

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	1 de 8

1. OBJETIVO

Determinar cuantitativamente la concentración de iones nitritos en muestras de aguas, bajo metodología Standar Methods SM 4500 NO₂ B, método colorimétrico

2. ALCANCE

El método es aplicable para la determinación de iones de nitritos en aguas para consumo humano, natural superficial, natural subterránea y aguas para uso recreativo/estructuras similares, 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

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.

Blanco: es una solución de comparación preparada según se indica en los ensayos específicos.

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).

5. CONDICIONES GENERALES

Para realizar el análisis se debe contar con los elementos de protección personal adecuados (gafas, bata y guantes), Formato de verificación de uso de elementos de protección: MI-GS-RG-378 y verificar las condiciones ambientales, Formato MI-GS-RG-37.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	2 de 8

No se deben realizar procedimientos y/o tareas para los que no está entrenado o autorizado.

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

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.

6. FUNDAMENTO DEL METODO DE ENSAYO

6.1 MÉTODO

Su presencia de iones nitritos (NO_2^-) indica, procesos activos biológicos en el agua, los nitritos en concentraciones altas reaccionan dentro del organismo con aminas y amidas secundarias y terciarias formando nitrosaminas de alto poder cancerígeno.

Los nitritos (NO_2^-) son determinados a través de la formación de un color rojo púrpura producido a pH 2,1 a 2,5 por reacción de diazotación-copulación de la sulfanilamida con diclorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina (NED diclorhidrato). El sistema de color obedece la ley de Beer en concentraciones hasta de $180 \mu\text{g NO}_2^-$.

El rango de aplicación del método para medidas espectrofotométricas es de 10 a $100 \mu\text{g NO}_2^-$ con lecturas a una longitud de onda de 543 nm si se emplea celda de 1 cm de longitud, altas concentraciones se pueden determinar por dilución.

En solución ácida los iones nitrito forman con el ácido sulfanílico una sal de diazonio que reacciona con el diclorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina dando un azocolorante violeta rojizo. Este colorante se determina fotométricamente.

7. LIMITACIONES O INTERFERENCIAS

Se presenta incompatibilidad química entre el nitrito, cloro y tricloruro de nitrógeno. La presencia de tricloruro de nitrógeno imparte una coloración falsa positiva. Los siguientes iones Sb^{+3} , Au^{+3} , Bi^{+3} , Fe^{+3} , Pb^{+2} , Hg^{+2} , Ag^+ , cloroplatino (PtCl) y metavanadato (VO), no deben estar presentes porque interfieren debido a su precipitación bajo las condiciones de la técnica. El ion cúprico genera interferencias. Se recomienda filtrar la muestra a través de membranas $0,45 \mu\text{m}$ para minimizar el anterior efecto debido a la presencia de partículas en suspensión.

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 $0,45 \mu\text{m}$.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	3 de 8

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 (2-4 +/-2 °C) y la debida identificación de la muestra con el rotulo. El tiempo máximo para análisis después de tomada la muestra, debe ser de dos (2) días. 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. 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.

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
- ✓ Membrana de filtración 0,45 µm de tamaño de poro
- ✓ Embudo en V
- ✓ Celda para espectrofotómetro

10.1 Equipos

- ✓ Balanza analítica
- ✓ Espectrofotómetro visible con longitud de onda 543 nm

11. REACTIVOS, CONTROLES Y MATERIALES DE REFERENCIA

11.1 Reactivos:

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 libre de nitritos:** Use agua libre de nitritos para hacer todos los reactivos y diluciones.
- **Reactivo de coloración NEDA**
- **Solución de ácido clorhídrico HCl 1N**
- **Hidróxido de amonio (NH₄OH) 1N**
- **Ácido Sulfúrico 1:1**

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	4 de 8

- **Solución de Oxalato de sodio 0.025M (0.05N)**
- **Solución de Sulfato ferroso amoniacal 0.05N (0.05M)**
- **Solución de Permanganato de potasio 0.05N**
- **Solución patrón de nitrito (250 mg/L NO₂⁻N)**
- **Soluciones estándar de control**
 - **Estándar intermedio de 5 mg/L NO₂⁻N**
 - **Estándar de 0,20 mg/L NO₂⁻N**
 - **Estándar de 0,10 mg/L NO₂⁻N**
 - **Estándar de 0,050 mg/L NO₂⁻N**
 - **Estándar de 0,010 mg/L NO₂⁻N**

NOTA: Patrón comercial 1000 mg/L de NO₂ disponible comercialmente (304.34 mg NO₂⁻-N/ L), trazable a NIST, disponible comercialmente

11. DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

12.1. Estandarizar la solución patrón de Nitrito

12. 2. Estandarizar la solución de KMnO4.

12.3. 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 543nm.

12.4. Preparar curva de calibración

Preparar patrones en un rango de 0 a 5 mg/L NO₂⁻N a partir de la solución estándar de 5 mg/L NO₂⁻N: 0, 0.01, 0.05, 0.1, 0.2, y 5 mg/L

- Realizar el procedimiento para desarrollar color (ítem12.6).
- Realizar la medición de color (ver ítem 12.5 medición en el espectrofotómetro).
- Ajustar a cero de absorbancia con un blanco (agua destilada). El blanco tiene igual tratamiento que los demás estándares.
- Graficar la concentración de nitrito como NO₂⁻N contra Absorbancia.
- Registrar en el formato verificación de técnicas de espectrofotometría MI-GS-RG-589 y carta control las absorbancias y todo lo que se indique.

NOTA: La curva de calibración realizada se debe grabar en el equipo Se debe verificar la curva periódicamente. En el caso que las soluciones de control no arrojen el valor deseado y se realicen las debidas verificaciones, se debe construir la curva nuevamente como se indicó anteriormente.

12.5. 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.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	5 de 8

- Dejar a temperatura ambiente la muestra, ajusta el pH entre 5 y 9 con la adición de HCL 1N o NH₄OH. Si la muestra es tratada con cloro, eliminar dicha interferencia

12.6. Desarrollar el color

- Medir 50mL de muestra o una porción diluida y llevarla a un erlenmeyer de 125 mL.
- Adicionar 2mL del reactivo de coloración y mezclar la muestra.
- Entre 10 minutos y 2 horas después de adicionar el color, este se desarrollará y es el momento indicado para hacer la lectura en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 543 nm.

12.7. Medición en el espectrofotómetro:

- Seleccionar la curva grabada en el menú de los métodos internos del equipo.
- Utilizar una celda de paso para realizar el procedimiento.
- Se debe registrar la absorbancia y la concentración calculada por el equipo.
- Registrar en el formato verificación de técnicas de espectrofotometría MI-GS-RG-589 y carta control

12 CONTROL DE CALIDAD ANALITICO

- Ejecute la rutina de verificación del equipo espectrofotómetro según cronograma del laboratorio (una vez a la semana).
- Utilice siempre material limpio, siguiendo el ítem lavado de material en el Instructivo de limpieza y desinfección del laboratorio
- Diligenciar el formato de captura de datos del método registrando todas las casillas que se indiquen.
- Se debe participar en Programa Inter laboratorio 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

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.

Interpole el valor de absorbancia calculada en la curva de calibración para obtener la concentración de nitritos en mg/L NO₂-N. En caso de dilución aplique la siguiente formula:

$$\text{Concentración} \left(\text{mg de } \frac{\text{Nitrito}}{\text{L}} \right) = \frac{CxB}{M}$$

Ecuación 1. Concertación de nitratos

Donde:

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	6 de 8

C=concentración de nitrito en mg/L de $\text{NO}_2\text{-N}$ o mg NO_2^- interpolada en la curva de calibración.

B=factor de corrección por dilución en mL

M=volumen de muestra tomado para diluir (mL)

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.

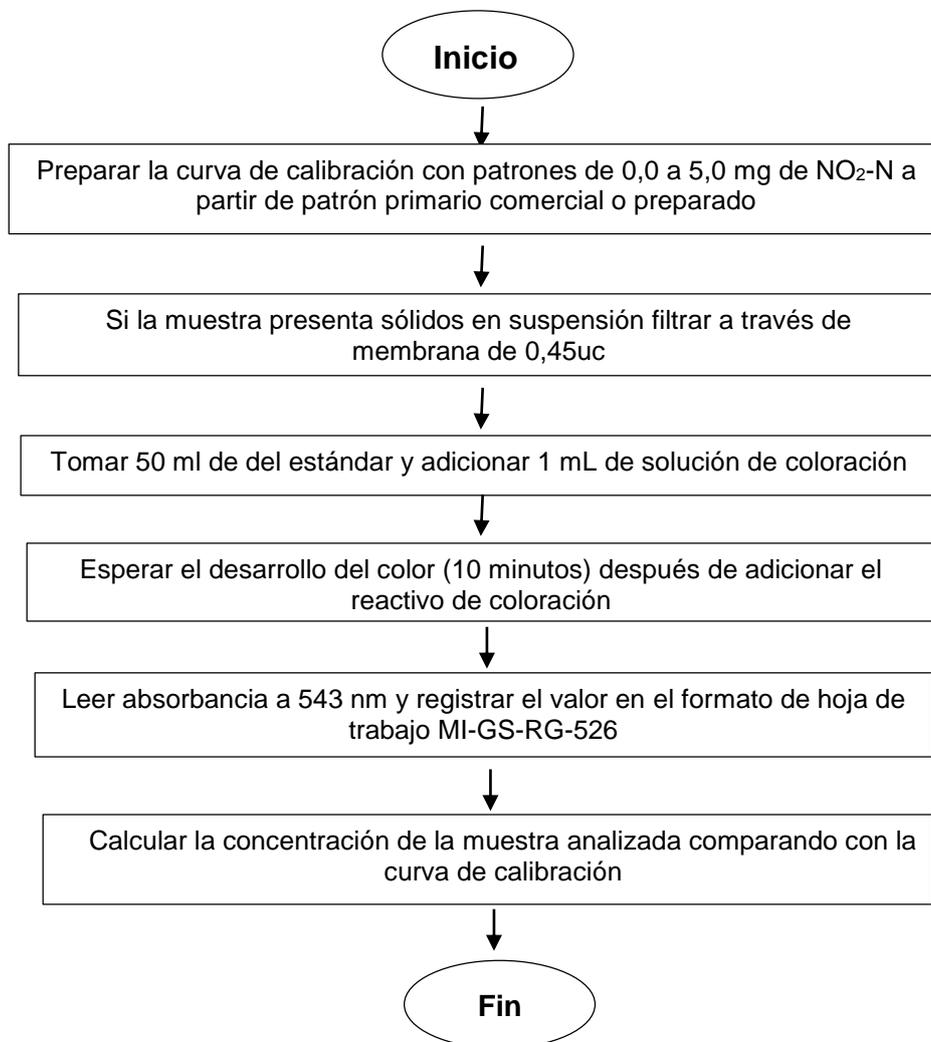
Nava G. 2011. Manual de métodos fisicoquímicos básicos para el análisis de aguas para consumo humano. Bogotá-Colombia: Programa de vigilancia por laboratorio de la calidad de agua para consumo humano-Instituto Nacional de Salud, INS. 80-81, 2011.

Standard methods for the Examination of Water and Wastewater 4500 NO_2 Metodo de Colorimetrico (N-(1-naftil)-etilendiamia).

18. ANEXOS

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	7 de 8

18.1. Diagrama de flujo para la determinación de Nitritos.



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.

	MANUAL PARA DETERMINACIÓN DE NITRITOS EN AGUA Laboratorio de Salud Pública	CÓDIGO	MI-GS-MA-42
		VERSIÓN	0
		FECHA DE APROBACIÓN	01/09/2022
		PÁGINA	8 de 8

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	03/06/2022	Emisión inicial del documento	AURA VICTORIA BARRERA Profesional universitario Físico Químico Aguas SHYRLEY M CUCAITA Responsable técnico Físico Químico Aguas, Alimentos y Bebidas.	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