



Ministério da  
**Ciência, Tecnologia  
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2012/11.21.11.20 -NTC

## PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL EM SOLUÇÕES AQUOSAS

Roberta Lee Maciviero Alcaíde  
Maria Cristina Forti

Nota Técnica

URL do documento original:

<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3D3RU35>>

INPE  
São José dos Campos  
2013

**PUBLICADO POR:**

Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais - INPE

Gabinete do Diretor (GB)

Serviço de Informação e Documentação (SID)

Caixa Postal 515 - CEP 12.245-970

São José dos Campos - SP - Brasil

Tel.:(012) 3208-6923/6921

Fax: (012) 3208-6919

E-mail: pubtc@sid.inpe.br

**CONSELHO DE EDITORAÇÃO E PRESERVAÇÃO DA PRODUÇÃO INTELLECTUAL DO INPE (RE/DIR-204):****Presidente:**

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

**Membros:**

Dr. Antonio Fernando Bertachini de Almeida Prado - Coordenação Engenharia e Tecnologia Espacial (ETE)

Dr<sup>a</sup> Inez Staciarini Batista - Coordenação Ciências Espaciais e Atmosféricas (CEA)

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação Observação da Terra (OBT)

Dr. Germano de Souza Kienbaum - Centro de Tecnologias Especiais (CTE)

Dr. Manoel Alonso Gan - Centro de Previsão de Tempo e Estudos Climáticos (CPT)

Dr<sup>a</sup> Maria do Carmo de Andrade Nono - Conselho de Pós-Graduação

Dr. Plínio Carlos Alvalá - Centro de Ciência do Sistema Terrestre (CST)

**BIBLIOTECA DIGITAL:**

Dr. Gerald Jean Francis Banon - Coordenação de Observação da Terra (OBT)

**REVISÃO E NORMALIZAÇÃO DOCUMENTÁRIA:**

Marciana Leite Ribeiro - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Yolanda Ribeiro da Silva Souza - Serviço de Informação e Documentação (SID)

**EDITORAÇÃO ELETRÔNICA:**

Maria Tereza Smith de Brito - Serviço de Informação e Documentação (SID)

Luciana Manacero - Serviço de Informação e Documentação (SID)



Ministério da  
**Ciência, Tecnologia  
e Inovação**



sid.inpe.br/mtc-m19/2012/11.21.11.20 -NTC

## PROTOCOLO PARA DETERMINAÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL EM SOLUÇÕES AQUOSAS

Roberta Lee Maciviero Alcaíde  
Maria Cristina Forti

Nota Técnica

URL do documento original:  
<<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/3D3RU35>>

INPE  
São José dos Campos  
2013



## RESUMO

A Coordenação de Ciência do Sistema Terrestre do Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais iniciou, a partir de 2009, a implantação de facilidades para análise e preparação de amostras ambientais e desenvolvimento de tecnologias afins, o Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias LAQUATEC para dar suporte ao Laboratório Associado de Pesquisas Biogeoquímica Ambiental (LAPBio). O LAQUATEC foi implantado para dar suporte, prioritariamente, às pesquisas em Química da atmosfera, Transferências de espécies químicas nas Interfaces de Ecossistemas, Estudos da qualidade de corpos de água interiores e costeiros e Tecnologias Ambientais bem como deposição e emissão de espécies químicas em diferentes escalas geográficas e ambientes, em andamento no LAPBio. O objetivo deste protocolo é estabelecer um método para a determinação da concentração de nitrogênio total em soluções aquosas a ser utilizado no LAPBio-LAQUATEC.



# **PROTOCOL FOR THE DETERMINATION OF TOTAL CARBON AND IN AQUEOUS SOLUTIONS**

## **ABSTRACT**

The Earth System Science Center at the National Institute for Space Research since 2009 is implementing laboratory facilities for environmental samples preparation and analysis and development of related technologies, the Laboratory of Aerosols, Aqueous Solutions and Technologies (LAQUATEC) with to support the Environmental Biogeochemistry Research Associated Laboratory (LAPBio). The LAQUATEC was deployed to support prioritarily researches in progress on atmospheric chemistry, chemical species transfers through ecosystem interfaces, studies on continental and coastal water bodies quality, chemical species emission and deposition at different geographical scales and environments. The purpose of this protocol is to establish a method for total nitrogen determination in aqueous solutions to be used at the LAPBio-LAQUATEC.





## LISTA DE FIGURAS

	<b><u>Pág.</u></b>
Figura 4.1 – Analisador de nitrogênio total TNM-1 (a) e analisador de carbono orgânico total- TOC – $V_{CPN}(b)$ , da marca Shimadzu.....	3
Figura 4.2 – Dois picos de TN produzidos utilizando o TNM-1. ....	4



## LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

INPE	Instituto Nacional de Pesquisas Espaciais
CCST	Centro de Ciências do Sistema Terrestre
LAPBio	Laboratório Associado de Pesquisas em BioGeoQuímica Ambiental
LAQUATEC	Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias
TOC	Carbono orgânico total
TN	Nitrogênio total
TKN	Nitrogênio total Kjeldahl
ASTM	American Society for test Method's
EPA	US Environmental Protection Agency



## SUMÁRIO

1. Objetivo e Aplicação .....	1
2. Resumo do método.....	1
3. Materiais, instrumentação e princípio de funcionamento. ....	2
5. Reagentes .....	4
5.1 Água reagente.....	4
5.2 Solução de Ácido Clorídrico (HCl) 2 M:.....	4
5.3 Padrão Primário TN (1000 ppm): .....	5
6. Coleta, preservação e manipulação das amostras .....	5
7. Procedimento.....	6
7.1 Filtração e homogeneização das amostras.....	6
7.2 Procedimento de análise.....	6
8. Controle de Qualidade .....	6
9 Desempenho e validação dos métodos .....	6
REFERÊNCIAS.....	8



## 1. Objetivo e Aplicação

Este protocolo tem como objetivo estabelecer um método para a determinação de nitrogênio total em soluções aquosas em geral, água potável, águas superficiais, subterrâneas, salinas, de chuva, etc. orientando os usuários do Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias (LAQUATEC) com relação a este tipo de análise.

## 2. Resumo do método

Geralmente o nitrogênio total (TN) é determinado a partir da soma da quantificação das diferentes formas de nitrogênio, a partir de quatro métodos distintos de determinação: o nitrogênio total Kjeldahl (TKN), amônia ( $NH_3$ ), nitrito ( $NO_2^-$ ) e nitrato ( $NO_3^-$ ), representados pela Equação 2.1.

$$TN \text{ (nitrogênio total)} = R - N(\text{nitrogênio orgânico}) + NH_3 + NO_2^- + NO_3^- \quad (2.1)$$

Todos os componentes que compõem o TN são “bioquimicamente conversíveis entre si e faz parte do ciclo do nitrogênio”, Equação 2.2, e podem ocorrer tanto em águas residuais como e águas naturais.



Como a maioria das análises químicas em via úmida, estes quatro métodos requerem a preparação da amostra, consumindo tempo e trabalho. Os métodos de quantificação de nitrito e nitrato são relativamente fáceis, embora o método de nitrato necessite da separação e acidificação da alíquota a ser injetada 48h após a amostragem. O método de amônia requer a manipulação de produtos químicos perigosos, como fenol e nitroprussiato, é propenso a problemas de interferência e necessita da adição de ácido sulfúrico à alíquota após a amostragem. O método de TKN é comumente utilizado para quantificação de nitrogênio em compostos orgânicos. Este método é aprovado pela US Environmental Protection Agency (EPA) e é extremamente trabalhoso e os valores são facilmente distorcidos, independente da faixa de concentração, necessitando ainda da utilização de reagentes químicos perigosos, como óxido de mercúrio, ácido sulfúrico, sulfato de cobre, ácido bórico, nitroprussiato e fenol. Antes da análise por TKN, a amostra deve ser tratada por pelo menos 60

minutos com estes reagentes químicos em altas temperaturas. Além disso, deve-se levar em conta o custo destes produtos, amostragem múltipla, remoção dos resíduos desta análise e equipamentos para realização de todos estes métodos. Todos estes métodos são aprovados pelo EPA, e um único analista demoraria pelo menos 8 h para concluir todos os processos, o que prova ser um custo elevado para a quantificação de uma única concentração de nitrogênio total.

No LAQUATEC dispõe-se de um analisador de carbono com módulo de nitrogênio total (TMN-1), da marca Shiamadzu, que permite quantificar a concentração de TN em menos de quatro minutos, sem a utilização de reagentes químicos e produção de resíduos perigosos.

Conforme o método da American Society for test Method's (ASTM) D5176, o TNM-1 utiliza a combustão catalítica e a detecção por quimiluminescência. Todos os subprodutos atravessam absorvedores antes de sua liberação para a atmosfera, desta forma, não há produção de resíduos perigosos resultante da análise. O limite de detecção inferior do TNM-1 é de 0,05 ppm e superior de 4000 ppm quando é utilizado o recurso de diluição automática.

### **3. Materiais, instrumentação e princípio de funcionamento.**

O sistema analisador e o princípio de funcionamento são descritos neste item, o detalhamento do funcionamento do analisador pode ser encontrado no *Manual de Procedimentos do Analisador de Carbono Total TOC -V<sub>CPN</sub>* (Alcaide; Forti, 2012) disponível na Biblioteca Digital do INPE ou na página do CST/LAQUATEC.

#### **3.1 Analisador de nitrogênio TMN-1**

Várias empresas fabricam analisadores para a determinação de nitrogênio total em amostras líquidas. O sistema mais apropriado deve ser selecionado com base nos tipos de amostra a serem analisadas, faixa de concentração esperada e as formas de nitrogênio a ser determinado.

No LAQUATEC está disponível o analisador de nitrogênio total TNM-1, Figura 4.1 (a). Este módulo funciona em conjunto com o analisador de carbono total TOC – V<sub>CPN</sub>, Figura 4.1(b).





Figura 4.1 – Analisador de nitrogênio total TNM-1 (a) e analisador de carbono orgânico total- TOC – V<sub>CPN</sub>(b), da marca Shimadzu.

Com o TOC – V<sub>CPN</sub> é possível quantificar as concentrações de TC, TOC, IC e NPOC através da oxidação dos compostos orgânicos presentes na amostra, formando  $CO_2$ . Este  $CO_2$  é detectado por espectroscopia de infravermelho, através de um sensor infravermelho não dispersivo (*nondispersive infrared sensor* – NDIR). Com o TNM-1 a concentração de TN é quantificada através da combustão de nitrogênio contido na amostra, formando óxido nítrico ( $NO$ ), que na presença de ozônio é oxidado novamente para a formação de óxido nítrico ( $NO_2$ ). Este  $NO_2$  é detectado por quimiluminescência. As quantificações de TC, TOC, IC, NPOC e TN podem ser feitas simultaneamente ou individualmente, dependendo do objetivo da análise.

A amostra contendo nitrogênio é injetada em um forno, a alta temperatura, onde sofre combustão catalítica a  $720^\circ C$ . A pirólise oxidativa causa a conversão de nitrogênio em óxido nítrico ( $NO$ ).



O  $NO$  é oxidado na presença de ozônio a óxido nítrico ( $NO_2$ ). Durante esta reação a energia química é transformada em energia em eletromagnética (quimiluminescência), detectada pelo detector.



Um pico é produzido e a área abaixo deste pico é proporcional à concentração de nitrogênio total na amostra, Figura 4.2.

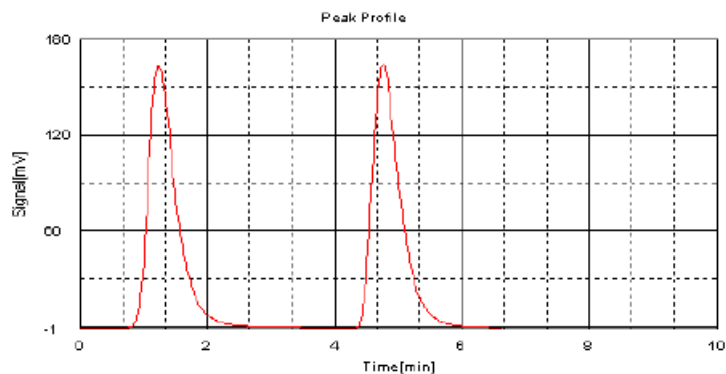


Figura 4.2 – Dois picos de TN produzidos utilizando o TNM-1.

#### 4. Vidrarias

As vidrarias necessárias a este método são destinadas para a preparação de soluções padrão primária e demais padrões, como pisseta, béquer, balão volumétrico e bastão de vidro. Como o analisador de nitrogênio TNM -1 é um acessório do analisador de carbono total TOC –  $V_{CPN}$  do LAQUATEC e possui o amostrador de injeção automática ASI-V, faz-se necessário a utilização de *vials*. O rack disponível é para *vials* de capacidade volumétrica de 40 mL. A vidraria deve ser de uso exclusivo para este protocolo, isto é, não deve ser misturada à vidraria de outros métodos.

#### 5. Reagentes

##### 5.1 Água reagente

Água tipo II ou deionizada. Esta água é utilizada nos reservatórios do equipamento, bem como na preparação dos padrões e diluição de amostras e deve ser livre de impurezas, principalmente da presença de qualquer tipo de carbono que possa influenciar no resultado da análise. A concentração de TOC neste tipo de água não poderá ser superior a  $0,5 \text{ mg. L}^{-1}$ .

##### 5.2 Solução de Ácido Clorídrico (HCl) 2 M:

Fazer a diluição do HCl vendido comercialmente (concentração 12 M) com água reagente 1:5 (ou seja, uma parte de ácido para cinco de água reagente). A precisão da concentração final aceitável é de  $\pm 2 \%$ .

**Importante:** como qualquer outro ácido, o *HCl* é uma substância altamente perigosa e, portanto, exige algumas precauções para o seu manuseio. Antes da diluição desta substância, favor consultar o *Protocolo de Segurança do Laboratório de Aerossóis, Soluções Aquosas e Tecnologias – LAQUATEC* (Forti; Alcaide, 2011), disponível na Biblioteca Digital do INPE ou na página do CST/LAQUATEC.

### **5.3 Padrão Primário TN (1000 ppm):**

Pesar aproximadamente 7,219 g de Nitrato de Potássio ( $KNO_3$ ) em balança analítica. Secar o reagente em estufa, por uma hora, entre 105-110 °C. Esfriar em dessecador. Diluir com água reagente, em balão volumétrico, até completar 1 L de solução.

### **5.4 Branco:**

Usar a mesma água reagente utilizada para as diluições nas preparações de soluções estoque e padrão.

## **6. Coleta, preservação e manipulação das amostras.**

Todas as amostras aquosas de devem ser coletadas e/ou preparadas como descrito no manual do LAQUATEC intitulado *Coletas, Preparação e análises de amostras de água* (Forti; Alcaide, 2012), disponível na Biblioteca digital do INPE ou do CST/LAQUATEC.

As amostras devem ser coletadas e armazenadas preferencialmente em recipientes de vidro ou de polietileno de alta densidade. A amostragem ou armazenamento de amostras em recipientes plásticos como os de polietileno convencionais somente é permitido se é garantido que o recipiente não contribua na contaminação orgânica das amostras.

Devido à possibilidade de oxidação ou decomposição bacteriana de alguns componentes das amostras aquosas, o tempo entre a coleta das amostras e o início das análises deve ser minimizado. Além disso, as amostras devem ser mantidas refrigeradas (4 °C) e protegidas da luz solar e oxigênio atmosférico.

## **7. Procedimento**

### **7.1 Filtração e homogeneização das amostras**

Como o sistema de injeção de amostras do equipamento é formado por capilares de Teflon com diâmetro interno de 0,5 mm, sempre filtrar as amostras que contenham partículas maiores que este diâmetro antes da injeção no TOC. Lembrar que o filtro a ser utilizado para análise de TOC deve ser isento de carbono, de preferência filtro de fibra de vidro ou quartzo, previamente calcinados, com diâmetro de poro menor de 0,5 mm. Assim, antes das análises, todas as amostras devem ser previamente filtradas em filtros de fibra de vidro, por exemplo, do tipo GF/F (0,7 µm de diâmetro de poro) ou GF/D (2,7 µm de diâmetro de poro) ou tipo AP40 (Millipore sem resina ligante), para evitar entupimento no sistema de injeção do equipamento.

### **7.2 Procedimento de análise**

Deve-se estimar primeiramente faixa de concentração a ser determinada. Com esta definição, os padrões são preparados (ver seção 6 deste documento para consultar sobre a preparação de cada padrão) para a calibração do equipamento. Realizada a curva de calibração do equipamento, preparam-se os *vials* contendo as amostras para as análises. Se a faixa de concentração estimada for a real prossegue-se na análise de outra forma deve-se recommençar o procedimento.

Os procedimentos de operação do analisador de carbono disponível no LAQUATEC estão detalhadamente descritos no *Manual de Procedimentos do analisador de carbono total TOC -V<sub>CPN</sub>* (Alcaide; Forti, 2012), disponível na Biblioteca digital do INPE ou página do CST/LAQUATEC.

## **8. Controle de Qualidade**

Para manter o controle da qualidade durante a bateria de amostras, verificar a calibração com a injeção de padrões e amostras certificadas a cada batelada. O total de amostras controle (branco de laboratório, branco de campo e leitura de amostras de validação ou certificada) deve ser no mínimo 10% do total de amostras da bateria de amostras.

## **9 Desempenho e validação dos métodos**

Parâmetros de desempenho e validação do método tais como precisão e exatidão deverão ser calculadas segundo o documento *Validação de métodos analíticos do laboratório de aerossóis, soluções aquosas e tecnologias – LAQUATEC* (Forti; Alcaide, 2011), disponível na Biblioteca Digital do INPE e na página do CST/LAQUATEC.

## REFERÊNCIAS

EPA, United States Environmental Protection Agency. Method 9060 – Total Organic Carbon. Disponível em: < <http://www.caslab.com/EPA-Methods/PDF/EPA-Method-9060.pdf> >. Acesso em: 25 jul 2011.

FORTI, M. C.; ALCAIDE, R. L. M. Coletas, Preparação e análises de amostras de água. São José dos Campos: INPE, 2012.

FORTI, M. C.; ALCAIDE, R. L. M. Manual de Procedimentos do Analisador de Carbono Total TOC -V<sub>CPN</sub>. São José dos Campos: INPE, 2012.

FORTI, M. C.; ALCAIDE, R. L. M. Protocolo de segurança do laboratório de aerossóis, soluções aquosas e tecnologias - LAQUATEC. São José dos Campos: INPE, 2011. v. 1, 37 p. (sid.inpe.br/mtc-m19/2011/06.03.13.24-MAN). Disponível em: <<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/39QJ5PL>>. Acesso em: 16 dez. 2011.

FORTI, M. C.; ALCAIDE, R. L. M. Validação de métodos analíticos do laboratório de aerossóis, soluções aquosas e tecnologias - LAQUATEC. São José dos Campos: INPE, 2011. v. 1, 52 p. (sid.inpe.br/mtc-m19/2011/06.03.13.48-NTC). Disponível em: <<http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/39QJ7P2>>. Acesso em: 16 dez. 2011.

SHIMADZU, PC – Controlled Total Organic Carbon Analyser - TOC – VCPH/CPN & TOC – Control V Software. Manual do Usuário. 394p. Shimadzu Corporation – Analytical & Measuring Instruments Division, Kyoto, Japan, 2003.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 20th Edition, 4500-N Nitrogen, pages 4-99-110 and 4-124-127.