



TÍTULO: DETERMINACION DE NITRATOS EN AGUAS POR
ESPECTROFOTOMETRIA UV

CÓDIGO: TP0092

VERSIÓN: 02

COPIA N°: _____
ELABORADO POR:

CARLOS HERNAN RODRIGUEZ
TECNICO QUÍMICO

REVISADO Y
ACTUALIZADO POR:

ROCIO DEL PILAR BOJACA
QUIMICA

APROBADO POR:

MARTA ELENA DUQUE SOLANO,
Coordinadora Grupo Laboratorio de
Calidad Ambiental

* Este documento debe ser revisado por lo menos cada **dos** años.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0092	Fecha de elaboración: 29/06/07	Versión: 02
NITRATO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA			

1. INTRODUCCIÓN:

La técnica de monitoreo espectrofotométrico ultravioleta (UV) mide la absorbancia del nitrato (NO_3^-) a 220 nm y es adecuada para la determinación rápida de NO_3^- y el monitoreo de aguas con bajo contenido de materia orgánica, como aguas naturales sin contaminar y fuentes de agua potable.

Debido a que la materia orgánica disuelta también puede absorber a 220 nm y a que el NO_3^- no absorbe a 275 nm, se usa una segunda medición a 275 nm para corregir el valor de NO_3^- . La aplicación de esta corrección empírica está relacionada con la naturaleza y concentración de materia orgánica y puede variar de una muestra a otra. Consecuentemente, este método no es recomendado si se requiere una corrección significativa para absorbancia de materia orgánica, aunque puede usarse en el monitoreo de niveles de NO_3^- en un cuerpo de agua con un tipo constante de materia orgánica. Los factores de corrección para la absorbancia de la materia orgánica se pueden establecer por el método de adiciones en combinación con el análisis del contenido original de NO_3^- por otro método.

La filtración de muestra tiene la intención de remover la posible interferencia de partículas suspendidas. La acidificación con HCl 1 N está designada para prevenir la interferencia de concentraciones de hidróxido o carbonato hasta de 1000 mg CaCO_3/L . El cloruro no tiene efecto en la determinación.

La técnica de monitoreo espectrofotométrico ultravioleta de NO_3^- obedece la ley de Beer entre 0.03 y 5 mg NO_3^-/L .

2. DEFINICIONES:

mg N- NO_3/L = miligramos de Nitrógeno como nitrato por litro.

LDM = Límite de Detección del Método

s = Desviación estándar

UV - VIS = Ultravioleta – Visible

3. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

El cuidado que se debe tener con los reactivos utilizados en la práctica se encuentra relacionado en el **Anexo No. 1 Fichas de Datos de Seguridad MERCK**, correspondientes al Nitrato de Potasio, Cloroformo y Ácido Clorhídrico

4. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0092	Fecha de elaboración: 29/06/07	Versión: 02
NITRATO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA			

4.1 La materia orgánica disuelta, los agentes tensoactivos, el NO_2^- , y el Cr^{6+} interfieren.

4.2 Varios iones inorgánicos que normalmente no se encuentran en aguas naturales, tales como clorito y clorato, pueden interferir. Se pueden preparar curvas de corrección individuales para compensar la interferencia de las sustancias inorgánicas, por medio de análisis independientes de sus concentraciones.

4.3 El método espectrofotométrico requiere una muestra ópticamente limpia, por lo cual las muestras turbias se deben filtrar a través de un filtro de membrana de 0,45 μm de diámetro de poro. Ensayar los filtros para contaminación por nitrato.

5. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Los datos que se presentan a continuación son el resultado del proceso de validación del método llevado a cabo en el Programa de Fisicoquímica Ambiental del IDEAM.

CUADRO PARÁMETROS DE VALIDACION DEL MÉTODO

NOMBRE DEL METODO:	NITRATO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA		
CÓDIGO DEL PSO:	TP0092		
FECHA DEL INFORME DE VALIDACIÓN:	Mayo 02 de 2000		
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACION
LIMITE DE DETECCION	0.03	mg N – NO_3^-/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISION EN TÉRMINOS DE %CV	5.3	%	0.1 mg N – NO_3^-/L
	0.3	%	4.0 mg N – NO_3^-/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	- 6.3	%	0.16 mg N – NO_3^-/L
	1.1	%	2.69 mg N – NO_3^-/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0.03 – 5.0	mg N – NO_3^-/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL METODO	0.03 - 50	mg N – NO_3^-/L	Con una dilución de 10 veces.
RECUPERACION EXPRESADO COMO %	87	%	0.5 mg N – NO_3^-/L
	94	%	1.5 mg N – NO_3^-/L

6. TOMA Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

Colecte la muestra en envase plástico de 500 mL lavado con H_2SO_4 .

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0092	Fecha de elaboración: 29/06/07	Versión: 02
NITRATO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA			

Iniciar las determinaciones de NO_3^- con prontitud después del muestreo.

Si es necesario el almacenamiento, guardar hasta por 24 h a 4°C; para almacenamientos más prolongados, preservar con 2 mL de H_2SO_4 concentrado por litro y almacenar a 4°C.

NOTA: Cuando la muestra se preserve con ácido, no se pueden determinar NO_3^- y NO_2^- como especies individuales.

7. APARATOS, REACTIVOS Y MATERIALES

7.1. Aparatos

- *Espectrofotómetro*, para usar a 220 nm y 275 nm con celda de cuarzo de 1 cm de longitud de paso óptico, lámpara de deuterio (amarilla en el equipo).
- Equipo de filtración al vacío

7.2. Reactivos

- *Agua libre de nitrato*. Usar agua UP para preparar todas las soluciones y diluciones.
- *Solución patrón de nitrato*. Secar nitrato de potasio (KNO_3) al 99% o mayor, en un horno a 105°C por 24 h. Disolver 0,1805 g en agua UP y diluir a 250 mL; 1,00 mL = 100 μg NO_3^- -N. Preservar con 0.5 mL de CHCl_3 /L. Esta solución es estable por lo menos 6 meses.
- *Solución intermedia de nitrato*. Diluir 100 mL de la solución patrón de nitrato a 1000 mL con agua UP; 1,00 mL = 10,0 μg NO_3^- -N. Preservar con 2 mL de CHCl_3 /L. Esta solución es estable por lo menos 6 meses.
- *Solución de ácido clorhídrico*, HCl, 1 N. Diluir 83 mL de HCl concentrado en 800 mL de agua UP, completar 1000 mL.

7.3. Materiales

- Balones aforados de 200, 100 y 50 mL.
- Pipetas aforadas de 25, 10, 3 y 2 mL
- Erlenmeyer de 125 mL
- Pipeta graduada de 10 mL
- Celda de cuarzo de 1 cm
- Pipeta Pasteur
- Vasos de precipitados de 100 mL
- Probeta de 25 mL
- Filtros de acetato de celulosa 0.45 μm

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0092	Fecha de elaboración: 29/06/07	Versión: 02
NITRATO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA			

8. PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA DE VIDRIERÍA:

Lave toda la vidriería con jabón alcalino, posteriormente déjelo en H₂SO₄ al 10 % por 30 minutos y enjuague muy bien con agua destilada. Reserve esta vidriería para la determinación de Nitratos y utilice únicamente a la que se le haya efectuado el control de calidad. Consultar el procedimiento TP0125 PSO Lavado Material de Vidrio.

9. PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES

A partir de la solución patrón de nitratos de 100 mg N – NO₃⁻/L, prepare las soluciones de trabajo de 0,03 - 0,10 - 2.0 y 5.0 mg N – NO₃⁻/L y elabore la curva de calibración.

- Prepare un estándar de 5,0 mg N – NO₃⁻/L a partir de la solución intermedia de 10 mg N - NO₂⁻/L, tome 25 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 50 mL, con agua UP.
- Prepare un estándar de 2.0 mg N – NO₃⁻/L a partir de la solución intermedia de 10 mg N - NO₂⁻/L, tome 10 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 50 mL, con agua UP.
- Prepare un estándar de 0,10 mg N – NO₃⁻/L a partir de la solución intermedia de 10 mg N – NO₃⁻/L, tome 2 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua UP.
- Prepare un estándar de 0.03 mg N – NO₃⁻/L a partir de la solución patrón de 2,0 mg N – NO₃⁻/L, tome 3 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua UP.
- Los estándares de control que se preparan con cada determinación son los de 0,20 y 1.00 mg N – NO₃/L, tomando alícuotas de 2 y 10 mL respectivamente del patrón intermedio de 10 mg N - NO₃/L y complete a volumen de 100 mL, registre los resultados en las cartas de control.

10. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

10.1 Preparación de la curva estándar.

- Mida 25 mL de cada uno de los estándares de trabajo (Ver Numeral 9) y transfíralos a un erlenmeyer de 125 mL
- Adicione 0.5 mL de solución de HCl 1 N y mezclar muy bien

10.2 Preparación de la Muestra.



- Solicite las muestras mediante el formato TF0061, deje aclimatar y filtre solo en el momento del análisis, a través de membrana de acetato de celulosa de 0.45 micrómetros. Las muestras con sólidos suspendidos abundantes, filtrelas primero con un prefiltro de fibra de vidrio.
- Filtre aproximadamente unos 100 mL de muestra.
- Con cada lote de muestras analice un blanco, un duplicado, un estándar de 0.2 mg/L y uno de 1.0 mg/L.
- Purgue una probeta de 25 mL con la muestra filtrada, blanco o estándar, mida 25 mL y trasfíralos a un erlenmeyer de 125 mL, reserve el resto del filtrado para posibles diluciones.
- Adicione 0.5 mL de solución de HCl 1 N y mezclar muy bien

10.3 Medición espectrofotométrica:

- Encienda el Espectrofotómetro UV-VIS con la lámpara de tungsteno, 45 minutos antes de iniciar las lecturas, tenga en cuenta el manual TM0166, cuyo diagrama de flujo está ubicado en la pared al lado del equipo, para especificar los rangos de medición. La lectura de nitrato debe hacerse a 220 y 275 nm. Cargue la última curva de calibración.
- Verifique que la celda de vidrio de 1 cm esté perfectamente limpia, si la observa manchada déjela en jabón, hágale un lavado con H₂SO₄ al 5% y enjuáguela perfectamente con agua desionizada.
- Para iniciar las lecturas fotométricas, coloque el blanco de reactivos en la celda, léalo como blanco, verifique la observación de una línea recta horizontal en el rango de la longitud de onda, inmediatamente léalo como muestra y codifíquelo como BLANCO, la absorbancia debe registrar cifras exponenciales de 10⁻⁴ y 10⁻⁵, continúe con los estándares de control en orden creciente desde el de más baja concentración, léalos como muestras, siguiendo las instrucciones del equipo.
- Almacene los datos en la carpeta del año correspondiente, en la sub carpeta Nitratos. Grabe la curva, los estándares y las muestras de dicha curva de calibración, archivándola por la fecha en que se realizó, dos dígitos para día, mes y año (dd/mm/aa), en las carpetas Curvas, Estándares y Muestras respectivamente. Imprima el reporte en papel y entréguelo al Líder de análisis para su aprobación.
- Registre los resultados de los estándares con 2 cifras significativas en la carta de control, verifique que los valores se encuentren dentro del rango de 2 (s) desviaciones estándar por encima ó por debajo, respecto del valor teórico esperado.
- Ajustar el cero de absorbancia con agua UP. Leer la absorbancia a una longitud de onda de 220 nm para obtener la lectura de NO₃⁻ y a una longitud de onda de 275 nm para determinar la interferencia debida a la materia orgánica disuelta. En

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0092	Fecha de elaboración: 29/06/07	Versión: 02
NITRATO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA			

muestras con absorbancia a 275 nm mayor a 0,200 uA diluya aunque el contenido de nitratos esté dentro del rango de medición.

11. PROCESAMIENTO DE DATOS Y CÁLCULO DE RESULTADOS:

El espectrofotómetro arroja resultados en mg N – NO₃/L de acuerdo al factor de dilución digitado en el momento de la lectura, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{mg/L N- NO}_3 = m \times (\text{Absorbancia}_{220 \text{ nm}} - (2 \times \text{absorbancia}_{275 \text{ nm}}))$$

m = inverso de la pendiente de la curva de calibración.

Absorbancia = Lectura realizada por el espectrofotómetro.

mg/L N- NO₃ = Concentración de nitratos calculada y registrada por el espectrofotómetro UV-VIS

11.1 Para obtener la absorbancia debida al NO₃⁻ en las muestras y los estándares, sustraer dos veces la lectura de absorbancia a 275 nm de la lectura a 220 nm. Construir la curva de calibración graficando la absorbancia debida al NO₃⁻ contra la concentración de NO₃⁻-N de los estándares. Con la absorbancia corregida de las muestras, obtener las concentraciones de las muestras directamente de la curva estándar.

NOTA: Tener en cuenta que la determinación sobre muestras preservadas con ácido sulfúrico a pH < 2 incluye el contenido de Nitritos, en muestras no preservadas solo se determinan los nitratos. Para reportar el resultado en los casos en que el dato de Nitritos sea mayor al límite de detección, se realiza la resta y se redondea a dos cifras significativas.

Escribir el resultado con dos cifras significativas, redondeando de acuerdo a los criterios establecidos en el procedimiento de lineamientos de control de calidad analítica TP0100.

12. SECCIÓN DE CONTROL DE CALIDAD (CC) Y ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Cuando realice la curva de calibración acéptela si tiene un coeficiente de correlación desde 0,999.

Los blancos se analizan para determinar si la calidad del agua y de los reactivos es óptima.

Verifique los estándares de control, si el resultado analítico cae fuera de los límites de control normales, deben revisarse estándares de calibración, material de vidrio, reactivos y blancos; el análisis solo se puede reanudar cuando se corrija el problema.

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0092	Fecha de elaboración: 29/06/07	Versión: 02
NITRATO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA ULTRAVIOLETA			

Los adicionados verifican si hay interferencias de matriz que afecten la recuperación de una cantidad conocida del analito. Las adiciones conocidas deben estar entre 5 y 50 veces el LDM o entre 1 y 10 veces el nivel ambiental, dependiendo del que sea mayor. No se deben emplear adiciones conocidas por encima del intervalo lineal demostrado del método. El porcentaje de recuperación de los adicionados se acepta entre 70 y 130%.

Los duplicados evalúan la limpieza del material de vidrio, la purga adecuada de la celda, la replicabilidad del método. Analice por duplicado el 10% o por lo menos 1 de las muestras. El porcentaje de la diferencia entre los duplicados no debe ser mayor al 10%, si la variación excede este límite, debe repetirse el análisis.

Lleve los registros de los estándares de control de 0.20 mg /L y 1,00 mg /L en la carta de control para la determinación de Nitratos por Ultra-violeta. Registre las iniciales del analista y la fecha de análisis en las celdas correspondientes y grafique el valor promedio diario de la concentración real del analito.

Cuando los resultados se encuentren entre el límite de alarma y control, revise todo el procedimiento para determinar que ocurre. Si cualquier dato cae fuera de los límites de control debe ser reexaminado y si es necesario, se debe repetir el análisis de todo el grupo de muestras, no realice más análisis hasta verificar que sucede; comuníquelo la anomalía al líder de análisis y revise, inicie nuevamente la marcha analítica cuando el líder lo ordene.

13. SECCIÓN DE REFERENCIA

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation*. 21ed., New York, 2005

Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes. United States Environmental Protection Agency. Cincinnati, 1983.

RODIER, J. Análisis de Aguas: aguas naturales, aguas residuales, agua de mar. Omega, Barcelona, 1981.

SAWYER, C.; McCARTY, P. Chemistry for Environmental Engineering. McGraw Hill, New York, 1996

GARAY, J.; PANIZZO, L.; LESMES, L.; RAMIREZ, G.; SANCHEZ, J. Manual de Técnicas Analíticas de Parámetros Físico-Químicos y Contaminantes Marinos. Centro de Investigaciones Oceanográficas e Hidrográficas. Cartagena, 1993