

Centro Universitario de Estudios Medioambientales:

Seminarios de la reunión semanal del CUEM.

Fecha: 24-05-2021

Expositores: Flores, Héctor Guillermo; Monti, María Sol.

Tema: Validación de la técnica para la medición de amonio en agua.

La medición de amonio en agua en el CUEM se lleva a cabo mediante espectrofotometría a través del espectrofotómetro de Turner, con el cual es medida la transmitancia de las muestras y luego calculada la absorbancia para conocer la concentración de amonio de éstas. La técnica utilizada es la de fenato modificada para los instrumentos con los cuales cuenta nuestro laboratorio. Ésta se basa en la reacción del fenol, hipoclorito de sodio y amonio para formar azul de indofenol, cuya intensidad de la coloración dependerá de la concentración de amonio. Además, se utiliza nitroprusiato de sodio y citrato alcalino para disminuir interferencias, alcalinizar el medio (necesario para que se lleve a cabo la reacción) y aumentar la sensibilidad de la técnica.

Para la medición de amonio es necesaria una curva de calibración, ya que la concentración no puede ser medida directamente. Los puntos de esta curva están formados por un blanco de 0 mg/L y tres testigos de 0,003; 0,009 y 0,018 mg/L. Inicialmente la curva de calibración tenía un ajuste lineal, por lo cual su linealidad se indicaría mediante R^2 . Los resultados del R^2 en sucesivas mediciones eran inferiores a 0,95 lo que indicaba una importante cantidad de errores. Por este motivo y después de analizar los posibles errores aleatorios y sistemáticos se decidió cambiar el ajuste lineal de la curva a uno no lineal (ajuste hiperbólico), medida mediante sumatoria cuadrados desvío (SCD) en lugar de R^2 .

Luego de varias mediciones los testigos comenzaron a perder su coloración azul, lo cual nos indicaba alguna alteración en la reacción. Después de estudiar las posibilidades para aquella disminución en la intensidad de la coloración se llegó a la conclusión de una disminución en la concentración del hipoclorito de sodio, ya que ésta es una sustancia inestable. Al cambiar el hipoclorito de sodio por un envase nuevo con mayor concentración se desarrolló la reacción con un azul intenso, desplazando los valores de la curva hacia valores menores. Por esto se plantea agregar dos testigos con menor concentración de solución stock.

Ante las dudas respecto a la medición se decide realizar la validación de la técnica. Para ésta es necesario medir 3 días:

- El primer día son medidos 6 blancos, testigos y 6 QC.
- El segundo día son medidos 2 blancos, testigos y 3 QC.
- El tercer día son medidos 2 blancos, testigos y 3 QC.

En la validación se evalúa linealidad, sensibilidad, límite de detección (LOD), límite de cuantificación (LOQ), exactitud, repetitividad intraensayo ($CV_r\%$), precisión interensayo ($CV_R\%$), rango lineal e incertidumbre de la técnica. En la medición de amonio, estos parámetros fueron evaluados con tres, cuatro y cinco estándares. Al comparar los valores obtenidos con tres, cuatro y cinco estándares se evidenciaron mejores resultados con cuatro estándares.