



TÍTULO: DETERMINACION DE NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA

CÓDIGO: **TP0093**

VERSIÓN: 04

FECHA ÚLTIMA REVISIÓN:

COPIA N°: _____

ELABORADO POR:

ANDREA MILENA LASSO PALACIOS.
INGENIERA QUIMICA

REVISADO POR:

ANA MARÍA HERNÁNDEZ HERNANDEZ
INGENIERAQUÍMICA U.N.

APROBADO POR:

LUZ CONSUELO ORJUELA ORJUELA
COORDINADORA GLCA

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



NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA

DETERMINACIÓN DE NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA

1. Introducción

El nitrógeno de nitritos raras veces aparece en concentraciones mayores de 1 mg/L, aun en fuentes de plantas de tratamiento de aguas residuales. En aguas superficiales y subterráneas su concentración por lo general es menor de 0.1 mg/L. Su presencia indica, por lo regular, procesos activos biológicos en el agua, ya que es fácil y rápidamente convertido en nitrato.

Los nitritos en concentraciones elevadas reaccionan dentro del organismo con aminas y amidas secundarias y terciarias formando nitrosaminas de alto poder cancerígeno.

El nitrito (NO_2^-) se determina mediante la formación de un colorante azo de color púrpura rojizo por reacción de diazotación-copulación de sulfanilamida con diclorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina (NED diclorhidrato) a pH entre 2,0 y 2,5.

Según el Standard Methods este método es adecuado para determinar nitrito en concentraciones de 10 a 1000 $\mu\text{g NO}_2^-$ -N/L. El sistema de color obedece la ley de Beer en concentraciones hasta de 180 $\mu\text{g NO}_2^-$ -N/L a 543 nm si se emplea celda de 1 cm de longitud; se pueden hacer mediciones en el intervalo de 5 a 50 $\mu\text{g NO}_2^-$ -N/L con una celda de 5 cm de paso de luz y un filtro de color verde. Se pueden determinar concentraciones más altas por dilución de la muestra.

En el Laboratorio del IDEAM se analizan con éste método muestras de agua superficial, en un rango de concentraciones entre 0.006 y 0.20 mg N - NO_2^- /L

Según el Decreto 475 del 10 marzo de 1998 del Ministerio de Salud, en el artículo 8 parte b) se especifica como criterio de calidad química para agua con implicaciones de tipo económico o acción indirecta sobre la salud, un valor máximo admisible de 0,2 mg/L de nitritos.

2. Definiciones:

mg NO_2^- /L = miligramos de nitrito por litro.

mg N - NO_2^- /L = miligramos de nitrógeno en la forma de nitrito por litro

g = gramos

μg = microgramos

μm = micrómetro

LDM = Límite de Detección del Método

LPC = Límite Práctico de Cuantificación

s= Desviación estándar

LSA = Límite superior de alarma



NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA

LSC = Límite superior de control

LIA = Límite inferior de alarma

LIC = Límite inferior de control

UV - VIS = Ultravioleta - Visible

3. Aspectos de Salud y Seguridad Laboral

Revise antes de iniciar la práctica el Manual de Higiene Seguridad MS0165 y las Hojas de Seguridad números: 28, 44, 179, 191, 201 y 230 que reposan en los AZ, en el mueble de la entrada en el Área de recepción de muestras. Estas hojas de seguridad también puede encontrarlas, en el PSO en el puesto de trabajo.

En el desarrollo de todo el análisis utilice de manera obligatoria los siguientes implementos de seguridad: bata, guantes, respirador para ácidos, gafas protectoras.

4. Limitaciones e Interferencias

El tricloruro de nitrógeno (NCl_3) imparte un falso color rojo cuando se agrega el reactivo de coloración; la incompatibilidad química impide que coexistan NO_2^- , cloro libre y NCl_3 .

Los siguientes iones no deben estar presentes porque interfieren debido a su precipitación bajo las condiciones del ensayo: Sb^{3+} , Au^{3+} , Bi^{3+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Hg^{2+} , Ag^{2+} , cloroplatinato (PtCl_6^{2-}) y metavanadato (VO_3^{2-}); el ion cúprico puede causar bajos resultados porque cataliza la descomposición de la sal de diazonio.

No se encontró en la literatura metodología para corregir las anteriores interferencias.

En la muestra no deben estar presentes iones coloreados que alteren el sistema de color.

Los sólidos suspendidos se deben remover por filtración a través de membrana con diámetro de poro de $0,45 \mu\text{m}$.

5. Resultados de la validación del método:

Los siguientes son los resultados obtenido en la estandarización del método.

**NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA**

NOMBRE DEL METODO:		Determinación de Nitrito en aguas por Método Colorimétrico	
CÓDIGO DEL PSO:		PT0093	
FECHA DEL INFORME DE ESTANDARIZACIÓN:		27/03/2006	
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACION
LIMITE DE DETECCION	0,006	mg N-NO ₂ /L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISION EN TÉRMINOS DE %CV	1,7	%	Std bajo 0.02 mg N-NO ₂ /L
	1,3	%	Std alto 0.15 mg N-NO ₂ /L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	1,7	%	Std bajo 0.02 mg N-NO ₂ /L
	2,6	%	Std alto 0.15 mg N-NO ₂ /L
	9,9	%	Patrón Certificado. Lote No. 2400814C, producto No. QWSNUT- 3X20
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0.006 - 0.2	mg N-NO ₂ /L	Sin dilución de la muestra.
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL METODO	0.006 - 20	mg N-NO ₂ /L	Para una dilución de cien veces.
RECUPERACION EXPRESADO COMO %	92	%	Adicionado bajo.
	93	%	Adicionado alto.

6. Toma y preservación de la muestra:

Colecte la muestra en envase de vidrio ámbar o plástico y no le adicione ningún preservante. El tamaño mínimo de muestra para determinar NO₂⁻ es de 100 mL. Se puede tomar de la muestra recibida para Fósforo Soluble siempre y cuando el volumen sea suficiente para los dos analitos.

La determinación debe hacerse lo más pronto posible una vez recogida la muestra para prevenir la posible conversión bacteriana de NO₂⁻ a NO₃⁻ o NH₃. Para preservaciones cortas de 1 a 2 días, guardar a 4°C.

Filtrar únicamente en el momento de realizar el análisis.

7. Aparatos, reactivos y materiales



7.1 Aparatos

- *Espectrofotómetro UV-VIS* marca Hewlett Packard modelo 8453, detector de arreglo de diodos, ancho de banda de 0.1 nm, provisto de una celda de vidrio con paso de luz de 1.0 cm, y consta de lo siguiente:
 - Sistema óptico revertido de haz sencillo.
 - Fuente de radiación, lámpara de tungsteno.
 - Monocromador
 - Detectores fotodiodos y a su vez arreglo de diodos.
- Balanza analítica electrónica con aproximación de 0.0001 g.

7.2 Reactivos

Solicite los reactivos diligenciando el formato TF0041.

- *Agua libre de nitritos.* Agua UP, obtenida mediante un purificador Labconco WaterPro PS.
- *Reactivo de coloración.* A 800 mL de agua agregar 100 mL de ácido fosfórico del 85% y 10 g de sulfanilamida, agitar y disolver totalmente. Agregar 1 g de N- (1-naftil)-etilendiamina diclorhidrato. Mezclar hasta disolver, y diluir a 1 L con agua. Esta solución es estable hasta por seis meses si se guarda en una botella oscura y en refrigeración.
- Preparación de la solución patrón de 250 mg N - NO₂⁻/L a partir de un patrón trazable. Tome 250 mL de Nitrito de sodio trazable de 1000 mg N - NO₂⁻/L, asegúrese que la concentración corresponda a las unidades mencionadas y lleve a volumen en un balón de 1000 mL.
- *Solución stock de nitrito, 250 mg N - NO₂⁻/L a partir del sólido:* El NaNO₂ comercial grado reactivo es de mínimo 99% de pureza. Como el NO₂⁻ se oxida fácilmente en presencia de humedad, usar un frasco de reactivo reciente para preparar la solución patrón y guardar los frascos herméticamente tapados cuando no estén en uso. Disolver 0.6161 g de nitrito de sodio y diluir a 500 mL en balón aforado con agua ultrapura, 1 ml = 250 mg/L. Almacene esta solución en la nevera de reactivos y preserve con 1 mL de cloroformo. Este patrón tiene una vida útil de 6 meses.



7.3 Materiales

- Balones aforados clase A de 100, y 250 mL.
- Erlenmeyer de 125 mL.
- Pipetas aforadas clase A de 2, 5, 10, 20 y 25 mL.
- Pipetas graduadas de 5 y 10 mL.
- Probeta de vidrio de 25 mL.
- Pipeta Pasteur.
- Microespátula.
- Celda de vidrio.
- Papel para limpiar lentes.

8. Procedimiento de limpieza de vidriería

Lave toda la vidriería con jabón, enjuague con agua de la llave, posteriormente déjelo en H₂SO₄ diluido al 5% y enjuague muy bien con agua destilada. Remítase al procedimiento relacionado PC0125 Lavado material de vidrio.

Utilice la vidriería a la que se le haya efectuado control de calidad y reserve esta vidriería únicamente para las determinaciones de nitrito.

9. Procedimiento de preparación de estándares:

A partir de la solución patrón de nitritos de 250 mg N - NO₂⁻/L, prepare la solución intermedia de 5,0 y a partir de esta las soluciones de trabajo de 0,01, 0,05, 0,10 y 0,20; mg N NO₂⁻/L y elabore la curva de calibración.

- Prepare un estándar intermedio de 5 mg N - NO₂⁻/L a partir de la solución patrón de 250 mg N - NO₂⁻/L, tomando 5 mL y llevándola a volumen en un balón aforado de 250 mL, con agua desionizada. Esta solución intermedia es estable hasta por 10 días.
- Prepare un estándar de 0,20 mg N - NO₂⁻/L a partir de la solución intermedia de 5,00 mg N - NO₂⁻/L, tome 4mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 100 mL, con agua desionizada.
- Prepare un estándar de 0,10 mg N - NO₂⁻/L a partir de la solución intermedia de 5,00 mg N - NO₂⁻/L, tome 4 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua desionizada.



NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA

- Prepare un estándar de 0,050 mg N - NO₂⁻/L a partir de la solución intermedia de 5,00 mg N - NO₂⁻/L, tome 2 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua desionizada.
- Prepare un estándar de 0,010 mg N - NO₂⁻/L a partir de la solución intermedia de 0.100 mg N - NO₂⁻/L, tome 20 mL de ésta solución y lleve a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua desionizada.
- Los estándares de control que se preparan a diario con cada determinación son los de 0,01 y 0,10 mg N – NO₂/L

10. Procedimiento de análisis:

- 10.1 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, fíltrelas primero con un prefiltro de fibra de vidrio.
- 10.2 Curva de Calibración. Prepare una curva de calibración cada vez que cambie de solución de coloración (lote de reactivo), o de solución patrón de nitrito. Para la preparación, ver numeral 9.
- 10.3 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 nitrito debe hacerse a 543 nm. Cargue la última curva de calibración.
- 10.4 Verifique que la celda de vidrio de 1 cm esté perfectamente limpia, si la observa manchada de color rosado déjela en jabón aproximadamente 15 minutos, hágale un lavado con H₂SO₄ al 5% y enjuáguela perfectamente con agua desionizada.
- 10.5 Cuando vaya a iniciar la lectura de la curva de calibración, transfiera una alícuota de 25,0 mL del blanco (agua ultra pura) y los estándares en erlenmeyer de 125 mL y adicione 1 mL del reactivo de coloración, deje desarrollar color y comience la lectura después de 30 minutos, pero antes de 2 horas después de su adición, lea el blanco como blanco y como muestra y los estándares, como estándares y como muestras, siguiendo las instrucciones del equipo.
- 10.6 Almacene los datos en la carpeta del año correspondiente, en la sub carpeta Nitritos. 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



NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA

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.

- 10.7 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 de los 543 nm, 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.
- 10.8 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.

11. Procesamiento de datos y cálculo de resultados

El espectrofotómetro arroja resultados en mg N - NO₂⁻/L de acuerdo al factor de dilución digitado en el momento de la lectura, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{mg N - NO}_2^-/\text{L} = \text{Pendiente} \times \text{Absorbancia} \times \text{FD}$$

Pendiente = Obtenida a partir de la curva de calibración.
Absorbancia = Lectura realizada por el espectrofotómetro.
mg NO₂⁻ /L = Concentración de nitritos calculada y registrada por el espectrofotómetro UV-VIS
FD = Factor de dilución

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 la calidad

Cuando realice la curva de calibración entréguela al líder de análisis para su aprobación. Verifique que la pendiente de la curva de calibración se encuentre en un valor aproximado de 0.3.

Verifique los estándares de control, si el resultado analítico cae fuera de los límites de control normales, deben revisarse los estándares de calibración, los reactivos, material



NITRITO EN AGUA POR ESPECTROFOTOMETRÍA

de vidrio y los blancos. El análisis solo se puede reanudar cuando se corrija el problema.

Los testigos sirven para evaluar las condiciones de transporte y monitoreo en las que tomaron las muestras y el almacenamiento de las mismas. El porcentaje de recuperación de los testigos debe estar entre 70 y 130 %.

Las réplicas se utilizan par ver diferencias en el muestreo, se aceptan replicas con una diferencia no mayor al 10%.La máxima absorbancia permitida es la obtenida para el patrón de 0.2 mg N - NO₂⁻/L .

Los duplicados evalúan la limpieza del material de vidrio, la purga adecuada de la celda, la replicabilidad del método. Por cada lote de muestras se debe pasar un duplicado según lo indicado en el procedimiento TP0100.

13. Referencias

- Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation*. 21 ed., United Estates of America. pp 4-83 a 4-84
- Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes. *United States Environmental Protection Agency*. Cincinnati, 1983.
- *Jairo Alberto Romero Rojas*. CALIDAD DEL AGUA. Ed. ESCUELA COLOMBIANA DE INGENIERÍA. Colombia 2002.