	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	1 de 11

1. OBJETIVO

Determinar cuantitativamente la concentración de iones de nitratos en aguas mediante Espectrometría ultravioleta, según el Standar Methods 4500 NO₃ B

2. ALCANCE

El método es aplicable para la determinación de iones de nitratos en aguas para consumo humano, natural superficial, natural subterránea y aguas para uso recreativo/estructuras similares, en las determinaciones de nitratos que se lleven a cabo 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.


Espectrofotómetro UV-Vis: equipo que sirve para medir la cantidad de intensidad de luz absorbida después de pasar a través de una solución muestra.

Curva de calibración: es un método utilizado para determinar la concentración de una sustancia (analito) en una muestra desconocida, sobre todo en disoluciones. El método se basa en la relación proporcional entre la concentración y una determinada señal analítica (propiedad).

Nitratos: Los nitratos (NO₃⁻) son sales muy solubles, derivadas del nitrógeno, que se pueden encontrar en alimentos y aguas de bebida. Derivan principalmente del empleo de fertilizantes nitrogenados, excretos de animales, descargas de desechos sanitarios e industriales y el uso de aditivos en alimentos, entre otros.

Solución estándar: es una solución que contiene una concentración conocida de un elemento o sustancia específica, llamada patrón primario.

Solución patrón: es la disolución de una sustancia utilizada como referencia al momento de hacer una valoración o estandarización.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	2 de 11

mg NO ₃ /L	Miligramos de nitratos por litro.
mg NO ₃ -N/L	miligramos de nitrato (como N) por Litro.
g	gramos
LDM	Límite de Detección del Método
µm	Micrómetros
s	Desviación estándar
UV – VIS	Ultravioleta - Visible

5. CONDICIONES GENERALES

Revisar el Manual del Sistema de Seguridad y Salud en el Trabajo y las hojas (fichas) de Seguridad y tener as precauciones necesarias para su utilización.

Utilizar los elementos de protección personal (EPP) adecuados para la realización de la marcha analítica, (bata de laboratorio, zapatos antideslizantes, gafas protectoras y guantes de nitrilo) y registrar en el formato de verificación de uso de elementos de protección: MI-GS-RG-378

Si se va a trabajar con ácidos concentrados se debe realizar en la cabina extractora de gases y utilizar mascarilla de gases.

5.2. 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 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

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	3 de 11

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 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 NO_3^- y si los contiene, éstos deben ser eliminados antes de que el agua llegue al consumidor.

La técnica de escaneo espectrofotométrico ultravioleta a 220 nm, es adecuada para la determinación rápida de NO_3^- , permite determinar rápidamente los nitratos, sin embargo, debido a la presencia de materia orgánica bajo, como aguas naturales sin contaminar y fuentes de agua potable, se presentan valores de absorbancia a 220 nm y no absorbe a 275nm. Se realiza una segunda medición de absorbancia a 275 nm para corregir el valor de NO_3^- . Este método no es recomendable para muestras con concentraciones altas de materia orgánica.

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.


En Colombia el valor máximo permisible en un agua para consumo humano es de tan solo 10 mg/L.

7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS

Materia orgánica disuelta, tensoactivos, nitritos y el Cr^{+6} originan interferencias, al igual que algunos iones inorgánicos que normalmente no se encuentran en aguas naturales como el clorito y el clorato. Las sustancias inorgánicas pueden compensarse haciendo análisis independientes de dichos analitos y posteriormente preparar curvas corregidas.

La turbiedad puede afectar los resultados de este método espectrofotométrico, por lo cual la muestra debe estar ópticamente limpia. Es por esto que las muestras se deben filtrar, usando un filtro de membrana de 0.45 μm de tamaño de poro.

La acidificación con HCl 1M hasta $\text{pH} < 2$ previene interferencias de hidróxidos o carbonatos en concentraciones mayores a 1000mg CaCO_3/L . Los cloruros no afectan la determinación de nitratos.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	4 de 11

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.

9. CONSERVACION DE LA MUESTRA

En el sitio de muestra, purgue al menos tres veces, el recipiente puede ser de plástico o de vidrio y/o en fluoropolímero (teflón). La muestra debe transportarse y mantenerse en refrigeración evitando su congelación hasta el momento del análisis. Analice lo más rápido posible, al menos antes de 48 horas.

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 H_2SO_4/L . concentrado por litro) y almacene a <6°C hasta por 28 días.

10. RECURSOS

10.1 Materiales


- ✓ Balones aforados de 100 mL, 250 mL, 1.000 mL
- ✓ Vasos de precipitado 100 mL
- ✓ Probeta de 50 mL
- ✓ Erlenmeyer de 250 mL
- ✓ Buretas 50 mL, 25 mL, 10 mL
- ✓ Pipetas aforadas y/o graduadas 2 mL, 5 mL y 10 mL
- ✓ Pera o Pipeteador
- ✓ Espátula
- ✓ Filtros de acetato de celulosa 0.45 µm
- ✓ Embudo en V
- ✓ Celdas en vidrio emparejadas de 1 cm o más de paso de luz

10.2 Equipos

- ✓ Desecador
- ✓ Balanza analítica
- ✓ Horno
- ✓ Espectrofotómetro UV-Vis a 220 nm y 275 nm
- ✓ Equipo de filtración al vacío

11. REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA

11.1 Reactivos:

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	5 de 11

Los reactivos deben ser de grado analítico y contar con el respectivo certificado de análisis de trazabilidad. Cuando se preparen las soluciones se debe diligenciar los formatos de Preparación de reactivos MI-GS-RG-101, Formato valoración de reactivos MI-GS-RG-107, Formato Verificación de balanza MI-GS-RG-102, Formato de verificación de agua destilada MI-GS-RG-106


- **Agua destilada y desionizada, libre de nitratos**
- **Solución de ácido clorhídrico HCl 1N.**
- **Solución stock de nitratos (100 mg/L NO₃-N).**
- **Solución intermedia de nitrato (10 mg/L NO₃-N).**
- **Soluciones estándar de control:**
 - Prepare un **estándar de 0,2 mg/L NO₃-N** a partir de la solución intermedia de 10 mg/L NO₃-N
 - Prepare un **estándar de 0,4 mg/L NO₃-N** a partir de la solución intermedia de 10 mg/L NO₃-N,
 - Prepare un **estándar de 0,8 mg/L NO₃-N** a partir de la solución intermedia de 10 mg/L NO₃-N
 - Prepare un **estándar de 1,4 mg/L NO₃-N** a partir de la solución intermedia de 10 mg/L NO₃-N
 - Prepare un **estándar de 7,0 mg/L NO₃-N** a partir de la solución intermedia de 10 mg/L NO₃-N
- **Patrón comercial 1000 mg/L de NO₃ disponible comercialmente**
- **Cloroformo**

12. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO

12.1 Preparar curva de calibración

Preparar patrones en un rango de 0 a 7 mg/L NO₃-N a partir de la solución estándar de 1000 mg/L NO₃-N comercial:

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 las absorbancias corregidas de las muestras, obtener la concentración de las muestras directamente de la curva estándar.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	6 de 11

12.2 Tratamiento de la muestra

- Medir 100 mL de una muestra y filtrarla a través de membrana de acetato de celulosa de 0.45 µm, solo si la muestra sólidos en suspensión.
- Dejar a temperatura ambiente la muestra.
- Purgue una probeta de 50 mL con la muestra filtrada, mida 50 mL y transfíralos a un Erlenmeyer de 125 mL.
- Adicione 1 mL de solución de HCl 1 N y mezclar muy bien.

12.3. Acondicionamiento del equipo


- Encienda el Espectrofotómetro UV-VIS 45 minutos antes de iniciar las lecturas, calibrar el equipo a 100% de transmitancia (o cero de absorbancia). Acondicionar el equipo espectrofotómetro a una longitud de onda de 220 nm para obtener la lectura de NO₃⁻ y una longitud de onda de 275 nm para determinar la interferencia debida a la materia orgánica disuelta.

12.4. Medición espectrofotométrica

- Leer la absorbancia del blanco (agua destilada) a 220nm y ajustar a cero de absorbancia usando celdas de sílice emparejadas de 1 cm o más de paso de luz.
- Leer las absorbancias de los patrones y muestras a 220nm. verifique la observación de una línea recta horizontal en el rango de la longitud de onda, 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.
- Repetir la lectura del blanco, patrones y muestra a 275nm (determinación de interferencias por la materia orgánica).
- Registrar en el respectivo Formato MI-GS-RG-589 verificación de técnicas de espectrofotometría, las absorbancias y todo lo que se indique.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

- 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,

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	7 de 11

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 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

13. ANALISIS Y EXPRESION DE RESULTADOS

14.1 Cálculos

Para las muestras repetir el procedimiento anterior y registrar el valor de la absorbancia en el valor en el formato de hoja de trabajo MI-GS-RG-526.

La respuesta instrumental del equipo arroja resultados en mg/L NO₃⁻N de acuerdo al factor de dilución digitada en el momento de la lectura, aplicando la siguiente fórmula:

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

Ecuación 1. Concertación de nitratos

Donde:


M= inverso de la pendiente de la curva de calibración

Absorbancia= Lectura realizada por el espectrofotómetro

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

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.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	8 de 11

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. DOCUMENTOS DE REFERENCIA

Eaton, A. & Franson, M. 2005. American water works association & water environment federation. Standard methods for the examination of water and wastewater. Edición 21. Washington-U.S.A: American Public Health Association

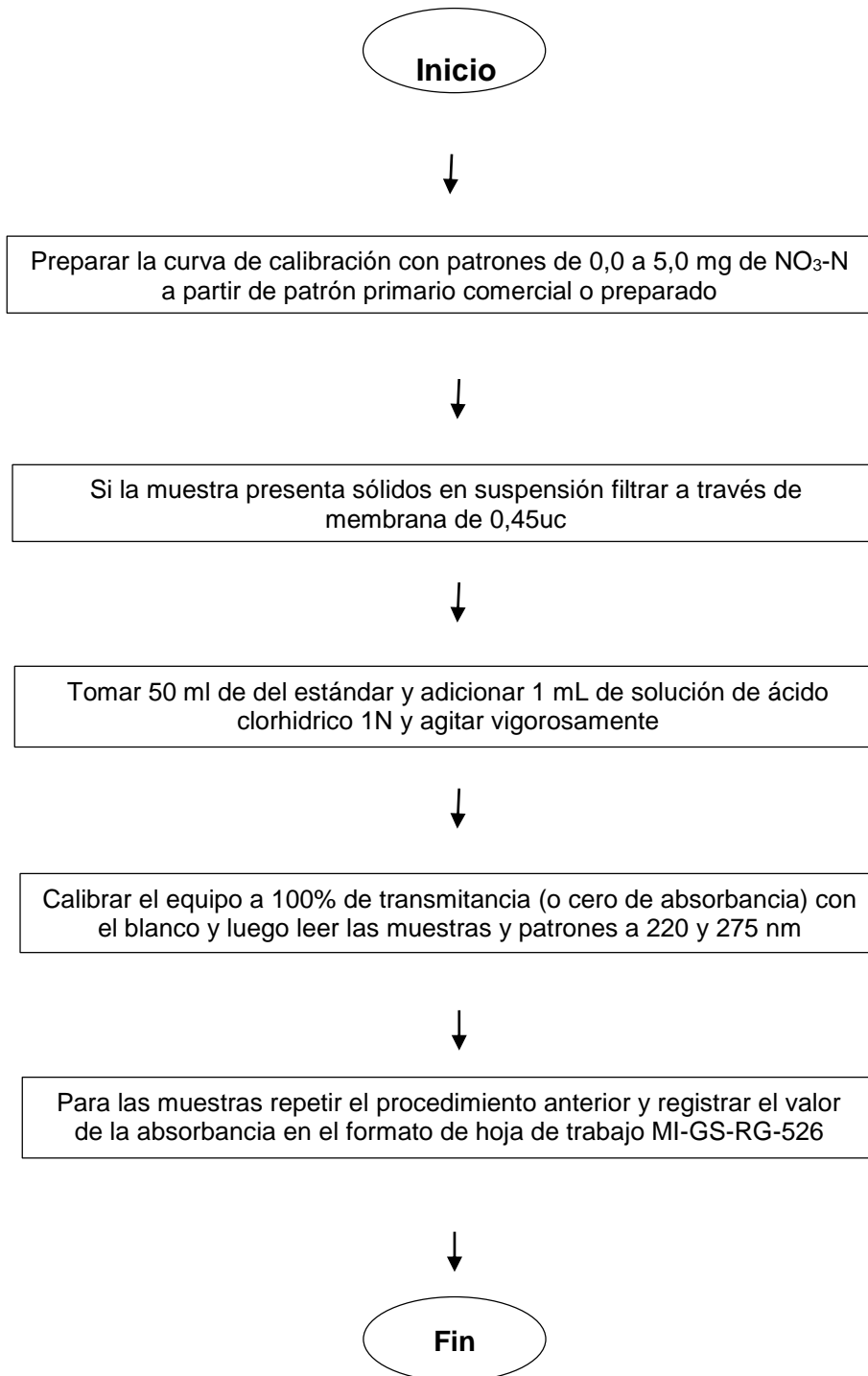
Nava G. 2011. Manual de métodos fisicoquímicos básicos para el análisis de aguas para consumo humano. Bogotá-Colombia: Programa de vigilancia por laboratorio de la calidad de agua para consumo humano-Instituto Nacional de Salud, INS. 108-111, 2011.


Standard methods for the Examination of Water and Wastewater 4500 NO₃ Method espectofotometria UV-Vis

18. ANEXOS

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	9 de 11

181. Diagrama de flujo para la determinación de Nitratos.



	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	10 de 11

18.2. 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-589: Verificación de técnicas de espectrofotometría.


Formato MI-GS-RG-526: Hoja de trabajo.

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.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRATOS EN AGUA Laboratorio Departamental de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-34
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	31/08/2022
		PÁGINA	11 de 11

17. CONTROL DE CAMBIOS

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