

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 1 de 14

1. OBJETIVO

Establecer la metodología para realizar la determinación de Nitrógeno como Nitratos en muestras de agua, según el Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta, SM 4500-NO₃ B, Ed. 23 de 2017.

2. ALCANCE

Esta técnica aplica solo a muestras con bajo contenido de materia orgánica como aguas superficiales no contaminadas o fuentes de agua potable y que tengan una concentración de nitratos mayor a 0,1 mg N-NO₃/L.

En la Tabla 1 se puede observar los resultados obtenidos en la validación del método.

Tabla 1. Resultados Validación del Método

CÓDIGO DEL INSTRUCTIVO DE ENSAYO: M-S-LC-073			
FECHA DE INFORME DE ESTANDARIZACIÓN: 15/11/2018			
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LÍMITE DE DETECCIÓN INSTRUMENTAL	0,00822	-----	
LÍMITE DE DETECCION DEL MÉTODO	0,066	mg N-NO ₃ /L	
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO	0,1	mg N-NO ₃ /L	
PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE % CV	2,81	%	Nivel de concentración bajo (0,2 mg N-NO ₃ /L)
	0,73	%	Nivel de concentración medio (2,5 mg N-NO ₃ /L)
	0,30	%	Nivel de concentración alto (4,0 mg N-NO ₃ /L)
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	0,99	%	Nivel de concentración bajo (0,2mg N-NO ₃ /L)
	1,17	%	Nivel de concentración medio (2,5 mg N-NO ₃ /L)
	0,58	%	Nivel de concentración alto (4,0 mg N-NO ₃ /L)
INTERVALO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0,1 – 5,0	mg N-NO ₃ /L	Sin dilución de la muestra
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	96,76	%	Nivel de concentración bajo
	98,69	%	Nivel de concentración alto

3. DEFINICIONES

Blanco = Es una alícuota de agua ultra pura procesada como si fuera una muestra más.

MFL = Matriz Fortificada de Laboratorio = es una muestra enriquecida con una concentración conocida del analito de interés, en este caso, una concentración de nitrato conocida.

DMFL = Duplicado de Matriz Fortificada de Laboratorio

Duplicado = Es una segunda alícuota de una muestra, solución o estándar.

CVS = Estándar de verificación de calibración.

ICB = Blanco de calibración inicial

CCV = Estándar de Verificación de Calibración Continua. Es un estándar para verificar que la calibración del equipo no se ha afectado durante el análisis de un lote de muestras.

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 2 de 14

CCB = Blanco de Calibración Continua. Es un blanco para verificar la celda de la muestra, no se ha contaminado durante el análisis de un lote de muestras.

4. ASPECTOS DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO

Revisar el E-SGI-ST-M001 Manual del Sistema de Seguridad y Salud en el Trabajo. Revisar las Hojas (fichas) de Seguridad correspondientes al Nitrato de Potasio, Cloroformo y Ácido Clorhídrico y tener las precauciones necesarias para su utilización.

Utilizar los Elementos de Protección Personal adecuados para la realización de la marcha analítica, (bata de laboratorio, zapatos antideslizantes, gafas protectoras y guantes de nitrilo).

Los residuos generados en la realización del análisis de nitratos se vierten en canecas adecuadas y marcadas para tal fin; que luego serán tratados para su disposición final, de acuerdo con el Instructivo de Disposición de Residuos.

5. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES

5.1. Equipos

- Espectrofotómetro, para usar a 220 nm y 275 nm con celdas de sílice combinadas de 1 cm o más de paso de luz, lámpara de deuterio (lámpara amarilla en el equipo HP y Agilent).
- Balanza analítica de mínimo cuatro cifras decimales
- Equipo de filtración al vacío.

5.1.1. Verificación de Equipos

- Verifique la balanza antes de su uso con las pesas dispuestas para esto y registre los datos en la carta de control correspondiente a la balanza.
- Verificar el volumen dispensado por las pipetas según el volumen requerido.

5.2. Reactivos

Solicitar los reactivos diligenciando el formato para tal fin.

- **Agua ultra pura.** Usar agua ultra pura para preparar todas las soluciones y diluciones.
- **Nitrato de potasio (KNO₃) al 99% o mayor.**
- **Cloroformo CHCl₃.** (Solo para la preservación de la solución stock y la solución intermedia).
- **Solución de ácido clorhídrico, HCl (~1N):** Diluir 21 mL de HCl concentrado en 250 mL de agua. Almacenar en botella de vidrio o en polietileno de alta densidad (HDPE). Esta solución es estable por 1 año si se mantiene cerrada.

5.3. Materiales

- Celda de CUARZO cuadrada de 1 cm. La celda de vidrio no es adecuada porque el vidrio absorbe radiación en el UV.
- Pre Filtros de membrana de 0,47 µm.
- Erlenmeyers de 125 mL.
- Balones aforados de 100 mL Clase A.
- Balones aforados de 250 mL Clase A.
- Pipeta graduada de 5 mL Clase A.
- Pipetas aforadas de 1, 2, 3, 5 y 10 mL Clase A
- Probeta de 25 mL.
- Frasco lavador.
- Pipeteador o pera.



INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS
Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta
SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017

Código: SLC-I073

Versión: 04

Fecha: 03/07/2025

Página 3 de 14

6. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

Las interferencias potenciales son la materia orgánica disuelta, los surfactantes, nitritos (NO₂), cromo hexavalente y varios iones inorgánicos que normalmente no se encuentran en aguas naturales, como clorito y clorato.

La filtración de muestras elimina interferencias por partículas suspendidas. Filtre las muestras. La acidificación con HCl 1M hasta pH<2 previene interferencias de concentraciones de hidróxidos y carbonatos hasta de 1000 mg de carbonato de calcio (CaCO₃)/L. El cloruro no afecta la determinación.

6.1. Condiciones Ambientales

Las condiciones ambientales de temperatura y humedad permanentes en el laboratorio no interfieren en el desarrollo adecuado de la determinación de nitratos.

7. CONTROL Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Las prácticas de control de calidad se consideran parte integrante de cada método, para este método se incluye:

7.1. Controles de la curva de calibración

- El coeficiente de correlación (**r**) debe ser $\geq 0,995$ o coeficiente de determinación (**r**²) $\geq 0,99$.
- Los estándares >1,0 mg N-NO₃/L, deben estar entre el 90 y 110 % de los valores verdaderos.
- El estándar de verificación de calibración (CVS) debe ser entre el 30 y 70 % de la concentración del estándar más alto de la curva de calibración, es decir, entre 1,5 mg N-NO₃/L y 3,5 mg N-NO₃/L; el resultado debe ser del 90 y 110 % del valor esperado. Se estableció para el laboratorio preparar un CVS de 1,5 mg N-NO₃/L, ya que este punto no está en la curva.
- Debe haber un blanco de calibración inicial (ICB) después del estándar de control anterior (CVS), para verificar la contaminación. La lectura del ICB debe ser $\leq \frac{1}{2}$ del nivel mínimo reportado (MRL).

7.2. Controles en la rutina diaria

- Se debe pasar un estándar de calibración como verificación de calibración continua (CCV) y un blanco de calibración continua (CCB) después de cada 10 muestras y después de la última muestra.
- La concentración del CCV debe ser del 90 al 110% del valor esperado y del CCB debe ser $\leq \frac{1}{2}$ del nivel mínimo reportado (MRL).

7.3. Otros controles

Tabla 2. Control de Calidad Método 4500-NO₃ B

Blanco del Método (MB)	Blanco Fortificado en Laboratorio (LFB)	Matriz Fortificada en Laboratorio (LFM) y Duplicado Matriz Fortificada en Laboratorio (LFMD)	Otro
X	X	X	3

Tomado del SM Tabla 4020: I (3. Consulte 4020B del SM para más Requisitos de control de calidad).

- Los blancos de muestra se analizan para determinar si la calidad del agua y de los reactivos es óptima. Estos deben registrar absorbancia con cifras exponenciales de 10⁻⁴ y 10⁻⁵.
- Registre el valor promedio diario de los estándares de control en la carta de control de Exactitud, para la determinación de Nitratos. Registre las iniciales del analista y la fecha de análisis en la carta de control y grafique el valor promedio diario de la concentración real del analito.
- Los duplicados evalúan la precisión del método, la limpieza del material de vidrio, la purga adecuada de la celda. Realizar el duplicado de una muestra al azar. Incluir al menos un duplicado con cada lote de 20 muestras o menos.,

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 4 de 14

el porcentaje de la diferencia relativa (RPD) entre los duplicados no debe ser mayor al 10%, si la variación excede este límite, repetir el análisis. Registrar los valores de los duplicados en la carta de control de Precisión de nitratos.

- Las muestras adicionadas o fortificadas (LFM y LFMD) 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 Límite de Detección del Método (LDM) o Límite de Cuantificación del Método (LCM), 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 del método.

De acuerdo con lo anterior, se pueden preparar las muestras adicionadas entre 0,5 mg N-NO₃/L y 2,5 mg N-NO₃/L para no sobrepasar el punto medio de la curva. El porcentaje de recuperación de los adicionados se acepta entre 70% y 130%. Realizar por duplicado una muestra adicionada o fortificada al azar, con cada lote de muestras.

- Llevar los registros de las muestras adicionadas o fortificadas en la carta de control Porcentaje de recuperación y duplicados de recuperación para nitratos.
- Cuando los resultados se encuentren entre el límite de alarma y límite de control, revisar todo el procedimiento para determinar que ocurrió. 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 realizar más análisis hasta verificar que sucedió, comunicar la anomalía al líder de fisicoquímica, iniciar nuevamente la marcha analítica cuando el líder de fisicoquímica lo ordene.

8. DESARROLLO

8.1. Principio del método

Los nitratos son iones formados por tres átomos de oxígeno, uno de nitrógeno y con una carga negativa (NO₃⁻), no tienen color ni sabor y se encuentran en la naturaleza disueltos en el agua. Su presencia natural en las aguas superficiales o subterráneas es consecuencia del ciclo natural del nitrógeno, sin embargo, en determinadas zonas ha habido una alteración de este ciclo en el sentido de que se ha producido un aumento en la concentración de nitratos, debido fundamentalmente a un excesivo uso de abonos nitrogenados y a su posterior arrastre por las aguas de lluvia o riegos. Los nitratos pueden ser producidos tanto por fuentes naturales como antropogénicas, siendo estas últimas las responsables del importante aumento en su concentración observado en los últimos años. Así, los residuos industriales constituyen una fuente importante de nitratos en las aguas, siendo las industrias más contaminantes los mataderos, destilerías, azucareras, industrias de levadura, de almidón, textiles y fertilizantes. Sin embargo, estas emisiones suelen estar bastante controladas y son muy puntuales. Más preocupante es, en la actualidad, la contaminación por nitratos provenientes de la agricultura y ganadería intensiva. En las zonas donde se practica una agricultura intensiva se utilizan enormes cantidades de abonos químicos, a los que se suman los abonos naturales que provienen de los excrementos animales. Estos abonos suelen contener una cantidad importante de compuestos nitrogenados, como los nitratos, que en proporciones adecuadas mejoran el crecimiento de las plantaciones y aumentan su rendimiento. Sin embargo, cuando estos compuestos se encuentran en cantidades demasiado altas para que sean absorbidos por las plantas, se infiltran a través del suelo y alcanzan las aguas subterráneas, contaminando pozos y acuíferos. Análogamente, los excrementos procedentes de animales de granjas también aumentan la concentración de nitratos en el suelo, de donde pueden pasar a los acuíferos que hay bajo ellos. Los nitratos como tales no son tóxicos, incluso a dosis considerables, ya que son eliminados por el riñón. El problema es que, en el organismo, especialmente en personas con problemas gástricos o en niños de menos de tres meses, el nitrato puede reducirse a nitrito, el cual se absorbe en los glóbulos rojos de la sangre, oxidando el hierro de la hemoglobina a metahemoglobina, disminuyendo la capacidad de los glóbulos rojos para transportar oxígeno. Asimismo, algún tipo de cáncer del tracto gastrointestinal ha sido atribuido a la acción de compuestos nitrosos, formados en el interior del organismo a partir de los nitritos, los que a su vez proceden de la reducción de los nitratos consumidos con el agua. Por esta razón, para que un acuífero sirva de abastecimiento a una población es obligatorio que contenga menos de 50 mg/L de NO₃⁻ y si los contiene, éstos deben ser eliminados antes de que el agua llegue al consumidor. ¹

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 5 de 14

En las aguas superficiales los valores normales oscilan entre 0 y 5 mg/L y en las subterráneas de 0 a 9 mg/L. Según las Guías de calidad del agua de bebida, de la Organización Mundial de la Salud (OMS), el valor máximo permisible (VMP) es 50 mg/L.² En Colombia el valor máximo permisible en un agua para consumo humano es de tan solo 10 mg/L.³

Use esta técnica solamente para muestras con bajo contenido de materia orgánica, por ejemplo, aguas naturales no contaminadas, suministros de agua potable y agua de precipitación (agua lluvia). La curva de calibración de NO₃⁻ sigue la ley de Beer hasta 11 mg N/L.

La técnica de escaneo espectrofotométrico ultravioleta a 220 nm, es adecuada para la determinación rápida de NO₃⁻. La materia orgánica disuelta también puede absorber a 220 nm, pero los NO₃⁻ no absorben a 275 nm, así que una segunda medida puede hacerse a 275 nm y usar un valor de corrección si es necesario. Este método no es recomendado si requiere una corrección significativa. Dicho esto, puede ser útil en monitoreos de niveles de NO₃⁻ en cuerpos de agua con un tipo constante de materia orgánica.

8.2. Toma y preservación de muestras

- Colecte la muestra en envases de polietileno, fluorpolímero o de vidrio, de 500 mL lavados con H₂SO₄.
- Si es posible, inicie la determinación de NO₃⁻ prontamente después del muestreo.
- Las muestras pueden ser almacenadas sin acidificar hasta por 48 horas a <6°C. La acidificación convierte algunos nitritos (NO₂⁻) a NO₃⁻. Como resultado, los valores de NO₃⁻ son la suma de NO₃⁻ y NO₂⁻.
- Si las muestras son almacenadas por más de 48 horas, acidifique a pH<2 con ácido sulfúrico o clorhídrico (dependiendo del método), (2 mL de H₂SO₄ concentrado por litro) y almacene a <6°C hasta por 28 días.
- Muestras cloradas son estables al menos 14 días sin preservación ácida.

8.3. Limpieza de vidriería y material de campo

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 Instructivo para el lavado de material de vidrio M-S-LC-I015.

La celda de cuarzo debe lavarse periódicamente de la siguiente manera:

- Sumergir en una solución de HCl - etanol 1:1 por 30 minutos
- Lavar con Isopropanol
- Lavar con agua
- Lavar con acetona
- Lavar con abundante agua

Si al terminar observa impurezas en la celda o no se observa la formación de una película delgada de agua, esto implica que la celda está sucia y debe repetirse el procedimiento.

8.4. Ejecución de la técnica

8.4.1. Preparación de la curva de calibración

- **Solución Stock de Nitrato (100 mg N-NO₃-/L):** Secar entre 0,20 – 0,22 g de nitrato de potasio (KNO₃) al 99% o mayor, en un horno a 103-105 °C por 24 horas. Disuelva 0,1805 g ± 0,0001 g de nitrato de potasio ya seco, en agua UP y diluya a 250 mL. Preserve con 0,5 mL de cloroformo (CHCl₃) o 2 ml de CHCl₃ por litro de solución, después de aforar. Esta solución es estable por lo menos 6 meses, si se guarda refrigerada. En nuestro laboratorio se ha confirmado que esta solución mantiene su concentración incluso hasta los 8 meses. Puede seguirse utilizando hasta que los estándares de control preparados con este stock no estén dentro de las cartas de control.
- **Estándares de la curva de calibración:** A partir de la solución stock y solución intermedia de nitrato, prepare los estándares de la curva de calibración, según se muestra en la Tabla 4.

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 6 de 14

- **Estándar de verificación de calibración (CVS):** De la solución intermedia de nitrato de 10 mg N-NO₃/L, tome 15 mL y complete a 100 mL en un balón aforado, para preparar un CVS de 1,5 mg N-NO₃/L. El resultado debe ser del 90 al 110 % del valor esperado.

Tabla 3. Preparación del estándar de verificación de calibración (CVS)

Tomar de:	Solución intermedia de 10 mg N-NO ₃ /L	Volumen final
Para preparar:		
CVS 1,5 mg N-NO ₃ /L	15 mL	100 mL

- **Corra un blanco de calibración inicial (ICB)** después del estándar de control anterior (CVS), para verificar la contaminación. La lectura del ICB debe ser $\leq \frac{1}{2}$ del nivel mínimo reportado (MRL).

Tabla 4. Preparación de estándares de calibración

Tomar de:	Solución stock de 100 mg N-NO ₃ /L	Solución intermedia de 10 mg N-NO ₃ /L	Volumen final
Para preparar:			
Solución intermedia de 10 mg N-NO ₃ /L	10 mL	-----	100 mL
Estándar de 5 mg N-NO ₃ /L	5 mL	-----	100 mL
Estándar de 3 mg N-NO ₃ /L	3 mL	-----	100 mL
Estándar de 2 mg N-NO ₃ /L	2 mL	-----	100 mL
Estándar de 0,5 mg N-NO ₃ /L	-----	5 mL	100 mL
Estándar de 0,1 mg N-NO ₃ /L	-----	1 mL	100 mL

8.4.2. Preparación de las muestras

Pretratamiento de las muestras: Solicite las muestras y déjelas aclimatar. Filtre aproximadamente unos 150 mL de muestra a través de un filtro de membrana de 0,45 µm y solo en el momento del análisis. Las muestras con abundantes sólidos suspendidos, fíltrelas primero con un prefiltro de fibra de vidrio.

8.4.3. Controles en la rutina diaria

- **Prepare un estándar de control diario (LCM)** de 0,1 mg N-NO₃/L, como se muestra en la Tabla 5.
- **Prepare un estándar de verificación de calibración continua (CCV)** de 1,0 mg N-NO₃/L, según se muestra en la Tabla 5. El valor del CCV debe estar entre el 90 y el 110% del valor esperado.
- **Blanco de Calibración Continua (CCB).**

Tabla 5. Preparación de estándares de verificación (CCV) y control

Tomar de:	Solución intermedia de 10 mg N-NO ₃ /L	Volumen final
Para preparar:		
CCV 1,0 mg N-NO ₃ /L	10 mL	100 mL
Estándar de control 0,1 mg N-NO ₃ /L	1 mL	100 mL

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 7 de 14

8.4.4. Procedimiento de análisis

- Verifique que la celda de cuarzo de 1 cm esté perfectamente limpia, si la observa manchada lávela con jabón neutro o libre de fósforo o siga el procedimiento del numeral 8.3. de este instructivo.
- Encienda el Espectrofotómetro UV-VIS con la lámpara de tungsteno (lámpara amarilla), entre 50 y 60 minutos antes de iniciar las lecturas, tenga en cuenta el instructivo del espectrofotómetro UV-VIS con arreglo de diodos HP 8453, M-S-LC-I008. La lectura de nitrato de la curva de calibración se hace a 220 nm y la lectura de las muestras debe hacerse a 220 y 275 nm simultáneamente.

NOTA: La configuración del equipo para la lectura de una curva o lectura de muestras, lo encuentra en el instructivo del equipo M-S-LC-I008.

8.4.5. Lectura de la curva

- Mida 25 mL de agua ultra pura en una probeta y viértalos en un Erlenmeyer de 125 mL.
- Adicione 0,5 mL de la solución de ácido clorhídrico HCl ~1N y agite.
- Programe primero el equipo. Haga clic en “File” del menú principal y seleccione “New Method”. Para mayores detalles, remítase al instructivo del equipo, M-S-LC-I008.
- Los estándares se leen en el equipo a 220 nm, previamente establecido en el equipo en la ventana de “Quantification” y también se leen como muestras a 220 nm y 275 nm, previamente establecido en el equipo en la ventana de “Ratio / Equation” en donde debe digitar la ecuación correspondiente a la última curva aprobada y se deben leer dentro de los 20 minutos siguientes de haber adicionado el ácido.
- Inicie las lecturas leyendo primero el Blanco; para esto purgue la celda dos veces con la solución (blanco) e introdúzcala en el portacelda, lea como “Blanco”, verifique la observación de una línea recta horizontal en el rango de la longitud de onda y luego léalo como “Estándar” e ingrese la información que el equipo le solicite (nombre, concentración, etc.) y antes de sacar la celda del portacelda, léalo como “Muestra” y vuelva a ingresar la información solicitada por el equipo. La absorbancia del blanco a 220 nm, debe registrar cifras exponenciales de 10^{-4} y 10^{-5} .
- Siga con el primer estándar, el de menor concentración y léalo como “Estándar” ingresando la información que el equipo le solicite y luego sin sacar la celda, léalo como “Muestra” e ingresando la información necesaria, continúe con los siguientes estándares de control en orden creciente de concentración.
- Una vez leídos el blanco y todos los estándares de la curva, cambie la constante de la ecuación por la nueva que arroja la curva leída y oprima “Calibrar”. La nueva constante de la ecuación. (Ver instructivo del equipo, M-S-LC-I008).
- Grabe la curva, los estándares y las lecturas como muestras, en las carpetas Method, Standard y Data respectivamente, de la carpeta Nitratos y año correspondiente, archivándolos con la fecha en que se realizó el análisis, año, mes, día (aaaa/mm/dd).
- Imprima el Método y Resultados de la curva en el formato y entréguelos al Líder de fisicoquímica para su aprobación y respectiva asignación de consecutivo.

8.4.6. Lectura de las muestras

- Configure el equipo con las dos longitudes de onda (220nm y 275 nm) en la ventana “Ratio / Equation” y con la ecuación de la última curva aprobada. Ver instructivo del equipo, M-S-LC-I008, para mayores detalles.

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 8 de 14

- Sirva 25 mL de agua ultra pura en un Erlenmeyer de 100 mL o 125 mL y adiciónale 0,5 mL de HCl ~1N y léalo dentro de los siguientes 20 min después de haber adicionado el ácido. Léalo como “Blanco” y luego como “Muestra” e identifíquelo como “Blanco”. Confirme que los exponentes de las absorbancias del blanco, estén en el orden de 10^{-4} y 10^{-5} .
- Sirva 25 mL del estándar de control LCM de 0,1 mg N-NO₃/L y transfíralos a un Erlenmeyer de 100 mL o 125 mL. Adicione 0,5 mL de HCl ~1N. Léalo como muestra dentro de los siguientes 20 min, e identifíquelo como “LCM 0,1 mg N-NO₃/L”.
- Repita el paso anterior con los estándares de 1.0 mg N-NO₃/L y con las muestras previamente filtradas, (ver numeral 8.4.2), identificándolas con su respectivo nombre o código y dilución realizada según cada caso.
- Reserve el resto del filtrado para posibles diluciones o duplicados.
- Con cada lote de muestras analice:
 - ✓ Un blanco de reactivos.
 - ✓ Un estándar de control LCM de 0,1 mg N-NO₃/L.
 - ✓ Una muestra fortificada de laboratorio (MFL)
 - ✓ Un duplicado de la muestra fortificada de laboratorio (DMFL).
 - ✓ Un duplicado de muestra por cada 20 muestras (o menos).
 - ✓ Un estándar de Control de Calibración Continua (CCV) de 1,0 mg N-NO₃/L por cada 10 muestras, y otro al finalizar el lote.
 - ✓ Un Blanco de Calibración Continua (CCB) por cada 10 muestras, y otro al finalizar el lote.
- Almacene los datos con la fecha en que se realizó el análisis, año, mes, día (aaaa/mm/dd) en la carpeta de Nitratos y año correspondiente, en la ventana “Save as” y “Sample” del menú “File”.
- Imprima el reporte y entréguelo al Líder Físicoquímico para la revisión correspondiente.
- Registre los resultados de los estándares, duplicados y fortificados, en las cartas de control digitales, verifique que los valores se encuentren dentro de los límites de control.

NOTA: La lectura del blanco se hace para ajustar el cero de absorbancia con agua UP. La lectura de absorbancia a una longitud de onda de 220 nm, es para obtener la concentración de NO₃⁻ y la lectura a una longitud de onda de 275 nm es para determinar la interferencia debida a la materia orgánica disuelta. Las muestras que a 275 nm obtengan resultado mayor a 0,25 unidades de absorbancia deben diluirse, aunque la concentración de nitratos esté dentro del rango de medición.

8.5. Formatos

- M-S-LC-F007 Formato Control Diario del Manejo de Equipos.
- M-S-LC-F055 Carta Control de Exactitud
- M-S-LC-F056 Carta Control de Precisión – Duplicados
- M-S-LC-F057 Carta Control Porcentaje de Recuperación y Duplicados de Recuperación
- M-S-LC-F011 Entrega de Muestras a Analistas

8.6. Procedimiento de datos y cálculo de resultados

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

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 9 de 14

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

Donde:

m = inverso de la pendiente de la curva de calibración.
 Absorbancia = Lectura realizada por el espectrofotómetro.
 $\text{N-NO}_3^-/\text{L}$ = Concentración de nitratos calculada y registrada por el espectrofotómetro UV-VIS.

Para las muestras y los estándares, reste dos veces la lectura de absorbancia a 275 nm de la lectura a 220 nm para obtener la absorbancia debida al NO₃.

$$\text{Absorbancia corregida} = \text{Absorbancia } 220 \text{ nm} - (2 * \text{absorbancia } 275\text{nm})$$

NOTA: Si el valor de corrección es superior al 10% de la lectura a 220 nm, entonces la concentración de nitratos se considera estimada.

Construir una curva estándar trazando la absorbancia debida al NO₃⁻ frente a la concentración de NO₃⁻-N del estándar. Utilice una hoja de cálculo para encontrar la pendiente y la intersección de la curva de calibración mediante una regresión lineal de mínimos cuadrados. Calcular la concentración de NO₃ a partir de la siguiente ecuación:

$$\text{mg N-NO}_3^-/\text{L} = \frac{\text{Absorbancia corregida} - \text{Intercepto}}{\text{pendiente}}$$

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 el caso en que el dato de Nitritos es mayor al límite de detección, se realiza la resta entre el resultado del análisis de nitratos y el de nitritos y se redondea a dos cifras significativas redondeando de acuerdo con los criterios establecidos en el procedimiento de lineamientos de control de calidad analítica.

9. DIAGRAMA (Ver anexos 1 y 2)

10. DOCUMENTOS DE REFERENCIA Y BIBLIOGRAFÍA

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23rd Edition, Washington D.C, 2017. 4500-NO₃ B.

¹ Esfera del agua. <https://www.esferadelagua.es/agua-y-tecnologia/contaminacion-del-agua-por-nitratos-y-tecnicas-para-su-tratamiento.2013>.

² La Nación. Agua y nitratos. <https://www.nacion.com/opinion/agua-y-nitratos/GRU5GJYIYFAD5PVFXQN7JDGWRI/story/>. 2005.

³ Resolución 2115 (22 JUN 2007) Por medio de la cual se señalan características, instrumentos básicos y frecuencias del sistema de control y vigilancia para la calidad del agua para consumo humano. Ministerio de la Protección Social y Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial.

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017	Código: SLC-I073
		Versión: 04
		Fecha: 03/07/2025
		Página 10 de 14

11. HISTORIAL DE CAMBIOS

Versión	Fecha	Descripción
01	26/04/2019	Creación del documento con base a la nueva estructura del SGI
02	21/10/2020	Nueva versión producto de la actualización de la documentación del Sistema Integrado de Gestión.
03	29/03/2022	En Tabla 3 Se corrigió CCV por CVS. Numeral 8.4.6 se corrigió VCC por CCV y BCC por CCB. Numeral 8.5 Se corrigió el nombre del formato M-S-LC-F056. Numeral 8.6 Se adiciona la ecuación de la absorbancia corregida y se expresa el criterio del SM respecto al 10% de la absorbancia corregida comparada con la absorbancia a 220 nm. Se ajustó el estándar de control diario que se encontraba en 0,2 a 0,1 mg N-NO ₃ /L (LCM). Realizado por Gladys Yadira Guiza y Nury Alejandra Mesa Buitrago
04	03/07/2025	Se actualiza el Formato de acuerdo con el memorando enviado por la OAP memorando 20251100097283 lineamientos para la actualización documental en el marco de la implementación del aplicativo suite visión. El código pasa de M-S-LC-I073 a SLC-I073.

ELABORÓ:	REVISÓ:	APROBÓ:
Gladys Yadira Güiza Arias Química. Profesional Universitario Laboratorio de Calidad Ambiental	Carlos Martín Velásquez Ramírez Contratista Líder Técnico Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental	Claudia María Ávila Laverde Coordinadora Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental.



INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS
Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta
SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017

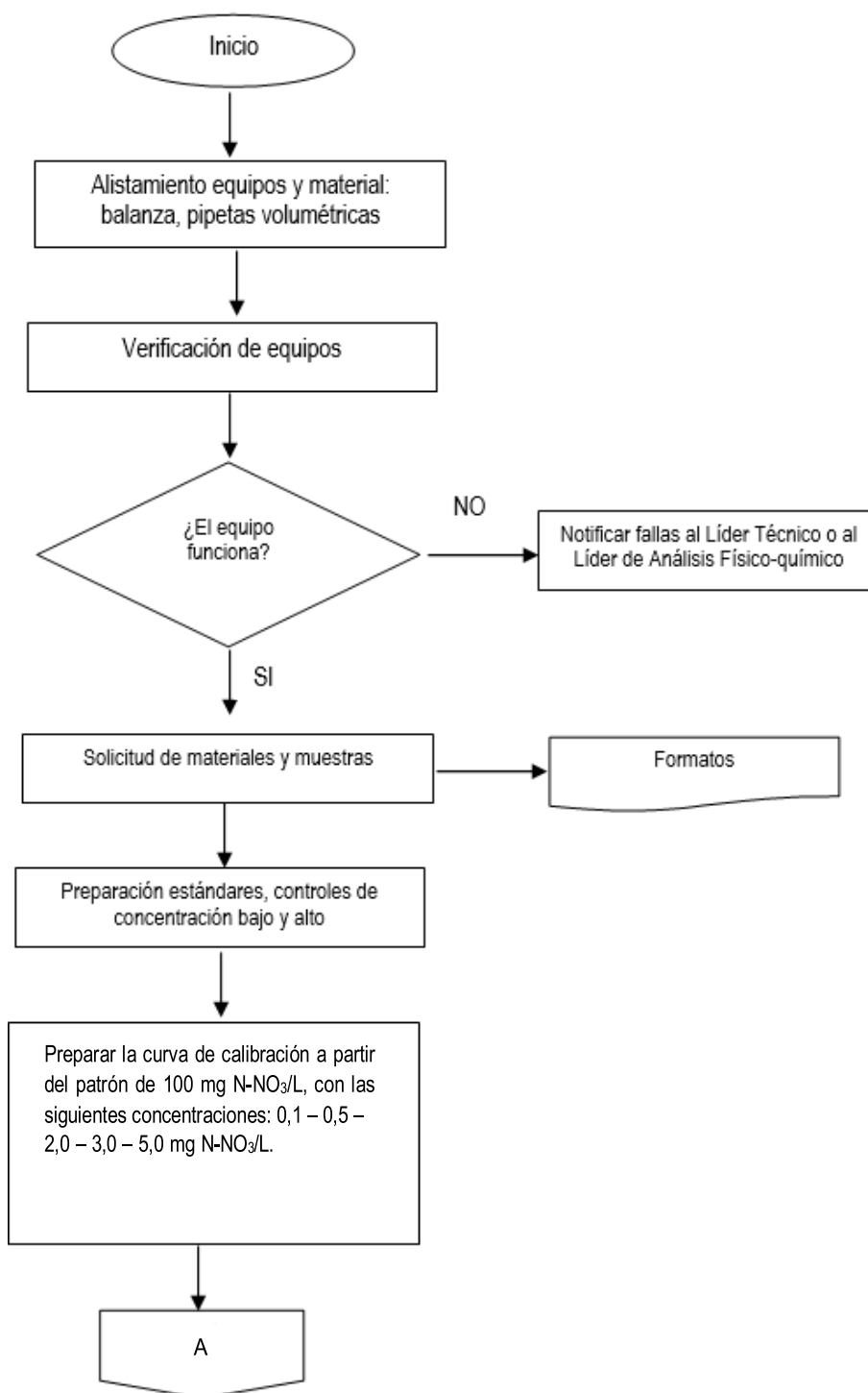
Código: SLC-I073

Versión: 04

Fecha: 03/07/2025

Página 11 de 14

ANEXO 1. Diagrama de flujo – Marcha analítica





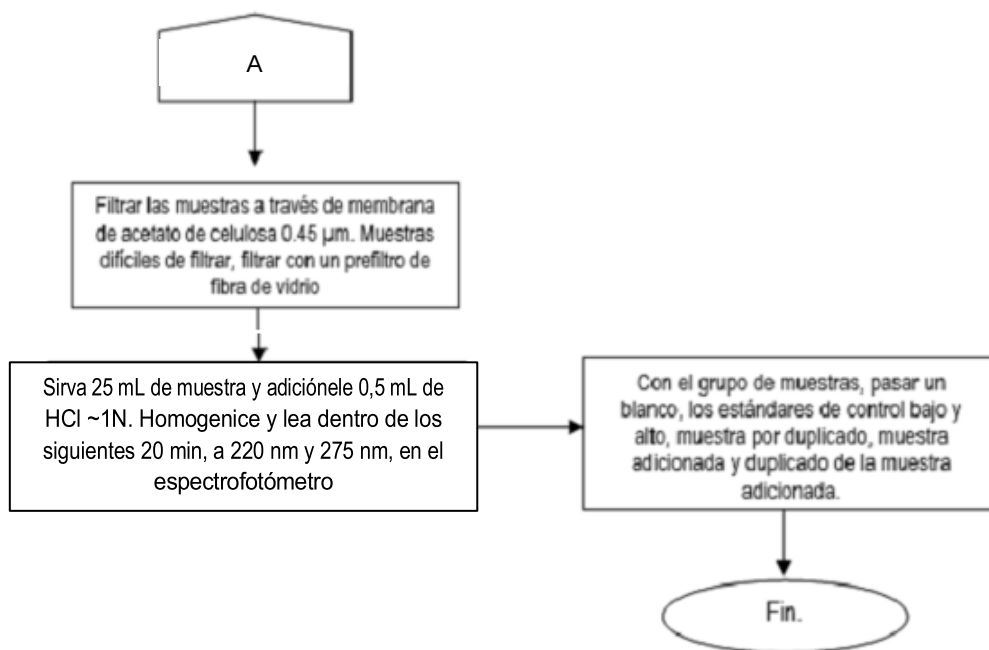
INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS
Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta
SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017

Código: SLC-I073

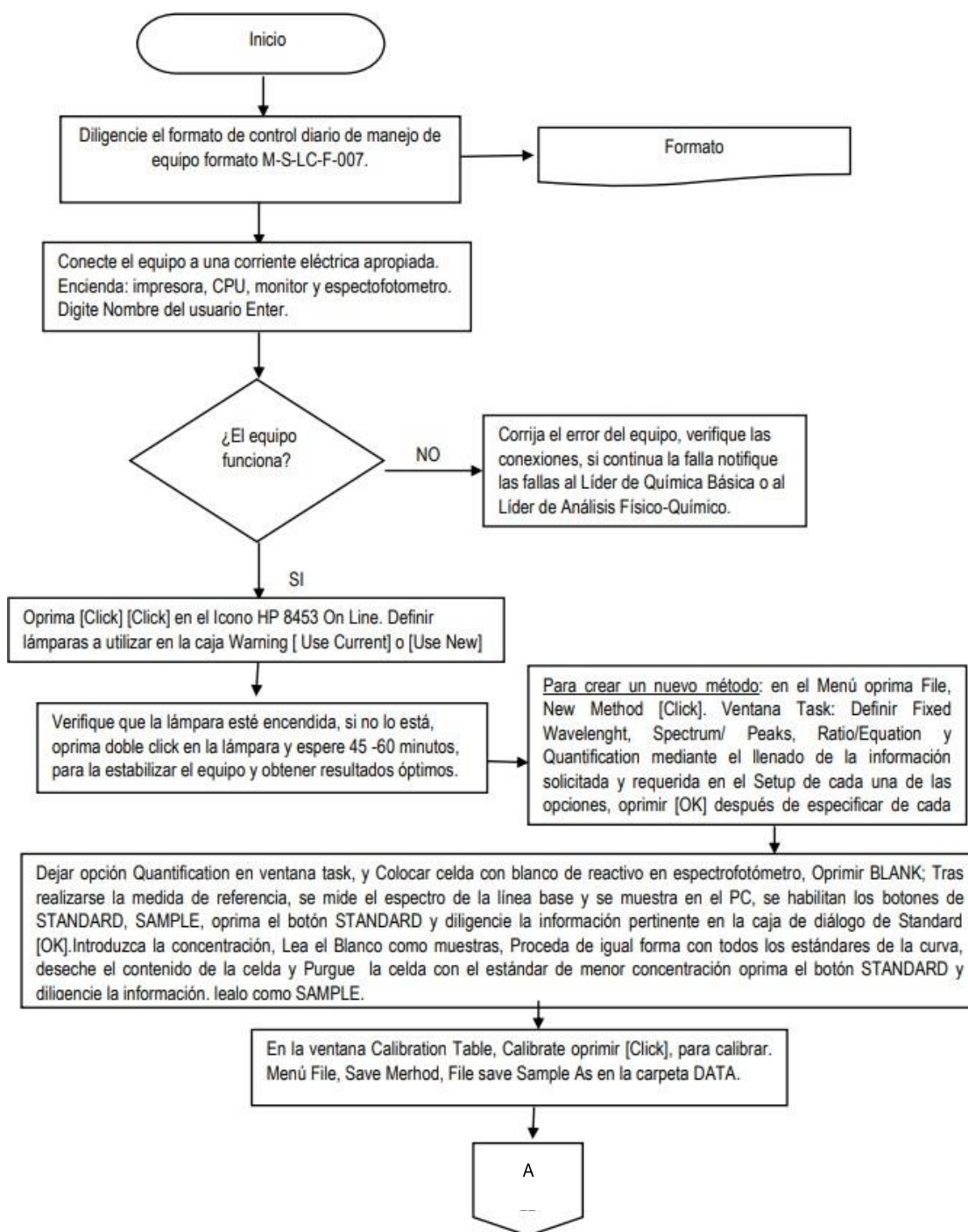
Versión: 04

Fecha: 03/07/2025

Página 12 de 14



ANEXO 2. Diagrama de flujo – Manejo del equipo





INSTRUCTIVO DE ENSAYO DE NITRATOS
Método de Escaneo Espectrofotométrico Ultravioleta
SM 4500-NO₃ B. ED. 23, 2017

Código: SLC-I073

Versión: 04

Fecha: 03/07/2025

Página 14 de 14

