



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 1 de 16	

## 1. OBJETIVO

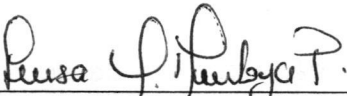
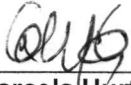

Establecer el Instructivo para la determinación de nitratos para muestras de agua cruda y tratada en el Laboratorio Calidad de Agua en la Planta de Tratamiento de Agua de Serviciudad ESP.

## 2. ALCANCE Y RESPONSABLES

Este Instructivo aplica para muestras de agua tratada y cruda en el Laboratorio de Control de Calidad de Agua en la Planta de Tratamiento de Agua de Serviciudad ESP.

La administración y control de este documento es responsabilidad Técnico de Calidad de Agua. Los ajustes del documento que surjan en el camino serán llevados a cabo por los laboratoristas químicos de agua, bajo la revisión del profesional de la planta de tratamiento. La ejecución de los ensayos será responsabilidad de los laboratoristas químicos de agua.

## 3. DEFINICIONES (No aplica)

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
		
<b>Luisa Marina Montoya Posada</b> Técnico de Calidad de agua	<b>Genny Marcela Hurtado Giraldo</b> Profesional Planta de Tratamiento	<b>Eduardo Andrés Brand Ruiz</b> Subgerente Técnico y Operativo
Fecha: 2024-01-20	Fecha: 2024-01-25	Fecha: 2024-01-27



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 2 de 16	

## 4. GENERALIDADES

### 4.1. INTRODUCCIÓN

En el contexto de aguas y aguas residuales, las formas de nitrógeno más relevantes, en orden descendente de estado de oxidación, son el nitrato, el nitrito, el amoníaco y el nitrógeno orgánico. Estas variantes, junto con el gas nitrógeno (N<sub>2</sub>), son interconvertibles bioquímicamente y constituyen elementos del ciclo del nitrógeno. Su importancia es multifacética y abarca diversas razones.

El nitrógeno orgánico se define funcionalmente como nitrógeno unido orgánicamente en el estado de oxidación trin negativo, excluyendo así todos los compuestos nitrogenados orgánicos. Desde un punto de vista analítico, tanto el nitrógeno orgánico como el amoníaco pueden determinarse juntos, conocidos como "nitrógeno Kjeldahl", un término que describe la técnica empleada en su análisis. El nitrógeno orgánico abarca materiales naturales como proteínas, péptidos, ácidos nucleicos y urea, además de numerosos materiales orgánicos sintéticos. Las concentraciones típicas de nitrógeno orgánico varían desde unos pocos cientos de microgramos por litro en algunos lagos hasta más de 20 mg/L en aguas residuales sin tratar.

El nitrógeno oxidado total es la suma del nitrato y el nitrito. Aunque el nitrato suele estar presente en cantidades mínimas en aguas superficiales, puede alcanzar niveles elevados en aguas subterráneas. En exceso, contribuye a la metahemoglobinemia, una enfermedad peligrosa para los bebés. Por esta razón, se ha establecido un límite de 10 mg de nitrato como nitrógeno por litro de agua potable para prevenir este trastorno. Aunque el nitrato se encuentra en cantidades reducidas en aguas residuales domésticas, los efluentes de plantas de tratamiento



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 3 de 16	

biológico nitrificantes pueden contener concentraciones de hasta 30 mg de nitrato como nitrógeno por litro.

El nitrato es un nutriente esencial para muchos organismos autótrofos fotosintéticos y, en algunos casos, se ha identificado como el factor limitante del crecimiento en los ecosistemas. Por otro lado, el nitrito representa un estado de oxidación intermedio del nitrógeno, tanto en la oxidación del amoníaco a nitrato como en la reducción del nitrato. Este proceso de oxidación y reducción puede ocurrir en plantas de tratamiento de aguas residuales, sistemas de distribución de agua y cuerpos de agua naturales.

El nitrito puede introducirse en sistemas de suministro de agua debido a su uso como inhibidor de la corrosión en procesos industriales que emplean agua. Además, el nitrito es el agente etiológico responsable de la metahemoglobinemia. El ácido nitroso, formado a partir de nitrito en soluciones ácidas, puede reaccionar con aminas secundarias (RR'NH) para generar nitrosaminas (RR'N-NO), muchas de las cuales se sabe que son carcinogénicas.

La importancia toxicológica de las reacciones de nitrosación, tanto in vivo como en el entorno natural, es motivo de preocupación y de investigaciones activas en la actualidad.

El amoníaco se encuentra naturalmente en aguas superficiales y residuales. En general, su concentración es baja en las aguas subterráneas debido a su adsorción a las partículas del suelo y las arcillas, lo que dificulta su lixiviación desde el suelo. Su origen principal radica en la desaminación de compuestos orgánicos nitrogenados y en la hidrólisis de la urea.

En algunas plantas de tratamiento de agua, se añade amoníaco para reaccionar con el cloro y formar un residuo de cloro combinado. Las concentraciones de amoníaco en el agua varían considerablemente, desde menos de 10 microgramos



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 4 de 16	

de nitrógeno amoniacal por litro en algunas aguas superficiales y subterráneas hasta más de 30 mg/L en algunas aguas residuales.

El nitrógeno orgánico se denota como N orgánico, el nitrógeno en forma de nitrato como NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, el nitrógeno en forma de nitrito como NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N y el nitrógeno en forma de amoníaco como NH<sub>3</sub>-N. La determinación del nitrógeno total se realiza mediante la digestión oxidativa de todas las formas de nitrógeno digeribles a nitrato, seguida de la cuantificación del nitrato resultante.

#### 4.2. PRINCIPIO DEL MÉTODO

La técnica descrita se utiliza exclusivamente para analizar muestras con poca materia orgánica, como aguas naturales no contaminadas y suministros de agua potable. La curva de calibración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> sigue la ley de Beer hasta 11 mg N/L.

La absorción de UV a 220 nm permite a los analistas determinar el NO<sub>3</sub><sup>-</sup> de manera rápida. Es importante tener en cuenta que la materia orgánica disuelta también puede absorber a 220 nm, pero el NO<sub>3</sub><sup>-</sup> no absorbe a 275 nm. Por lo tanto, se puede realizar una segunda medición a 275 nm y utilizarla para corregir el valor de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, si es necesario.

Es importante destacar que la extensión de esta corrección empírica está relacionada con la naturaleza y concentración de la materia orgánica, y puede variar entre diferentes muestras de agua. Por lo tanto, este método no se recomienda si se requiere una corrección significativa. Sin embargo, puede ser útil para monitorear los niveles de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en un cuerpo de agua con un tipo constante de materia orgánica.

#### 4.3. INTERFERENCIAS

Las posibles interferencias en el análisis de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> incluyen materia orgánica disuelta, tensoactivos, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, cromo hexavalente [Cr(VI)], y varios iones inorgánicos



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 5 de 16	

que normalmente no se encuentran en el agua natural, como el clorito y el clorato. Los factores de corrección para la absorbancia de materia orgánica se pueden establecer mediante el método de adiciones combinado con el análisis del contenido original de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a través de otro método.

La filtración de muestras elimina la interferencia de partículas en suspensión. La acidificación con ácido clorhídrico 1M (HCl) a pH <2 evita la interferencia de concentraciones de hidróxido o carbonato de hasta 1000 mg de carbonato cálcico (CaCO<sub>3</sub>)/L. El cloruro no afecta la determinación.

Las sustancias inorgánicas se pueden compensar analizando de forma independiente sus concentraciones y preparando curvas de corrección individuales. Es recomendable filtrar las muestras turbias y probar el filtro en busca de contaminación por NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.

#### **4.4. SELECCIÓN DEL MÉTODO**

La determinación del nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) puede ser desafiante debido a la alta probabilidad de que los componentes que interfieren estén presentes en diversas matrices. A continuación, se mencionan algunos métodos que se pueden utilizar para analizar NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. La selección del método adecuado se realizará después de considerar las ventajas y limitaciones de cada uno. Es importante tener en cuenta la matriz de muestra, el rango de concentración y las necesidades específicas de datos para la aplicación en cuestión al considerar un método.

La técnica de luz ultravioleta (UV) (SM: 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.B), que utiliza la absorbancia a 220 nm para medir NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, es adecuada para el análisis de agua no contaminada (baja en materia orgánica).

Examina la muestra según sea necesario y, posteriormente, elige un método adecuado considerando su rango de concentración e interferencias probables. La



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 6 de 16	

determinación del nitrato se puede llevar a cabo mediante cromatografía iónica (Sección SM: 4110), electroforesis de iones capilares (Sección SM: 4140), o los métodos que se detallan aquí. Los rangos aplicables para los métodos de esta sección son:

- 0,2–11 mg de nitrato-nitrógeno (NO<sub>3</sub>-N) /L [Espectro ultravioleta Método fotométrico (SM: 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> B)]
- 0,5-2,5 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>N/L [Segunda pantalla ultravioleta derivada Método ing (SM: 4500- NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.C)]
- 1-50 mg NO<sub>3</sub>-N/L [Método de electrodo de nitrato (4500- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> D)]
- 0,05-1,0 mg de nitrato + nitrógeno nitrito (NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub>-N) /L [Método de reducción de cadmio (4500- NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. E)]
- 0,05–10 mg de nitrato + nitrógeno nitrito (NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub>-N) /L [Método automatizado de reducción de cadmio (4500- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> F)]
- 0,05–10 mg de nitrato + nitrógeno nitrito (NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub>-N) /L [Método automatizado de reducción de hidracina (4500- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> H)]
- 0,01–2,0 ó 0,05 – 5,0 mg de nitrato + nitrito (NO<sub>3</sub> + NO<sub>2</sub>-N) /L [Método inyección de flujo reducción de cadmio (4500- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> I)]

Pueden existir otros rangos aplicables para cualquiera de los métodos mencionados anteriormente. Es importante consultar las recomendaciones de los fabricantes. En el caso de concentraciones más elevadas de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, se recomienda diluir dentro del rango del método seleccionado. Se sugiere consultar las secciones SM: 4110 B y C para conocer la gama de trabajo de los métodos de cromatografía iónica

Se debe filtrar las muestras turbias y verificar los filtros en busca de contaminación por NO<sub>3</sub><sup>-</sup>.



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 7 de 16	

El método seleccionado para el laboratorio de calidad de la planta de tratamiento de Villasantana es el SM: 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>B. Esta elección se basa en las características de las muestras previamente analizadas en el laboratorio.

#### **4.5. TOMA, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS**

Se recomienda recolectar las muestras en recipientes de polietileno, fluoropolímero o vidrio. Si es posible, es preferible iniciar las determinaciones de nitrato inmediatamente después del muestreo. Las muestras pueden ser almacenadas sin acidificar hasta 48 horas a una temperatura por debajo de los 6°C.

La acidificación convierte cualquier nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) en NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. Como resultado, los valores de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, reflejan la suma de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Si las muestras deben almacenarse por más de 48 h, se recomienda acidificarlas a un pH por debajo de 2 utilizando ácido sulfúrico o clorhídrico (según el método) y conservarlas a una temperatura inferior a los 6°C (o de 2 a 6 °C para muestras de cumplimiento) por hasta de 28 días.

Las muestras cloradas son estables durante al menos 14 días sin conservación con ácido.

#### **4.6. CONTROL DE CALIDAD**

Las prácticas de control de calidad (QC) y los criterios de aceptación se describen en las Secciones del estándar SM: 1020 y SM: 4020. La siguiente descripción aplica a todos los métodos NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N; sin embargo, algunos métodos tienen medidas



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 8 de 16	

de control de calidad adicionales. Completar las tareas iniciales de control de calidad, incluida:

- Demostración inicial de capacidad para cada analista (DIC)
- Estimación del límite de detección del método (LDM)
- Determinación del rango de trabajo

Esto debe ser tenido en cuenta antes de analizar cualquier muestra y al menos una vez al año a partir de entonces. Aplique el resto de estas medidas siempre que se analicen muestras. Si no se cumplen los criterios de aceptación, deténgase y corrija el problema.

**Demostración inicial de la capacidad (DIC):** Cada analista en el laboratorio debe realizarlo al menos una vez antes de analizar cualquier muestra para demostrar el dominio en la realización del método y la obtención de resultados aceptables para cada analito. La DIC también se usa para demostrar que las modificaciones de un laboratorio a un método producirán resultados tan precisos y exactos como los producidos por el método de referencia. Este Instructivo lo deberá realizar con la verificación del método, cada que se determine en el instructivo de aseguramiento de la calidad.

Como mínimo, incluya un blanco de reactivo y al menos cinco BFL en una concentración entre uno y cuatro veces el límite de reporte del método (MLR/LMR).

**Límite de detección del método (LDM):** Determinar el LDM con la verificación del método. Si reporta el nivel de detección del método (LDM), verificar el nivel "LDM" al menos trimestralmente mediante el análisis de muestras con el mismo nivel utilizado para determinar el nivel de detección del método (LDM) y asegúrese que los resultados son positivos. (El laboratorio reporta como mínima cantidad cuantificable el valor verificado del límite de reporte LRM).





<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 9 de 16	

**Determinación del rango de trabajo (LRM):** Con cada lote analítico, analice una muestra de agua de reactivo añadida a LRM y asegúrese de que cumpla con los criterios de aceptación de LRM (generalmente  $\pm 50\%$ ). De lo contrario, vuelva a analizar los resultados completos del lote o del marcador para todas las muestras del lote. Si el LRM tiene un sesgo alto, las muestras no detectadas (ND) se pueden informar con indicadores si el método o la reglamentación lo permiten.

**Blanco fortificado de laboratorio (BFL):** Verifique la calibración de cada instrumento con cada lote analítico. Con una calculadora, una hoja de cálculo electrónica o un software de instrumento, calcule la pendiente, la intersección y el coeficiente de correlación ( $r$ ) o el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) de la curva de calibración. El valor  $r$  debe ser al menos 0,995 ( $r^2 \geq 0,99$ ). Calcule hacia atrás las concentraciones aparentes de los estándares del mismo lote usado para la curva original y seleccione al menos 4 puntos de las concentraciones de la curva. Para estándares  $> 10$  veces el LDM, los valores medidos deben ser del 90 al 110% de los valores reales.

**Blanco fortificado de laboratorio Segunda Fuente / Estándar de verificación de calibración (EVC y/o BFLs):** Prepare un estándar de verificación de calibración (EVC y/o BFLs) a partir de una solución madre preparada de un lote diferente al utilizado para los estándares de calibración (segunda fuente). Por cada lote de muestras verifique la calibración analizando un estándar cuya concentración de NO<sub>3</sub>-N del EVC's y/o BFLs debe ser entre el 30 al 70% del estándar de calibración más alta. Ejecute el BFLs inmediatamente después de la calibración; el resultado debe ser del 90 al 110% del valor esperado. Los resultados deben estar dentro de las desviaciones permisibles (debe ser del 90 al 110% del valor esperado) de igual manera de los valores de la calibración inicial o de los valores o puntos específicos en la curva de calibración. Si el valor está



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 10 de 16	

fuera de control, tome medidas correctivas que incluyan un nuevo análisis de cualquier muestra analizada desde el último control aceptable.

**Blanco Reactivo / Muestra Blanco (MB):** Un blanco reactivo (muestra en blanco - MB) consiste en agua de reactivo (sección SM: 1080) y todos los reactivos (incluidos los conservantes) que normalmente están en contacto con una muestra durante todo el Instructivo analítico. El blanco de reactivo se usa para determinar si los reactivos y preparativos de los pasos analíticos contribuyen a la incertidumbre de medición y de qué manera. Como mínimo, incluya un blanco de reactivo con cada 10 muestras y después de la última. Evalúe el resultado del reactivo inmediatamente después del EVC/BFLs para verificar si hay contaminación; si los niveles de contaminación son inaceptables, identifique y elimine la fuente. El resultado positivo de la muestra es sospechoso si los analitos en el blanco del reactivo son  $> 1/2$  LRM. La lectura del blanco (BCi/MB) debe ser el nivel mínimo de reporte (LRM).

**Matriz Fortificada de Laboratorio (MFL):** Una matriz fortificada de laboratorio (MFL) es una porción adicional de muestra a la que se agrega una cantidad conocida de los analitos de interés antes de la preparación de la muestra.

El MFL se usa para evaluar el porcentaje de recuperación del analito en una matriz de muestra. Si un MFL es factible y el método no especifica los requisitos de frecuencia de MFL, incluya al menos un MFL con cada lote de muestras. Agregue una concentración que sea al menos 10 x LR menor o igual que el punto medio de la curva de calibración, o el nivel especificado del método para la (s) muestra (s) seleccionada (s). El analista debe usar la misma concentración que para el BFL, para permitir que los analistas separen el efecto de la matriz del rendimiento del laboratorio. Prepare MFL de la misma fuente de referencia utilizada para BFL.



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 11 de 16	

#### **Duplicado de muestra / matrices fortificadas de laboratorio por duplicado:**

Las muestras duplicadas se analizan para estimar la precisión. Un duplicado MFL es una segunda porción de la muestra descrita en SM 4020B.7 a la que se agrega una cantidad conocida del analito (s) de interés antes de la preparación de la muestra. Si se recolecta suficiente volumen de muestra, a esta segunda porción de muestra recolecta se agrega y procesa de la misma manera que el MFL. Como mínimo, incluya una muestra duplicada o un duplicado MFL con cada lote de muestras o con base en el 5%, el que sea más frecuente, y procesarlo independientemente a través de la preparación y el análisis de la muestra completa. Evalúe el resultado duplicado de MFL para precisión y exactitud (precisión solo para muestras duplicadas).

#### **4.7. SEGURIDAD LABORAL**

Es imprescindible utilizar los implementos de seguridad recomendados, tal como se indica en el Manual de Higiene y Seguridad Laboral STMH-01. Esto incluye vestir bata, pantalón, zapatos antideslizantes, gafas de seguridad, máscara con filtro mixto de vapores ácidos y orgánicos, así como guantes de caucho, dependiendo de la actividad a realizar.

Durante la recolección de residuos, se emplean recipientes de plástico adecuados, debidamente rotulados para su posterior recolección y disposición final a través de una empresa externa.

#### **4.8. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES**

##### **4.8.1. EQUIPOS**



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 12 de 16	

Espectrofotómetro, para uso a 220 y 275 nm con celdas de cuarzo emparejadas de 1 cm de trayectoria de luz o más.

## 4.8.2. REACTIVOS Y ESTÁNDARES DE CONTROL

### 4.8.2.1. Reactivos

**Agua de reactivo:** Utilice agua de reactivo tal como se define en la Sección SM: 1080 para preparar todas las soluciones y diluciones.

**Estándar de nitrato de stock (100mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L):** Nitrato de potasio seco (KNO<sub>3</sub>) en un horno a 103-105°C durante 24 h. Disolver 0,7218 g ± 0,0005 g en agua y diluir a 1000 mL.

Esta solución equivale a: 1,00 mL = 100µg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N = 100mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L = 443mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> /L.

Conservar con 2 mL cloroformo de (CHCl<sub>3</sub>)/L. La solución es estable durante al menos 6 meses. Alternativamente, utilice una solución comercial de stock NO<sub>3</sub><sup>-</sup> -N.

**Estándar de nitrato intermedio (10mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L):** Diluir 100mL de solución NO<sub>3</sub><sup>-</sup> -N a 1000mL con agua. Esta solución equivale a: 1.00mL = 10,0µg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> -N = 44,28mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.

Conservar con 2 mL cloroformo de (CHCl<sub>3</sub>)/L. La solución es estable durante 6 meses.

**Ácido Clorhídrico 1M:** Diluir 83mL de ácido clorhídrico (HCl) concentrado con agua de reactivo (destilada/ desionizada). Almacenar en un recipiente de vidrio o en una botella de alta densidad en polietileno (HDPE).

Esta solución es estable por un (1) año si se mantiene cerrado.



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 13 de 16	

#### 4.8.2.2. Estándares de Control de Calidad

**Estándar de nitrato / control bajo (0,4mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L = 1,77mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L):** Tomar 2mL del estándar intermedio, aforar hasta 50mL con agua de reactivo. Esta solución equivale a: 0,4mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L = 1,77mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.

Seguir el Instructivo descrito en el presente instructivo para determinar la concentración de nitrato.

**Estándar de nitrato / control intermedio (1,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L = 4,43 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L):** Tomar 5 mL del estándar intermedio, aforar hasta 50 mL con agua de reactivo. Esta solución equivale a: 1,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L = 4,43 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.

Seguir el Instructivo descrito en el presente instructivo para determinar la concentración de nitrato.

**Estándar de nitrato / control alto (4,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L = 17,72 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L):** Tomar 20 mL del estándar intermedio, aforar hasta 50mL con agua de reactivo. Esta solución equivale a: 4,0 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N /L = 17,72 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/L.

Seguir el Instructivo descrito en el presente instructivo para determinar la concentración de nitrato.

**Nota:** Registre todos los controles de calidad del método en el formato STLABFO-16 Gráficos de Control.

#### 4.8.2. MATERIALES

Utilice todo el material debidamente lavado.

En el Instructivo se podrá llegar a usar: frasco lavador, espátula, balón volumétrico de 50, 100, 250, 500 y 1000 mL; pipetas volumétricas de diferentes medidas clase



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 14 de 16	

A, Beakers, transferpipetas, filtros de membrana de 0,45 µm, embudos y papel filtro.

## 5. DESARROLLO

Antes de analizar las muestras se debe tener la curva de calibración en el equipo de medición utilizado.

### 5.1. ESTÁNDARES (CURVA DE CALIBRACIÓN)

Prepare estándares de calibración de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> en el rango de 0 a 7 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/L o lo que esté establecido en la verificación del método diluyendo a 50 mL los siguientes volúmenes de solución intermedio de NO<sub>3</sub><sup>-</sup> : 0, 1.00, 2.00, 4.00, 7.00 hasta 35mL. También se pueden usar otras concentraciones estándar. Tratar los estándares de NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N de la misma manera que las muestras.

En la tabla 1 se relacionan las concentraciones sugeridas para la preparación de la curva de calibración y los volúmenes que se deberán tomar para cada una de las concentraciones, partiendo de la solución intermedia de 10 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/L, llevando hasta 50mL con aguas destilada para ser procesadas de la misma manera que las muestras.

**Tabla 1.** Preparación estándares curva de calibración

Estándar No.	Volumen por tomar en mL de: 10 mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/ L	Concentración en: mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/ L	Concentración en: mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> / L
1	0,5	0,1	0,44
2	1	0,2	0,89
3	2	0,4	1,77
4	3	0,6	2,66
5	4	0,8	3,54
6	5	1,0	4,43
7	10	2,0	8,86
8	15	3,0	13,29



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 15 de 16	

Estándar No.	Volumen por tomar en mL de: 10 mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/ L	Concentración en: mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> -N/ L	Concentración en: mg NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> / L
9	20	4,0	17,72
10	25	5,0	22,13

**Nota 1:** El rango de trabajo se establecerá de acuerdo con los resultados de la verificación del método.

**Nota 2:** Tener presente que, si se va a preparar la curva de calibración desde una concentración intermedia mayor o menor se deberán calcular los volúmenes necesarios para las concentraciones de cada estándar de la curva.

## 5.2. TRATAMIENTO DE LA MUESTRA

Tome 50 mL de la muestra, de ser necesario fíltrela (aguas crudas y con turbiedades altas), adicione 1mL de solución de HCl 1 M y mezcle bien.

## 5.3. MEDICIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA

Lea la absorbancia o transmitancia contra el agua destilada (blanco) establecida en cero absorbancias o 100% de transmitancia. Realice las lecturas a una longitud de onda de 220 nm para obtener lecturas de mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N/ L y/o mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup>/ L y una longitud de onda de 275 nm para determinar cualquier interferencia debida a materia orgánica disuelta.

Registre las absorbancias en el formato STLABFO-29 Registro de Resultados Externos.

## 5.4. CÁLCULOS Y EXPRESION RESULTADOS

Para muestras y estándares, reste dos veces la lectura de absorbancia 275 nm de la lectura a 220 nm para obtener absorbancia debido a NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y/o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N. Si el valor de corrección es >10% de lectura a 220 nm para una muestra determinada, entonces la concentración NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y/o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N se considera una estimación



<b>SERVICIUDAD E.S.P.</b>	<b>Código</b> STLABIN-12	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitratos SM: 4500-NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> B	<b>Página</b> 16 de 16	

aproximada. Utilice una hoja de cálculo electrónica, una calculadora o un software de instrumentos para encontrar la pendiente e interceptar la curva de calibración mediante la regresión lineal de mínimos cuadrados. Calcule la concentración NO<sub>3</sub><sup>-</sup> y/o NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N a partir de la siguiente ecuación:

$$C = \frac{A - I}{S}$$

Dónde:

*C = Concentración*

*A = Absorbancia*

*I = Intercepto de la regresión Lineal*

*S = Pendiente de la regresión Lineal*

## 6. REGISTROS

STLABFO-16 Gráficos de Control.

STLABFO-29 Registro de Resultados Externos

## 7. ANEXOS

### 7.1. REFERENCIAS

Standard Methods for The Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association. Version vigente. Washington, DC.

NTC-ISO/IEC 17025 Requisitos Generales para la Competencia de los Laboratorios de Ensayo y Calibración.