactivo de Kjeldahl que será utilizado durante el procedimiento. El objetivo de dicha técnica consiste en romper los enlaces del nitrógeno con el carbono en la muestra, para obtener como resultado sales de amonio, dióxido de carbono y agua.

Protocolo

- Pesar con balanza de 0,001g los Erlenmeyers vacíos. (P1)
- Colocar un volumen de 20 ml aproximadamente de la muestra de agua y pesar (P2). Luego agregar 200 ul de H₂SO₄ 10N a todas las muestras y a la recuperación 100 ul stock diluido 100 mg N/L.
- Evaporar en cocina eléctrica en nivel 3 y aumentar de a poco para evitar proyecciones, sacar cuando quede entre 3 a 4 ml aproximadamente y pesar. (P3)
- Traspasar a tubos de plástico graduado de 5 ml. Verificar que el volumen sea mayor a 2 ml.
- Preparar tubos de ensayo de kit de tkn. Realizar 22 tubos por medición.

Tubo	ul stock diluido 100 mg N/L	ml QC	ml muestra	ml Rvo Kjeldhal	Vortex	Colocar vidrio de núcleo de ebullición
B	0			1		
T1	10			1		
T2	30			1		
T3	50			1		
T4	90			1		
QC		1		1		
R+			1	1		
Muestra			1	1		

- Colocar los tubos en microkjeldahl, poner el dimmer en el punto 4,5 y colocar la pinza amperométrica a 200 Amper. Observar que el resultado sea de 1 Amper. Dejar por 24 horas debajo de la campana con extractor encendido.
- Calentar a 1,8 Amper por 60 minutos. Apagar el microkjeldahl y dejar enfriar las muestras por 3 minutos. Apagar pinza amperométrica.

- Sacar los tubos del microkjeldahl y pasar a una gradilla. Agregar 0,5 ml de agua destilada, sacar vidrio de núcleo de ebullición y pasar por el vortex. Realizar este paso rápido y un tubo a la vez para que no solidifique la solución.
- Agregar 1000 ul de solución de Sorensen. Pasar por el vortex.
Nota de solución de Sorensen: cargar lentamente y evitar tocar el fondo del envase de la solución.
- Preparar tapas de tubos falcon de 15 ml, colocar 10 ul de ácido sulfúrico 2N en su hendidura interna. Trasvasar a tubos falcon el contenido del tubo preparado en el punto anterior y tapar inmediatamente.
Nota: Realizar estos dos últimos puntos de forma rápida y de a un tubo por vez.
- Preparar una gradilla en un lugar de la mesada con poca circulación. Dejar los tubos 24 horas a temperatura ambiente. Colocar cartel de no mover.
- Preparar nuevos tubos de falcon. Agregar 2,5 ml de agua destilada y traspasar las tapas utilizadas, observar que se encuentre la gota agregada y agitar verticalmente.
- Trasvasar el contenido a tubos khan.
- Preparar solución oxidante y pasar por el vortex.

Solución oxidante	Ul por tubo
H2O destilada	250
Citrato alcalino	57
Hipoclorito de Na (sacar al momento de utilizar)	3

Tubos khan	ul NaOH 1N	ul Solución oxidante	ul Fenol	ul Nitroprusiato	Vortex	40°C por 30' T° ambiente por 15'	%T 640
B	80	270	110	110			
T1	80	270	110	110			
T2	80	270	110	110			
T3	80	270	110	110			
T4	80	270	110	110			
QC	80	270	110	110			
R+	80	270	110	110			
Muestra	80	270	110	110			

- **Nota:** La solución de fenol y el nitroprusiato se deben colocar y manipular con precaución debajo de la campana con extractor encendido.

Reacciones

1. Cuando ponemos la muestra con reactivo de Kjeldahl y calentamos, el nitrógeno orgánico se libera como amonio, básicamente porque el ácido sulfúrico oxida los carbonos generando dióxido de azufre y dióxido de carbono.

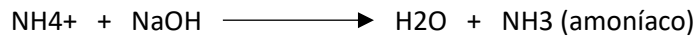
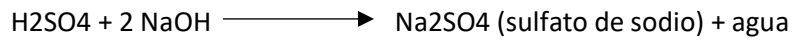
Reacción

Cadenas carbonadas - grupo amino + H₂SO₄ (ácido sulfúrico) → CO₂ + NH₄⁺ (amonio) + SO₂ (dióxido de azufre)

2. Luego al colocar la Solución de Sorensen, que es hidróxido de sodio (NaOH) concentrado (la base), se producen dos reacciones.

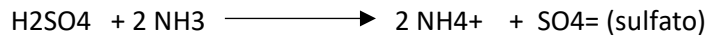
Por un lado el ácido sulfúrico remanente (el ácido) se transforma en sulfato (SO_4^{2-}) y por otro el amonio pasa a amoníaco que es volátil y se desprende como gas.

Reacción



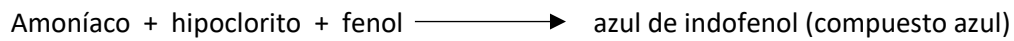
3. Luego en la tapa el amoníaco se encuentra nuevamente con ácido sulfúrico y deja de ser gas para pasar a solución como amonio

Reacción



4. Finalmente ese amonio, reacciona con el reactivo de fenato para dar un derivado de color azul.

Reacción



Catalizadores: medio alcalino con citrato alcalino /nitroprusiato de sodio