

DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y AMONIO EN MUESTRAS DE SUELO MEDIANTE EL USO DE ELECTRODOS SELECTIVOS

Gloria Arango Pulgarín¹ ; Juan Carlos Pérez Naranjo²

RESUMEN

Con el objetivo de evaluar un método alternativo para la cuantificación de diferentes formas de nitrógeno, se determinó la concentración de nitratos (NO_3^-) y amonio (NH_4^+) por dos métodos: Colorimetría y Electrodo de Ión Selectivo (EIS), en muestras de suelos cultivados con flores o banano en el departamento de Antioquia, Colombia.

Se realizaron análisis de regresión y correlación para las concentraciones obtenidas por los dos métodos, que mostraron una asociación altamente significativa entre ellos. La determinación de NO_3^- mediante la formación de complejo coloreado con brucina ácida o mediante el uso de un electrodo selectivo para nitratos presentó un coeficiente de determinación altamente significativo ($R^2 = 99,2$). En forma similar, la determinación de NH_4^+ basada en la formación de complejo coloreado azul de indofenol ó utilizando el electrodo para amoniaco presentó un valor de $R^2 = 98,4$. El uso de electrodos presenta ventajas en comparación con las técnicas colorimétricas, que requieren mucho más tiempo y equipos mas costosos.

Palabras clave: Nitrógeno, análisis de suelos, nitratos, amonio.

¹ Laboratorista. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín. Facultad de Ciencias. A. A. 3840. Medellín, Colombia. <garango@unalmed.edu.co>

² Profesor Asistente. Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín Facultad de Ciencias. A. A. 3840. Medellín, Colombia. <jcperez@unalmed.edu.co>

ABSTRACT

NITRATE AND AMMONIUM DETERMINATION IN SOILS USING ION SELECTIVE ELECTRODES

In order to evaluate an alternative method for quantifying different forms of nitrogen, the concentrations of nitrates (NO_3^-) and ammonium (NH_4^+) were determined by two methods: Colorimetry and Ion Selective Electrode (ISE), in soil samples from soils cultivated with flowers or banana in the department of Antioquia, Colombia.

Regression and correlation analyses on the concentrations obtained from the two methods showed highly significant relationships among them. The determination of NO_3^- by means of colored complexes with brucine acid or by means of the use of an electrode selective for nitrates exhibited a highly significant coefficient of determination ($R^2 = 99.2$). In a similar way, determination of NH_4^+ based on the formation of blue colored complexes of indophenol or employing the electrode for ammoniac yielded a value of $R^2 = 98.4$. The use of electrodes has advantages over the colorimetric techniques, that require much more time and more costly equipment.

Key words: Nitrogen, soil analyses, nitrates, ammonium.

INTRODUCCIÓN

La determinación de NO_3^- y NH_4^+ en suelos se fundamenta en la formación de complejos coloreados con estos iones. La intensidad del color desarrollado se compara con aquel que presentan soluciones estándar y en esta forma se puede estimar la concentración en muestras desconocidas.

La determinación de NH_4^+ se basa en la formación del complejo coloreado (azul de Indofenol) que se desarrolla por la reacción entre amoníaco, hipoclorito de sodio y fenol en presencia de nitroprusiato de sodio. En forma análoga, el ion NO_3^- forma un complejo acuoso de color amarillo, que se desarrolla por la reacción de este ion con ácido sulfúrico y Brucina en presencia

de ácido sulfamílico (para evitar interferencias de ión nitrito). La intensidad del color se determina en espectrofotómetro UV-VIS.

Aunque ampliamente usados, estos métodos son relativamente costosos y requieren de un tiempo considerable para la formación del complejo coloreado. El desarrollo de electrodos selectivos (EIS) provee una herramienta alternativa para estos análisis y es posible obtener niveles de exactitud y precisión ± 2 ó 3% para la concentración de algunos iones. Su funcionamiento se basa en la respuesta selectiva a una especie presente en la solución. Están contruidos con una membrana que separa la muestra problema y el interior del electrodo, el cual contiene una solución con actividad constante del ión de interés. La parte

externa está en contacto con una muestra de composición variable y la diferencia de potencial a través de la membrana depende de la diferencia en la actividad de la especie del analito entre la solución interna y la muestra problema.

Este potencial de electrodo está descrito por la ecuación de Nerst: (Skoog; West y Holler, 1995), donde:

$$E = \text{Constante} - [(2.303 RT) / F] * \log (A \text{ ión}) \quad (1)$$

Constante: Potencial debido al electrodo de referencia mas la solución interna del electrodo de ión específico:

A: actividad del ión de interés

R: Constante de gases $8,314 \text{ J mol}^{-1} \text{ }^{\circ}\text{K}^{-1}$

T: Temperatura en grados Kelvin

F: Constante de Faraday: $96,5 \text{ J mol}^{-1} \text{ mV}^{-1}$

Al sustituir los valores de estas constantes tenemos:

$$E = \text{Constante} - 0,0592 * \log (A \text{ ión}) \text{ a } 25 \text{ }^{\circ}\text{C} \quad (2)$$

Con esta técnica es importante considerar que: condiciones como temperatura, volumen de muestra y profundidad del electrodo deben permanecer constantes. Debido a que los métodos colorimétricos han sido ajustados o estandarizados para determinar NO_3^- y NH_4^+ en los laboratorios de suelos del país, las determinaciones así obtenidas pueden usarse como referencia para validar las determinaciones de estos mismos iones por potenciometría de ión selectivo.

El objetivo de este trabajo fue comparar las concentraciones de N-NO_3^- y de N-NH_4^+ ,

obtenidas en muestras de suelo empleando métodos colorimétricos, con aquellas que se encuentran al utilizar electrodos selectivos para cada ión.

MATERIALES Y METODOS

Equipos y procedimientos de calibración

Colorimetría. Se utilizó un espectro fotómetro UV-VIS Lambda 1®, y para su calibración se desarrollaron líneas de regresión entre absorbancia y concentración de las soluciones estándar: 0,5; 1,0; 2,0 mg l^{-1} N-NO_3^- y 1,0; 2,0; 4,0; 8,0; 10,0 mg l^{-1} N-NH_4^+ , preparadas a partir de KNO_3 y NH_4Cl . Las lecturas se realizaron en longitudes de onda de 410 y 660 nm respectivamente. Los coeficientes y las líneas de regresión se presentan en la Tabla 2 y Figura 1A.

Electrodo de ión selectivo (EIS). Se utilizó un electrodo para la detección de amoníaco (NH_3) Orion 95-12® con membrana de difusión para gas. Para detección de Nitratos (NO_3^-) se empleó un electrodo Orion 93-07® Ion/plus con modulo sensante reemplazable con membrana (gel organofílico), que contiene intercambiador selectivo de ión Nitrato. Ambos electrodos se acoplaron a un medidor específico Orión Ión/pH 920A portable®.

Para la calibración de los EIS se prepararon soluciones estándar con concentraciones que variaron en un factor de 10 (Figura 1B), se tomaron 50 ml de cada una y se adicionó solución ISA (Ionic Strength Adjuster): 2 ml de NaOH 10 N para N-NH_4^+ y 1 ml de $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2 M para N-NO_3^- . Se agitó en un equipo magnético con barras recubiertas de teflón hasta obtener una lectura estable y se registró el valor del potencial. Se relacionaron gráficamente el

logaritmo de la concentración y el potencial (mV), cuya pendiente debe presentar un valor entre -54 a -60 mV (Tabla 2).

Para ambos métodos, con las ecuaciones de regresión generadas al relacionar concentración y absorbancia o potencial, se estimó posteriormente la concentración de N-NH_4^+ o N-NO_3^- en cada muestra de suelo.

Muestras de suelo. Todas las muestras utilizadas en este trabajo provienen de suelos del departamento de Antioquia cultivados con flores (andisoles) en el oriente antioqueño cultivados con banano (principalmente inceptisoles) en la zona de Urabá. Antes de los análisis se secaron a 50°C , molieron y tamizaron en malla de 2 mm. La Tabla 1 presenta la información relacionada con estas muestras.

Tabla 1. Origen y algunas características de los suelos empleados en la comparación de métodos de laboratorio para determinar nitratos y amonio.

Parámetros estadísticos	Determinación			
	pH	N-NO ₃ ⁻	N-NH ₄ ⁺ ⁽¹⁾	Arcilla ⁽²⁾
		mg l ⁻¹		%
<i>Muestras de suelos cultivados con banano</i>				
Media	4,7 (20) ⁽³⁾	42,9	10,8	37,8
Rango	4,3-5,2	5-77	5-19	28-54
Desviación estándar	0,25	25	4,1	8,28
<i>Muestras de suelos cultivados con flores</i>				
Media	6,08 (7)	103	14,7	-
Rango	5,6-6,7	8-284	9-26	-
Desviación estándar	0,58	96	6,1	-

$^{(1)}$ Las determinaciones de amonio solo se realizaron en 24 de las 27 muestras.

$^{(2)}$ Los contenidos de arcilla no se determinaron en las muestras de suelos cultivados con flores.

$^{(3)}$ Los valores entre paréntesis corresponden al número de muestras según el origen.

Extracción y determinación de nitratos y amonio en muestras de suelo. Para la determinación de NH_4^+ se utilizaron 24 muestras en las que se realizó la extracción mediante el siguiente procedimiento: a 10 g de suelo se adicionaron 100 ml de solución de KCl 1,0 N, luego se agitó constantemente durante 10 minutos y se filtró. Del filtrado se tomaron dos alícuotas, una de

50 ml para la determinación por EIS y otra de 2 ml para la determinación por el método colorimétrico (azul de indofenol), de acuerdo a Kempers (1974).

Para la determinación de NO_3^- se utilizaron 27 muestras y se realizó la extracción tomando de cada una 40 g de suelo, se adicionaron 100 ml de $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ 0,025F, se

agitó constantemente durante 30 minutos y luego se filtró. Del filtrado se tomaron dos alícuotas, una de 50 ml para la determinación por EIS y otra de 1 ml (diluido hasta 50 ml) para la determinación por colorimetría (brucina ácida) como lo describió Baker, (1969).

Los extractos de suelo se analizaron en las mismas condiciones que los estándares. Con las concentraciones de N-NO_3^- y N-NH_4^+ obtenidas por cada método se estimaron límites de confianza y se realizaron análisis de regresión y correlación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Calibración de equipos. En la Tabla 2 se presentan los parámetros obtenidos durante el procedimiento de calibración de los equipos. En la Figura 1 se pueden observar las líneas de regresión obtenidas al relacionar concentraciones conocidas en soluciones patrón, con los valores de absorbancia (espectrofotómetro) o potencial (electrodos selectivos) en cada equipo.

Tabla 2. Parámetros obtenidos durante el procedimiento de calibración de los equipos empleados en la comparación de métodos de laboratorio para determinar nitratos y amonio.

Equipo	Ión	Pendiente	r^2
Espectrofotómetro UV-VIS (Lambda 1®)	N-NH_4^+	0,092	99,82
	N-NO_3^-	0,26	99,89
Orion 95-12®	N-NH_4^+	-55,1	99,93
Orion 93-07® Ion/plus	N-NO_3^-	-58,2	99,84

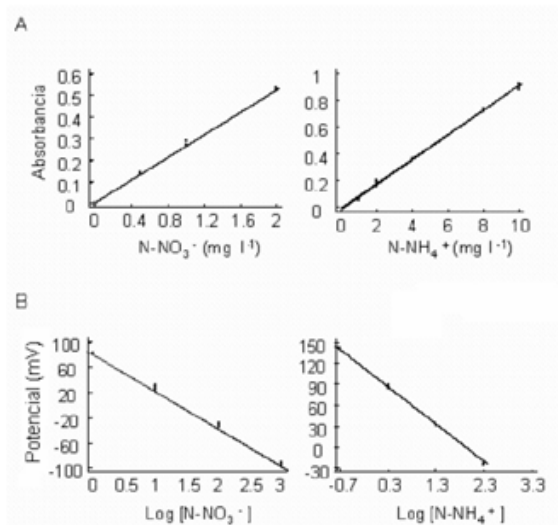


Figura 1. Líneas de regresión obtenidas durante el procedimiento de calibración de los equipos empleados en la comparación de métodos de laboratorio para determinar nitratos y amonio. A: espectrofotómetro Lambda UV VIS. B: Eléctrodos de ión selectivo.

Determinación de nitratos y amonio en muestras de suelo.

Los análisis de regresión y correlación permitieron observar una buena correspondencia entre las determinaciones realizadas por ambos métodos, con coeficientes de determinación altamente significativos. Los valores de amonio presentaron un valor de la pendiente muy cercano a 1 (0,94 unidades de amonio determinadas por el método colorimétrico, por

cada unidad de amonio cuantificada con el electrodo selectivo, con límites de confianza muy estrechos (Tabla 3). Este resultado es consistente con el presentado por Woods y Cummings (1972), quienes comparan valores de nitrógeno amoniacal en presencia de urea, realizados por EIS y método de destilación a presión reducida, mostrando así que los dos métodos no difieren significativamente.

Tabla 3. Valores de la pendiente y parámetros estadísticos para las líneas de regresión obtenidas al relacionar los valores generados por ambos métodos de cuantificación de nitrato y amonio.

Forma de nitrógeno	Valor de la pendiente	Intervalos de confianza (+/-)	Error estándar	Valor de <i>p</i>
N-NO ₃ ⁻	0,76	0,036	0,013	0,000
N-NH ₄ ⁺	0,94	0,054	0,026	0,000

Los valores de nitratos obtenidos por el método colorimétrico siempre fueron menores que los obtenidos por EIS (Figura 2) con una pendiente (b) de 0,76. De acuerdo con Miller y Miller (1993), se debe considerar que los límites de confianza son mas importantes que el valor de la pendiente, ya que algunas líneas de regresión son ligeramente curvadas y pueden presentar valores de uno para el coeficiente de regresión. Con esta consideración se puede afirmar que ambos métodos presentan una muy buena asociación. Es importante considerar que la mayor interferencia en la determinación de nitratos se puede presentar por un alto contenido de ión cloruro, como lo señala Raveh (1973), quien indica que se registran mayores contenidos de nitrógeno nítrico con la presencia de iones cloruro o acetato. Esta situación es importante en este trabajo ya que en algunos de los

suelos utilizados se aplican cantidades altas de fertilizantes que contienen cloruros. También es posible que los valores de nitratos medidos con EIS sean más altos debido a la presencia de nitritos en las muestras. Shen; Ran y Cao (2003) demostraron que la acumulación alta de nitritos se da en suelos con pH alto, y en algunas de las muestras analizadas aquí es posible encontrar valores de pH superiores a 6,5. Por otra parte esa interferencia por el ión nitrito es mas probable en muestras con concentraciones bajas de nitratos, que en este estudio corresponden a las muestras con valores mas bajos de pH (Tabla 1). Francis y Malone (1975) plantean que a concentraciones de nitrato mayor que $1,2 \times 10^{-3}$ M (16,8 mg N-NO₃⁻ l⁻¹), no es crítica la presencia de sulfanilamida para evitar las interferencias por nitritos. Este reactivo se empleó en este trabajo para las determina-

ciones realizadas por el método colorimétrico para evitar las interferencias por la presencia de nitritos, pero no en la determinación por EIS, ya que no es recomendado por el fabricante del electrodo. Posiblemente es por ello que se encuentran valores más bajos de nitratos con el método colorimétrico, pero indudablemente la interferencia puede existir al realizar

las lecturas con el electrodo y en trabajos posteriores debería considerarse esta situación. Otras propiedades del suelo parecen interferir poco con las determinaciones. Los estudios realizados por Mack y Sanderson (1971) demostraron que el material coloidal suspendido, pH y granulometría del suelo poco interfieren en las determinaciones de nitratos por EIS.

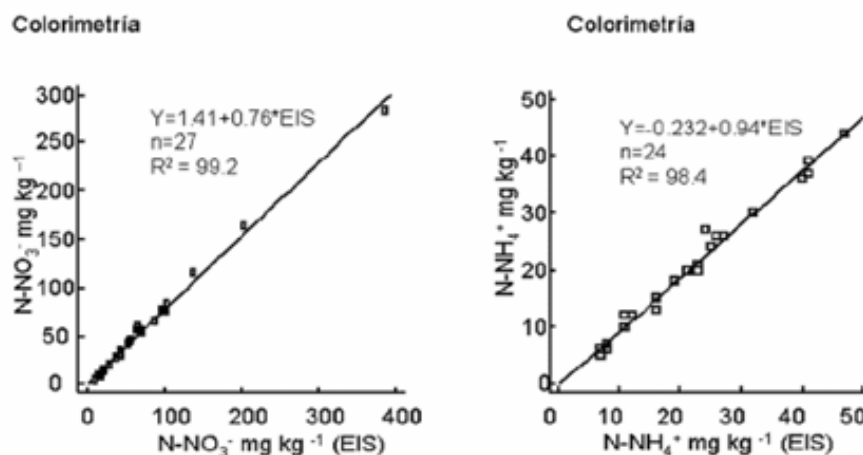


Figura 2. Líneas de regresión para las determinaciones realizadas por cada método analítico utilizado para la determinación de nitratos y amonio.

Ambos electrodos pueden ser utilizados en forma confiable, ya que según los límites de confianza estimados para cada conjunto de valores, la determinación de amonio y nitratos no se desvía más allá de un 5,4 y 3,5 % respectivamente. Sin embargo, en el caso de las determinaciones de N-NO₃⁻ es necesario realizar experimentos controlados para conocer los niveles de interferencia por la presencia de iones NO₂⁻ y Cl⁻.

Comparado con otras técnicas analíticas, el uso de EIS presenta varias ventajas: es relativamente barato y simple, con un es-

pectro muy amplio de aplicación y uso en concentraciones que pueden variar en un rango muy amplio. Con calibración frecuente se pueden obtener niveles de exactitud y precisión ± 2 o 3 % para algunos iones y así pueden compararse favorablemente con otras técnicas analíticas que requieren instrumentación más compleja y costosa. Adicionalmente el tiempo requerido para los análisis puede ser de 10 a 12 minutos en cada muestra, mientras que en las técnicas colorimétricas el tiempo de preparación de muestras y desarrollo de color puede tomar aproximadamente una hora.

Agradecimientos

Este trabajo se realizó gracias al apoyo del profesor Orlando Ruiz Villadiego, Director del Laboratorio de Suelos de la Universidad Nacional de Colombia, Sede Medellín, quien facilitó la adquisición de algunos equipos y la participación del primer autor en esta investigación.

BIBLIOGRAFÍA

- BAKER, A. S. Colorimetric determination of nitrate in soil and plant extracts with brucine. *En: Journal of Agriculture and Food Chemistry*. Vol. 17 (1969); p. 802.
- FRANCIS, C. W. and MALONE, C. D. Nitrate measurements using a specific ion electrode in presence of nitrite. *En: Soil Science Society of America Proceedings*. Vol. 39 (1975); p. 150-151.
- KEMPERS, A. J. Determination of sub – microquantities of ammonium and nitrates in soils with fenol, sodium nitroprusside and hypochlorite. *En: Geoderma*. Vol. 12 (1974); p. 201-206.
- MACK, A. R. and SANDERSON, R. B. Sensitivity on the nitrate-ion membrane electrode in various soil extracts. *En: Canadian Journal of Soil Science*. Vol. 51 (1971); p. 95-104.
- MILLER, J. C. and MILLER, J. N. Estadística para química analítica. 2ed. Estados Unidos: Addison- Wesley Iberoamericana, 1993. 506 p. ISBN 0-201-60140-0.
- RAVEH, A. The adaptation of the nitrate specific electrode for soil and plant analysis. *En: Soil Science*. Vol. 116, No. 5 (1973); p. 388-389.
- SHEN, Q. R.; RAN, W. and CAO, Z. H. Mechanisms of nitrite accumulation occurring in soil nitrification. *En: Chemosphere*. Vol. 50 (2003); p. 747–753.
- SKOOG, D. A., WEST, D. M. and HOLLER, F. J. Introducción a la electroquímica. p. 272-273. *En: Química Analítica*. 6 ed. México, D. F.: McGraw-Hill, 1995. 676 p. ISBN 970-10-0823-5
- WOODS, T.C. and CUMMINGS, J. M. Determination of ammonia nitrogen in the presence of urea with an ammonia electrode. *En: Journal of the AOAC*. Vol. 56, No. 2 (1972); p. 373-374.