

	<b>MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS EN AGUA</b> <b>Laboratorio Departamental de Salud Pública</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-32
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	1 de 7

## 1. OBJETIVO

Determinar cuantitativamente la concentración de fosfatos en muestras acuosas mediante el método del ácido ascórbico según Standar Methods 4500-P E

## 2. ALCANCE

El método es aplicable para el total de determinaciones de fosfatos en aguas para consumo humano, natural superficial, natural subterránea y aguas para uso recreativo/estructuras similares, en el LDSP Santander.

## 3. RESPONSABILIDAD

Será responsabilidad de:

- **Coordinador LDSP:** Aprobar el presente documento, supervisar el estricto cumplimiento de lo establecido en el mismo y avalar los resultados que de éste se generen.
- **Profesional Analista del Laboratorio:** Encargado del análisis fisicoquímico del agua del Laboratorio Departamental de Salud Pública: aplicar la técnica descrita en el presente manual con estándares de calidad, oportunidad y avalar los resultados que se generen del mismo.

## 4. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

**Blanco:** Es un sistema físico que no contiene muestra real y por consiguiente no debe contener el analito de interés, pero debe contener todos los reactivos que se necesiten en el método de análisis y ser sometido a las mismas condiciones y procedimientos que las muestras reales y los estándares.

**Fosfatos:** familia de compuestos inorgánicos que contienen en su estructura un átomo de fósforo rodeado por cuatro átomos de oxígeno en forma tetraédrica (esta forma se conoce como ortofosfato). Los fosfatos que responden a test colorimétricos sin hidrólisis preliminar o digestión oxidativa se denominan fósforo reactivo.

mg PO <sub>4</sub> -P/L	miligramos de fosfato como fósforo por litro.
µg	Microgramos
s	Desviación estándar
UV – VIS	Ultravioleta - Visible
mg PO <sub>4</sub> -/L	miligramos de fosfato por litro.

## 5. CONDICIONES GENERALES

Utilizar los elementos de protección personal (EPP) adecuados para la realización de la marcha analítica, (bata de laboratorio, zapatos antideslizantes, gafas protectoras y guantes

	<b>MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS EN AGUA</b> <b>Laboratorio Departamental de Salud Pública</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-32
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	2 de 7

de nitrilo) y registrar en el formato de verificación de uso de elementos de protección: MI-GS-RG-378

La contaminación con fosfato es común debido a su absorción en las superficies de vidrio por esta razón se debe evitar el uso de detergentes comerciales que contienen fosfato. Lave toda la vidriería con jabón neutro libre de fósforo, enjuague con agua de la llave, posteriormente déjelo en HCl diluido al 5% y enjuague muy bien con agua destilada. Utilice la vidriería a la que se le haya efectuado control de calidad y reserve esta vidriería únicamente para las determinaciones de fósforo.

#### **Disposición de residuos:**

Los residuos de las muestras, patrones titulados y soluciones, deben disponerse en un contenedor adecuado rotulados de acuerdo a lo establecido en el laboratorio y diligenciar el formato de entrega de residuos químicos para disposición final: MI-GS-RG-375 y manipularse correctamente según lo establecido en los protocolos de bioseguridad del laboratorio.

Seguir las recomendaciones generales para la adecuada disposición de residuos peligrosos y manejo de sustancias químicas, tener conocimiento del grado de peligrosidad de las sustancias químicas comprometidas en el procedimiento y ubicación de las fichas de seguridad de los reactivos y/o sustancias

## **6. FUNDAMENTO DEL METODO DE ENSAYO**

### **6.1 MÉTODO**

Los fosfatos son sales que tiene en común un fosforo rodeado por cuatro átomos de oxígeno en forma tetraédrica. Los fósforos se encuentran en aguas naturales y residuales, y son clasificados como ortofosfato, fosfatos condensados (piro, meta y polifosfatos) y fosfatos ligados orgánicamente; estas formas de fosfato surgen de diversas fuentes. El fosforo es esencial en el crecimiento de organismos y puede ser el nutriente que limita la productividad primaria de un cuerpo de agua. En casos donde el fosfato es el nutriente limitante del crecimiento, la descarga de aguas residuales sin tratar o tratadas, drenajes de agricultura o residuos industriales en el agua puede estimular al crecimiento de microorganismos fotosintéticos y macro organismos en cantidades molestas.

El análisis del fosforo se realiza en dos pasos:

- La conversión de la forma de fosforo a ortofosfato disuelto.
- La determinación de ortofosfato disuelto por colorimetría.

Los fosfatos que responden a test colorimétricos sin hidrolisis preliminar o digestión oxidativa de la muestra son llamados fósforos reactivos.

El método se fundamenta en la reacción del molibdato de amonio y el tartrato antimonil de potasio en medio ácido con el ortofosfato presente formando un compuesto heteropoliácido-ácido fosfomolibdico que se reduce intensamente a azul de molibdeno coloreado por la acción del ácido ascórbico. El producto de la reacción es un compuesto coloreado cuya absorbancia es proporcional a la concentración de fosfatos que están presentes.

	<b>MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS EN AGUA</b>  <b>Laboratorio Departamental de Salud Pública</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-32
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	3 de 7

## 7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS

La presencia de turbidez y color en la muestra debe corregirse elaborando un blanco. Las muestras con bajas concentraciones de fósforo no se deben almacenar en botellas plásticas a menos que se congelen, debido a que los fosfatos se pueden adsorber en las paredes plásticas.

Los arsenatos reaccionan con el reactivo de molibdato y produce un color azul similar al formado con el fosfato. Concentraciones bajas de 0.1mg As/L interfieren en la determinación de fosfatos. El cromo hexavalente y los nitritos interfieren en 3% en bajas concentraciones (1-10mg/L) y 15% en concentraciones de 10mg/L. Na<sub>2</sub>S y silicato no interfiere en concentraciones de 1 a 10 mg/L.

## 8. RECOLECCION E IDENTIFICACION DE LA MUESTRA

La muestra para el análisis debe ser recolectada en un recipiente de vidrio o de plástico que se encuentre totalmente limpio, asegurar la cadena de frío y la debida identificación de la muestra con el rotulo. La muestra debe estar completamente identificada en el acta de toma de muestra de agua MI-GS-RG-110.

Antes de tomar una alícuota de la muestra para la determinación de fosfatos, agitar fuertemente el recipiente para obtener una suspensión homogénea, cuidando que el hierro coloidal no quede adherido a las paredes del recipiente. Este problema puede ser eliminado utilizando recipientes plásticos.

## 9. CONSERVACION DE LA MUESTRA

Las muestras deben ser recolectadas preferiblemente en recipientes de plástico o vidrio boro silicato. Las muestras refrigeradas tienen un tiempo máximo de espera para el análisis de **48 horas**.

## 10. RECURSOS

Los siguientes implementos son indispensables para el correcto desarrollo del ensayo:

### 10.1. Materiales

- Vasos de precipitado y/o Erlenmeyer de varias capacidades.
- Balones aforados clase A de 100 mL.
- Pipetas aforadas clase A, de 1, 2, 5, 10, 20 y 25 mL.
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL.
- Probetas de vidrio 25 y 50 mL.
- Pipeta Pasteur.
- Espátula.
- Celda de vidrio de 10 mm
- Papel para limpiar lentes.
- Frascos ámbar y de polietileno.
- Frasco lavador.
- Micropipeta
- Pipeteador

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SANTANDER Gobernación de Santander</p>	<b>MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS EN AGUA</b>  <b>Laboratorio Departamental de Salud Pública</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-32
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	4 de 7

## 10.2 Equipos

- Espectrofotómetro UV-VIS
- Balanza analítica electrónica con aproximación de 0.0001 g.
- Plancha de calentamiento con agitación magnética.

## 11. REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA

### 11.1. Reactivos

- Agua destilada y desionizada
- Ácido sulfúrico,  $H_2SO_4$ , 5N
- Solución de tartrato de antimonio y potasio:
- Indicador de fenolftaleína.
- Solución de molibdato de amonio
- Ácido ascórbico, 0,1 M
- Reactivo combinado:

Mezcle 50mL de  $H_2SO_4$  5N, 5mL de solución de tartrato potasio antimonil, 15mL de solución de molibdato de amonio y 30mL de ácido ascórbico. Deja que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de mezclarlos, luego mezclarlos en el orden indicado, se debe mezclar después de la adición de cada reactivo. Si se forma turbidez en el reactivo combinado, agite y deje reposar por unos minutos hasta que la turbidez desaparezca antes de continuar.

- **Solución Stock de fosfato de 50 mg(P-PO<sub>4</sub>) /L (153 mg PO<sub>4</sub>/L)**
- **Soluciones estándar de fosfatos**
  - **Solución estándar de fosfato (2.5 mg PO<sub>4</sub>) = (7.66 mg PO<sub>4</sub>-P/L)**
  - **Solución estándar de control 0.1 mg PO<sub>4</sub>/L**
  - **Solución estándar de control 0.5 mg PO<sub>4</sub>/L**
- **Patrón de fosfato de 1000 mg/L PO<sub>4</sub>, trazable a NIST, disponible comercialmente.**

## 12. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

### 12.1. Acondicionar el equipo espectrofotómetro.

- Previamente al uso de este equipo leer el instructivo de uso del espectrofotómetro y registre el uso del equipo.
- Seleccionar una longitud de onda de 880nm.

 <p>República de Colombia DEPARTAMENTO DE SANTANDER Gobernación de Santander</p>	<p><b>MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS EN AGUA</b></p> <p><b>Laboratorio Departamental de Salud Pública</b></p>	CÓDIGO	MI-GS-MA-32
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	5 de 7

- Verifique que la celda de muestra en vidrio rectangular de 5cm paso óptico, este perfectamente limpia, si la observa manchada de color azul déjela en jabón libre de fósforo y enjuáguela perfectamente con agua desionizada, si continua la mancha lávela con ácido sulfúrico 5N y enjuague con agua desionizada.

### 12.2. Preparar curva de calibración

- Preparar una serie de estándares de fosfato de 0.1 a 0.8 mg  $PO_4/L$  (0.033-0.261 mg  $PO_4 - P/L$ ). Para ello se debe medir los volúmenes de la solución estándar de fosfato de 7.66 mg  $PO_4/L$  como se indica en la Tabla 1. Agregar dicha solución en un balón de 50mL y aforar con agua destilada.

### 12.3. Acondicionar la muestra

- Agregar 50mL de la muestra a un vaso precipitado y adicione 0.05mL o una gota de indicador de fenolftaleína.
- Si se desarrolla un color rojo, adicionar  $H_2SO_4$ , 5N gota a gota hasta desaparición del color y seguir con el ítem 12.4 (Desarrollo de color).

### 12.4. Desarrollar color

- Adicionar 8 mL del reactivo combinado y mezclar
- Dejar en reposo la muestra por 10 minutos y no más de 30 minutos para el desarrollo de color.

### 12.5. Medición en el espectrofotómetro

- Seleccionar la curva grabada en el menú de los métodos del equipo.
- Leer la absorbancia usando una celda de muestra en vidrio rectangular de 5cm paso óptico
- Se debe registrar la absorbancia y la concentración calculada por el equipo.
- Registrar en la hoja de trabajo MI-GS-RG-526 todo lo que se indique

## 13. CONTROL DE CALIDAD ANÁLITICO

- Ejecute la rutina de verificación del equipo (una vez a la semana) siguiendo el instructivo de manejo y verificación del equipo espectrofotómetro
- Diligenciar el formato de captura de datos del método registrando todas las casillas que se indiquen.
- Se deben realizar los siguientes controles semanalmente o menos: Se deben realizar los siguientes controles semanalmente o menos: analizar una solución estándar de control: verificar el resultado en la carta de control del método y debe encontrarse en los límites de control/alarma. La solución estándar de control puede ser de concentración baja, media o alta. 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

	<b>MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS EN AGUA</b> <b>Laboratorio Departamental de Salud Pública</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-32
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	6 de 7

técnico de fisicoquímica, inicie nuevamente la marcha analítica cuando el líder de análisis lo ordene.

- Se debe participar en Programa Interlaboratorios de Control de Calidad de Aguas Potables -PICCAP, programa oficial de Evaluación Externa Directa del Desempeño (PEEDD) del Instituto Nacional de Salud

#### 14. ANALISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS

##### Cálculos

El espectrofotómetro arroja resultados en mg P –  $PO_4$ //L de acuerdo al factor de dilución digitado en el momento de la lectura, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{mg/L P-}PO_4 = \text{Pendiente} \times \text{Absorbancia}$$

Pendiente	=	Obtenida a partir de la curva de calibración
Absorbancia	=	Lectura realizada por el espectrofotómetro
mg/L P- $PO_4$	=	Concentración de fosfatos calculada y registrada por el espectrómetro UV-VIS

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

#### 15. EMISION DEL INFORME DE RESULTADOS

Para muestras de agua para consumo humano, natural superficial, natural subterránea que en el acta de toma de muestra de agua (MI-GS-RG-110) tenga como objeto vigilancia, procedentes de los municipios categoría 4,5,6 y municipios categoría 1,2,3, con Convenio, se reportaran en la herramienta SIVICAP.

Para muestras de agua para consumo humano, natural superficial, natural subterránea que en el acta de toma de muestra de agua (MI-GS-RG-110) tenga como objeto diagnóstico o ETA se reporta en el formato MI-GS-RG-293: Informe de Análisis de la Calidad del Agua para Consumo Humano, y aguas de uso recreativo y estructuras similares, se reportan utilizando el formato: MI-GS-RG-167 Informe de Análisis de la Calidad del Agua para Uso Recreativo y Estructuras Similares.

Los resultados de los análisis se reportan con una cifra significativa.

#### 16. EXAMENES COMPLEMENTARIOS

No aplica

#### 17. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

	<b>MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE FOSFATOS EN AGUA</b>  <b>Laboratorio Departamental de Salud Pública</b>	CÓDIGO	MI-GS-MA-32
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	7 de 7

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 23 ed., New York.p. (Sección 4-153, 4-154).

## 18. ANEXOS

### 18.1. Documentos asociados

Formato MI-GS-RG-378: Verificación de uso de elementos de protección.  
 Formato MI-GS-RG-37: Control de Temperatura y Humedad.  
 Formato MI-GS-RG-375: Entrega de residuos químicos para disposición final.  
 Formato MI-GS-RG-110: Acta de toma de muestra de agua.  
 Formatos MI-GS-RG-101: Preparación de reactivos.  
 Formato MI-GS-RG-107: Valoración de reactivos.  
 Formato MI-GS-RG-102: Verificación de balanza.  
 Formato MI-GS-RG-102: Verificación de agua destilada.  
 Formato MI-GS-RG-103: Verificación de conductividad.  
 Formato MI-GS-RG-526: Hoja de trabajo.  
 Formato: Carta control.  
 Instructivo de uso de equipos.  
 Formato MI-GS-RG-293: Informe de Análisis de la Calidad del Agua para Consumo Humano.  
 Formato: MI-GS-RG-167: Informe de Análisis de la Calidad del Agua para Uso Recreativo y Estructuras Similares.

## 19. CONTROL DE CAMBIOS

CONTROL DE CAMBIOS					
VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN DEL CAMBIO	ELABORO	REVISO	APROBO
0	29/07/2022	Emisión inicial del documento	<b>AURA VICTORIA BARRERA</b> Profesional universitario Físico Químico Aguas  <b>SHIRLEY M CUCAITA</b> Responsable Técnico Físico Químico Aguas, Alimentos y Bebidas Alcohólicas.	<b>ALBA ROCIO ORDUZ A</b> Líder Grupo LSP  <b>GERMAN MARIN C</b> Director de Salud Integral  <b>DIEGO SANCHEZ BAEZ</b> Coordinador Grupo de Apoyo a la Gestión y Calidad.  <b>CESAR ERNESTO SAENZ ARANDA</b> Director de Planeación y Mejoramiento en Salud	<b>JAVIER ALONSO VILLAMIZAR SUAREZ</b>  Secretario de Salud de Santander