

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINACION DE NITRATOS EN AGUAS			
	Código: IN-GAA-195	Versión: 02	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 1 de 5

1. Objeto.

Determinar el contenido de nitratos en una muestra de agua, según el método de ácido Sulfosalicílico de acuerdo a lo establecido en la norma ISO 7890-3.

2. Alcance.

Este instructivo aplica para la determinación del ion nitrato en muestra de agua en las matrices no domésticas, doméstica, subterránea y superficial, que sean analizadas en el Centro de Calidad de Aguas.

3. Referencias Normativas:

- RODIER, J. Análisis del Agua. Ediciones Omega. Edición 9, ediciones omega. Barcelona 2011.
- American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. STANDARD METHODS: For the Examination of Water and Wastewater, 23rd Edition. American Public Health Association 800 I Street, NW. Washington D.C., 2017. ISBN 978-087553-287-5.
- ISO 7890-3 International Organization for Standardization, Determination of nitrate – spectrometric method using sulfosalicylic acid.

4. Definiciones.

- **Analito:** especie química que se analiza.
- **Blanco:** agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.
- **Blanco fortificado:** trazos gráficos de los resultados de las pruebas con relación al tiempo o secuencia de las mediciones, en donde se establecen límites estadísticos, que pueden ser preventivos, de peligro o de acción.
- **Calibración:** proceso mediante el cual se establece la relación entre la indicación de un instrumento o sistema, y el valor establecido para un patrón de medición.
- **Curva de calibración:** función matemática producida por la regresión de las respuestas del detector registradas durante la calibración de un instrumento, utilizando cantidades conocidas de un material de referencia certificado y/o solución de referencia.
- **Material de referencia certificado:** material de referencia, acompañado de un certificado, en el que una o más de sus propiedades está certificada por un procedimiento que establece trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la que se expresa dicha propiedad, y para el que cada valor certificado está asociado a una incertidumbre con un nivel de confianza determinado.
- **Muestra:** parte representativa de la materia objeto del análisis.
- **Muestra fortificada:** porción adicional de una muestra a la cual se le adiciona una cantidad conocida del analito de interés, la cual es adicionada antes de la preparación de la muestra.
- **NIST:** Instituto Nacional de Estándares y Tecnología.
- **Patrón:** medida materializada, instrumento de medición, material de referencia o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad, o uno o más valores de una magnitud para servir de referencia.
- **ISO:** International Organization for Standardization
- **SM:** Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINACION DE NITRATOS EN AGUAS			
	Código: IN-GAA-195	Versión: 02	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 2 de 5

5. Condiciones generales

5.1. Principio del método.

Medir los espectros del compuesto amarillo formado por la reacción del ácido Sulfosalicílico (formado por la adición de salicilato de sodio y ácido sulfúrico a la muestra) con nitrato y tratamiento posterior con álcali.

Sal di sódica, ácido etilendiaminotetraacético (EDTANa) se agrega con álcali para evitarla precipitación de sales de calcio y magnesio. Se añade nitrato de sodio para superar la interferencia de nitrito.

5.2. Interferencias.

El rango de concentración de sustancias comunes en muestras de agua ha sido probado para detectar posibles interferencias con este método. Las principales sustancias que interfieren son el cloruro, ortofosfatos, el magnesio y el manganeso (II).

Otras pruebas muestran que el método se puede aplicar a muestras de agua de hasta 150mg/L de fósforo total, siempre que se siga de la porción de prueba.

5.3. Muestreo, preservación y almacenamiento.

Tomar muestras representativas siguiendo las instrucciones dadas en el SM 1060. Las muestras se recolectan en recipiente de vidrio o plástico, y el muestreo puede ser puntual o compuesto. El análisis se debe iniciar tan pronto como sea posible, o refrigerar máximo por 48 horas; antes de iniciar el análisis se deben llevar las muestras a temperatura ambiente. Los resultados más confiables se obtienen con muestras frescas.

5.4. Materiales, Equipos y Reactivos

5.4.1. Materiales.

- Espátula
- Beaker de 50, 100 y 250 mL
- Balón aforados de 25, 50, 100, 250, 500 y 1000 mL
- Celda de cuarzo de 5cm
- Equipo de filtración al vacío
- Membranas de filtración de 0.2 micras

5.4.2. Equipos.

- Balanza analítica
- Horno de Secado
- Espectrofotómetro uv-vis
- Bomba de vacío.

5.4.3. Reactivos.

- Solución estándar *Certipur* de 1000 mg/L NO_3^-/L (225.8 mg $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$).
- Solución de referencia de nitratos de 100 mg NO_3^-/L (22.58 mg $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$): diluir 10 mL de la solución estándar *Certipur* de nitratos de 1000 mg NO_3^-/L , y aforar a 100mL con agua tipo II y/o destilada. Preservar agregando 1 mL de cloroformo CHCl_3/L . La solución es estable por lo menos seis meses.
- Solución madre de nitratos de 100 mg NO_3^-/L (22.58 mg $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$): pesar 0.1630g de nitrato de potasio, (KNO_3), previamente secado a 105°C durante 24 horas, disolver y diluir a 1L con agua tipo II y/o destilada. Preservar agregando 1 mL de cloroformo CHCl_3/L . La solución es estable durante seis meses.
- Solución de referencia de 0.790 mg $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$: transferir 3.50 mL de solución madre de 22.58 mg $\text{NO}_3\text{-N}/\text{L}$ (100 mg NO_3^-/L) a un balón aforado de 100 mL, y aforar con agua tipo II y/o destilada. Preservar agregando 1 mL de cloroformo CHCl_3/L . La solución es estable durante seis meses.

- Utilizar reactivos grado analítico y agua destilada y/o tipo II (conductividad específica no mayor a 2 $\mu\text{S}/\text{cm}$ a 25 °C).
- Ácido sulfúrico: 18 mol/L, $r = 1.84 \text{ g/ml}$.
- Ácido acético glacial: 17 mol/L, $r = 1.05 \text{ g/ml}$.
- Solución Alcalina: Disuelva 200 g de hidróxido de sodio granular en 800 ml de agua destilada. Luego 50 g de EDTANa (sal disodica del ácido etilendiamino tetraacético) hasta disolver la solución. Enfríe a temperatura ambiente y afora a 1 litro. Almacenar en botellas de polietileno. Este reactivo puede ser estable durante mucho tiempo.
- Solución de azida de sodio: Disuelva cuidadosamente 0.05 g de azida de sodio en aproximadamente 90 ml de agua y diluya a 100 ml con agua destilada en el matraz.
- Solución de Salicilato de Sodio: Disolver 1 g de salicilato de sodio en 100 ml de agua destilada. Preparar el día del análisis.
- Solución estándar de Nitrato: Disolver 7.215 g de Nitrato de potasio (KNO_3) (previamente secado a 105 °C durante al menos 2 horas) en aproximadamente 750 ml de agua. Transfiera toda la cantidad a un matraz volumétrico a 1 litro.
- Solución de sulfato de plata 0.025 N: Pesar 3.898 g de AgSO_4 disolver en agua tipo II y/o destilada y diluir a 1L.

6. Desarrollo.

A continuación, se presentan las actividades para desarrollar el análisis de nitratos en aguas:

6.1 Curva de Calibración.

A partir de la solución de *Certipur* de 100 mg NO_3^-/L (22.58 mg $\text{NO}_3^-/\text{N/L}$), preparar 50 ml de cada solución para la curva calibración, aforar al volumen con agua micro filtrada Ver tabla N° 1.

Tabla N° 1. Soluciones para curva de calibración de Nitratos

Volumen (mL) de S/n de 100 mg NO_3^-/L (22.58 mg $\text{NO}_3^-/\text{N/L}$),	Concentración mg $\text{NO}_3^-/\text{N/L}$.
0.0	0.0
0.5	0.226
1.0	0.452
1.5	0.677
2.0	0.903
2.5	1.13
3.5	1.58

- Medir de cada uno de los anteriores estándares un volumen de 5 mL en vasos de precipitado. Agregar a cada estándar 0.5 mL de Azida de sodio y 0.2 mL de ácido acético deje reposar durante al menos 5 minutos y luego evapore la muestra a sequedad en baño maría o en estufa graduada a 75 a 80 °C (no sobrecalentar, ni calentar durante mucho tiempo).
- Agregue 1 mL de solución de salicilato de sodio al 1%, mezcle bien y deje que la muestra se evapore a sequedad nuevamente en el horno.
- Enfriar los vasos y disolver el residuo con 1 mL de H_2SO_4 concentrado, dejando caer el ácido sobre toda la superficie del vaso de precipitado que contiene el estándar.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINACION DE NITRATOS EN AGUAS			
	Código: IN-GAA-195	Versión: 02	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 4 de 5

- Agitar y esperar 10 minutos, agregar a los vasos 10 mL de agua tipo II y/o destilada, y 10 mL de solución alcalina (desarrolla el color amarillo). Coloque la muestra en un baño de agua a temperatura ambiente por 10 minutos y afora a 25 ml, agitar para homogenizar la solución.
- En el espectrofotómetro hacer una curva de calibración y leer las absorbancias de los estándares a 415 nm, empleando una celda de cuarzo de 5 cm. Aceptar un coeficiente de correlación de la curva de calibración ≥ 0.995 .
- Usar un estándar o solución de referencia de chequeo para confirmar la curva de calibración.

Nota: la coloración amarilla es estable durante 1 hora.

6.2 Tratamiento de las muestras

- Tomar 5 mL de cada muestra, en un vaso de precipitado y realizar el procedimiento descrito en la Sección 6.1.
- Si el contenido de nitratos es alto, es necesario hacer una dilución previa a la digestión.
- Leer la absorbancia de las muestras en el espectrofotómetro a 415 nm empleando una celda de 5 cm. Calcular la concentración de Nitratos como nitrógeno por extrapolación en la curva de calibración.

6.2.1 Recomendaciones

- Si la muestra tiene una concentración en cloruros mayor a 200 mg/L, preparar una dilución de la muestra precipitando los cloruros con solución de sulfato de plata 0.025 N exenta de nitratos. Agitar la solución usando un agitador mecánico (minishaker) hasta observar que todo el cloruro presente en la muestra precipita totalmente. Dejar en reposo de 15 a 30 minutos y medir 5 mL de solución sobrenadante transparente. Tener en cuenta el factor de dilución, y realizar el procedimiento descrito en la Sección 6.1.
- El hierro interfiere por encima de 5 mg Fe/L. Si se presenta hierro por encima de esta concentración, eliminarlo agregando óxido de zinc, agitar, filtrar y realizar el procedimiento descrito en la sección 6.1.
- Si se realiza cualquiera de los tratamientos descritos anteriormente, hacer simultáneamente un blanco sometiéndolo a todos los pasos.

6.3 Cálculos

Calcular la concentración de nitratos en las muestras por medio de la curva de calibración.

$$\text{mg NO}_3^- \text{-N/L} = \text{mg NO}_3^- \text{-N/L} * \text{FD}$$

Dónde:

FD: Factor de dilución

6.4 Control de calidad requerido

Realizar duplicados aleatorios entre cada set de muestras analizadas. Evaluar este control de calidad según lo estipulado en el “*Instructivo para el aseguramiento de la validez de los resultados*”.

6.4.1 Blanco fortificado

Realizar el chequeo de la metodología, analizando una solución de referencia de nitratos de concentración conocida, destinada como blanco fortificado. Registrar los datos obtenidos en la bitácora del análisis, teniendo en cuenta el “*Instructivo general interpretación de cartas de control*”.

6.4.2 Incertidumbre

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINACION DE NITRATOS EN AGUAS			
	Código: IN-GAA-195	Versión: 02	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 5 de 5

La estimación de la incertidumbre para el análisis de nitratos en aguas – método de ácido sulfosalicílico, se desarrolla de acuerdo al “*Instructivo general estimación de incertidumbre*”

6.4.3 Reporte de resultados

Una vez realizados los cálculos y la revisión, para asegurar la calidad y confiabilidad de los mismos, el valor obtenido debe ser reportado, teniendo en cuenta el “*Instructivo general manejo de cifras significativas*”

Si durante la ejecución del análisis se presenta una situación anómala y/o se tiene información relevante que facilite la interpretación del resultado, se debe realizar la nota aclaratoria en la bitácora o en la plantilla de reporte de resultados.

7 Flujograma.

No aplica

8 Documentos de referencia

- Bitácora del análisis
- Bitácora del equipo
- Carta de control
- Instructivo general manejo de cifras significativas.
- Instructivo general estimación de incertidumbre.
- Instructivo general interpretación de cartas de control.
- Instructivo general para el aseguramiento de la validez de los resultados.

9 Listado de anexos.

Este documento no cuenta con anexos.

10 Historial de Cambios:

Versión	Fecha	Cambios	Elaboró / Modificó	Revisó	Aprobó
01	12/08/2021	Documento Nuevo	Joan Patiño <i>Responsable Unidad</i>	Karen Mendoza Prof. Calidad CCA	Juan Trujillo <i>Director CCA</i>
02	03/08/2022	Se ajustó la nomenclatura del blanco fortificado, el alcance y error tipográfico	Juan Arévalo <i>Analista</i>	Karen Mendoza Prof. Calidad CCA	Juan Trujillo <i>Director CCA</i>