

Diana Miguez\*, María José Martínez, Isabel Dó§

\* Laboratorio Toxicológico del Uruguay, Avenida Italia 6201, C.P. 11000, teléfono 598-6013724 int. 1318, dmiguez@latu.org.uy

§ Universidad de la República Uruguay, UdelAR, Facultad de Química, Departamento Estrella Campos, Cátedra de Química Analítica

## Introducción

El fósforo participa en procesos fundamentales del metabolismo de los seres vivos. Constituye en la mayoría de las aguas continentales el nutriente limitante de la producción primaria, resultando el principal responsable de la eutrofización artificial de estos ecosistemas. Su liberación desde los sedimentos contribuye a la eutrofización. Su aumento en el medio acuático está relacionado a diversas actividades humanas, principalmente al uso de detergentes y fertilizantes.

## Objetivo

Comparar dos métodos analíticos de determinación de fósforo: manual y por Análisis en Flujo (FA), pero partiendo de la misma digestión inicial. Disminuir los tiempos de análisis y la cantidad de reactivos a utilizar. Mejorar algunas cifras de mérito como precisión y exactitud.

## Digestión inicial

Al tratarse de una matriz sólida (sedimentos) las muestras son previamente mineralizadas por vía húmeda por medio del procedimiento de digestión manual utilizando ácido sulfúrico y nitrato de sodio, basado en AOAC 2016 método d. Una vez realizada la digestión, se agrega agua desionizada al matraz de digestión y se somete a ebullición para eliminar vapores nitrosos que pueden interferir en el desarrollo colorimétrico. Luego el pH de la solución es llevado a un valor de 3 con hidróxido de sodio. La solución es filtrada por papel Whatman nº 41 a un matraz aforado.

## Método de digestión manual y cuantificación por FIA

Las soluciones de las muestras ya digeridas son corrientes en el equipo FIA y en caso de ser necesario se hacen las diluciones correspondientes para llevar las concentraciones de las muestras al rango de la curva de calibración.

## Digestión interna en el equipo FIA

El método para la determinación de Fósforo Total se basa en la digestión de las diferentes formas de fósforo existentes y su conversión a ortofosfato. El fósforo orgánico se convierte a través de una digestión en línea por calor y radiación UV catalizada por persulfato. Los polifosfatos inorgánicos son convertidos a ortofosfato mediante digestión, también en línea, con ácido sulfúrico.

El ión ortofosfato ( $PO_4^{3-}$ ) reacciona bajo condiciones ácidas con molibdato de amonio y tartrato de antimonio y potasio para formar el complejo fosfomolibdato (ácido molibdofosfórico). Este complejo es reducido con ácido ascórbico (Mb VI pasa a Mb V) para dar un complejo azul que absorbe a 880 nm basado en ISO 15681. La absorbancia es proporcional a la concentración de ortofosfato en la muestra. Se realiza una curva de calibración en el rango de 0 a 1 mg/l, con fosfato de potasio monobásico anhidro ( $KH_2PO_4$ ).

## Medición por Análisis en Flujo

El equipo lleva a cabo la integración de las áreas obtenidas en función de la concentración de fósforo. Al obtener el resultado de área para la muestra el equipo automáticamente realiza la transformación matemática, de modo que se lee directamente el valor de la concentración de fósforo ( $\mu g/L$ ) en las muestras líquidas. Esta concentración es expresada como mg/kg de muestra teniendo en cuenta la toma inicial de sedimento para la digestión manual y las diluciones correspondientes.



## Método manual clásico

El fundamento del desarrollo colorimétrico es el mismo que fue explicado para el equipo FIA, pero basado en ISO 6878. La curva de calibración sigue un modelo matemático lineal y los resultados se expresan como mg/kg de fósforo (como P) en la muestra.

## Resultados y discusión

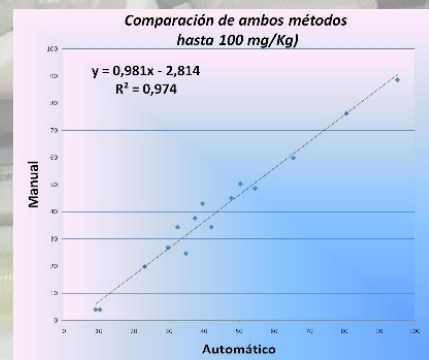
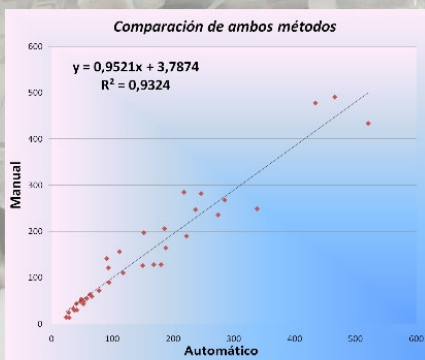
### Estudio de recuperación

Material de referencia certificado BCR®-684 (extractable phosphorus in sediment). El nuevo método desarrollado recupera levemente mejor el valor certificado (96 vs. 93 %).

### Estudio del límite de detección

Es equivalente en ambos métodos: 6 mg/kg

### Comparación de ambos métodos



Hay una muy buena correlación de los métodos hasta 100 mg/kg y es satisfactoria hasta 300 mg/kg.

### Prueba F para varianzas de dos muestras varianzas iguales

	Automático	Manual
Media	164	158
Varianza	1,92E+04	1,86E+04
Observaciones	44	44
Grados de libertad	43	43
F	1,03	
P(F<=f) una cola	0,46	
Valor crítico para F (una cola)	1,66	

### Prueba t para dos muestras suponiendo

	Automático	Manual
Media	164	158
Varianza	1,92E+04	1,86E+04
Observaciones	44	44
Varianza agrupada	1,89E+04	
Diferencia hipotética de las medias	0	
Grados de libertad	86	
Estadístico t	0,18	
P(T<=t) una cola	0,43	
Valor crítico de t (una cola)	1,66	
P(T<=t) dos colas	0,85	
Valor crítico de t (dos colas)	1,99	

## Conclusiones

Se concluye que no existen diferencias significativas tanto en los valores medios como en las varianzas de ambos grupos de datos, por lo que son métodos comparables. El tiempo insumido en el nuevo método desarrollado representa una disminución de 30-50% respecto al método clásico, lo que lo hace una muy buena opción para laboratorios de alta productividad.

## Referencias

- Conde D., Ganga J., Chelar G. Nitrógeno, Fósforo y Silicio. (1999). En: Alocena R. y Conde D. (Eds). Métodos en Ecología de aguas continentales. Instituto de Biología Sección Limnología. Universidad de la República. Facultad de Ciencias 233p.
- Eschev F. (1988). Fundamentos de Limnología. Ed. Intendencia Ltda. 574p.
- Si-Monior, Zhen-Hai U. (2005). "Trace and ultratrace analysis methods for the determination of phosphorus by flow injection techniques". Feb. 5, 2005. [www.sciencedirect.com](http://www.sciencedirect.com)
- QuikChem® Method 31-15-01-3-D.
- REC PC4PB 018 Protocolo de ensayo y calibración referente a la Determinación de Fósforo en efluentes mediante la utilización de FIA.
- APHA 4500-P. In-line UV/Persulfate Digestion and Flow Injection Analysis for Total Phosphorus. APHA 21ª Ed., 2005.
- APHA 4500-PE. Ascorbic Acid Method. APHA 21ª Ed., 2005.
- Association of Official Analytical Chemists, 19ª ed., chapter 2, page 10.
- International Standardization Organization, ISO 6878:2004 (E). standard Water Quality. Determination of Phosphorus- Ammonium molybdate spectrometric method.
- International Standardization Organization, ISO 15681:2003 (E). Water Quality. Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FA and CFA - Part 2. Method by continuous flow analysis (CFA).

**Nota** El trabajo fue realizado en el Departamento Aguas y Productos Químicos del LATU Museo Medio Ambiente. Se agradece el apoyo de la institución y en particular del personal del departamento y del departamento Medio Ambiente.