



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 1 de 15	

## 1. OBJETIVO

Establecer el instructivo para la determinación de nitritos para muestras de agua cruda y tratada en los laboratorios de la planta de tratamiento de agua de Serviciudad ESP.

## 2. ALCANCE Y RESPONSABLES

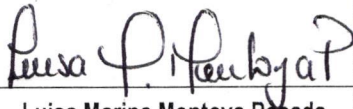
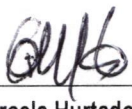

Este instructivo aplica para muestras de agua cruda y tratada de los Laboratorios de Agua de las Plantas de Tratamiento de Serviciudad ESP.

La administración y control de este documento es responsabilidad del 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)

## 4. GENERALIDADES

En aguas y aguas residuales las formas de nitrógeno de mayor interés son, en orden decreciente de estado de oxidación: nitrato, nitrito, amoníaco y nitrógeno orgánico. Todas estas formas de

ELABORADO POR:	REVISADO POR:	APROBADO POR:
 Luisa Marina Montoya Posada Técnico de Calidad de agua	 Genny Marcela Hurtado Giraldo Profesional Planta de Tratamiento	 Eduardo Andrés Brand Ruíz Subgerente Técnico y Operativo
Fecha: 2024-01-20	Fecha: 2024-01-25	Fecha: 2024-01-30



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 2 de 15	

nitrógeno, así como el gas nitrógeno (N<sub>2</sub>), son bioquímicamente interconvertibles y son componentes del ciclo del nitrógeno. Son de interés por muchas razones.

El nitrógeno orgánico se define funcionalmente como nitrógeno unido orgánicamente en el estado de oxidación trinegativo. No incluye todos los compuestos nitrogenados orgánicos. Desde el punto de vista analítico, el nitrógeno orgánico y el amoníaco se pueden determinar juntos y se les conoce como "nitrógeno Kjeldahl", un término que refleja la técnica utilizada en su determinación. El nitrógeno orgánico incluye materiales naturales como proteínas y péptidos, ácidos nucleicos y urea, y 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 nitrógeno nitrato y nitrito. El nitrato generalmente se encuentra en pequeñas cantidades en las aguas superficiales, pero puede alcanzar altos niveles en algunas aguas subterráneas. En cantidades excesivas, contribuye a la enfermedad conocida como metahemoglobinemia en los bebés. Se ha impuesto un límite de 10 mg de nitrato como nitrógeno/L en el agua potable para prevenir este trastorno. El nitrato se encuentra solo en pequeñas cantidades en las aguas residuales domésticas dulces, pero en los efluentes de las plantas de tratamiento biológico nitrificantes, el nitrato se puede encontrar en concentraciones de hasta 30 mg de nitrato como nitrógeno/L.

Es un nutriente esencial para muchos autótrofos fotosintéticos y en algunos casos ha sido identificado como el nutriente limitante del crecimiento.

El nitrito es un estado de oxidación intermedio del nitrógeno, tanto en la oxidación del amoníaco a nitrato como en la reducción del nitrato. Tal oxidación y reducción puede ocurrir en plantas de tratamiento de aguas residuales, sistemas de distribución de agua y aguas naturales. El nitrito puede entrar en un sistema de suministro de agua a través de su uso como inhibidor de la corrosión en el agua de procesos industriales. El nitrito es el agente etiológico real de la metahemoglobinemia. El ácido nitroso, que se forma a partir de nitrito en solución ácida, puede reaccionar con aminas secundarias (RR'NH) para formar nitrosaminas (RR'N-NO), muchas de las cuales se sabe que son



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 3 de 15	

cancerígenas. La importancia toxicológica de las reacciones de nitrosación in vivo y en el entorno natural es objeto de muchas preocupaciones e investigaciones actuales.

El amoníaco está presente de forma natural en aguas superficiales y residuales. Su concentración generalmente es baja en las aguas subterráneas porque se adsorbe a las partículas del suelo y las arcillas y no se lixivia fácilmente de los suelos. Se produce principalmente por desaminación de compuestos orgánicos que contienen nitrógeno y por hidrólisis de urea. En algunas plantas de tratamiento de agua, se agrega amoníaco para que reaccione con el cloro y forme un residuo de cloro combinado. Las concentraciones de amoníaco que se encuentran en el agua varían desde menos de 10 µg de nitrógeno amoniacal/L en algunas aguas superficiales y subterráneas hasta más de 30 mg/L en algunas aguas residuales.

El nitrógeno orgánico se denomina y se presenta como N orgánico, el nitrógeno de nitrato como NO<sub>3</sub><sup>-</sup>-N, el nitrógeno de nitrito como NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N y el nitrógeno de amoníaco como NH<sub>3</sub>-N.

#### 4.1. SELECCIÓN DEL MÉTODO

El método colorimétrico (SM: 4500-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. B) es adecuado para concentraciones de 5 a 1000 µg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L (Ver SM: 4500- NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L. B. Ia). Los valores de nitrito se pueden obtener mediante el método automatizado indicado en la Sección SM: 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. omitiendo el paso de reducción de Cu-Cd. Además, el nitrógeno nitrito se puede determinar mediante cromatografía iónica (Sección SM: 4110), y mediante análisis de inyección de flujo (consulte las Secciones SM: 4130 y SM: 4500- NO<sub>3</sub><sup>-</sup> I).

En los laboratorios de la empresa Serviciudad, el método seleccionado para su uso, es el colorimétrico SM:4500-NO<sub>2</sub><sup>-</sup>B.

#### 4.2. TOMA, PRESERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS

Nunca use conservación ácida para muestras que se van a analizar para NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Realice la determinación rápidamente en muestras frescas para evitar la conversión bacteriana de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> a NO<sub>3</sub><sup>-</sup> o NH<sub>3</sub>. Para la conservación a corto plazo de 1 a 2 días, congele a -20 °C o almacene a 4 °C.



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 4 de 15	

### 4.3. PRINCIPIO DEL MÉTODO

El nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) se determina mediante la formación de un color azoico púrpura rojiza producido a pH 2,0 a 2,5 mediante el acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con diclorhidrato N-(1-naphthyl)-etilendiamina (diclorhidrato de NED). El rango aplicable del método para las mediciones espectrofotométricas es de 10 a 1000 µg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/L. Las mediciones fotométricas se pueden realizar en el rango de 5 a 50 µg N/L si se utiliza una trayectoria de luz de 5 cm y un filtro de color verde. El sistema de color obedece a la ley de Beer hasta 180 µg N/L con un paso de luz de 1 cm a 543 nm. Se pueden determinar concentraciones más altas de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> diluyendo una muestra.

### 4.4. INTERFERENCIAS

La incompatibilidad química hace que sea poco probable que coexistan el NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, el cloro libre y el tricloruro de nitrógeno (NCl<sub>3</sub>). NCl<sub>3</sub> imparte un color rojo falso cuando se agrega el reactivo de color. Los siguientes iones interfieren debido a la precipitación en las condiciones de prueba y deben estar ausentes: Sb<sup>3+</sup>, Au<sup>3+</sup>, Bi<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Pb<sup>2+</sup>, Hg<sup>2+</sup>, Ag<sup>+</sup>, cloroplatinato (PtCl<sub>6</sub><sup>2-</sup>) y metavanadato (VO<sub>3</sub><sup>2-</sup>). El ion cúprico puede causar resultados bajos al catalizar la descomposición de la sal de diazonio. Los iones coloreados que alteran el sistema de color también deberían estar ausentes. Los sólidos en suspensión se eliminan por filtración.

### 4.5. CONTROL DE CALIDAD

Las prácticas de Control de Calidad (QC) que se consideran parte integral de cada método se resumen en la Tabla SM: 4020:I; para el análisis de Nitritos, se describen continuación:

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



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 5 de 15	

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 procedimiento 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).

**Blanco fortificado de laboratorio (BFL):** Verifique la curva de calibración del método 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



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 6 de 15	

concentración de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> 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 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 procedimiento 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 (BC<sub>i</sub>/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-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 7 de 15	

**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 de interés antes de la preparación de la muestra. Si se recolecta suficiente volumen de muestra, a esta segunda porción de muestra se agrega y se 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)

#### 4.6. SEGURIDAD LABORAL

Utilizar los implementos de seguridad, de acuerdo con lo señalado en el Manual de Higiene y Seguridad Laboral STMH-01 (Bata, pantalón, zapatos antideslizantes, gafas de seguridad, máscara con filtro mixto de vapores ácidos y orgánicos, guantes de caucho) de acuerdo a la actividad realizada. Se realiza recolección de residuos en recipiente plástico y se rotula para recolección y disposición final con empresa externa.

#### 4.7. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES

##### 4.7.1. EQUIPOS

Equipo colorimétrico: Se requiere uno de los siguientes:

- a. **Espectrofotómetro:** Espectrofotómetro para uso a 543 nm, que proporciona una trayectoria de luz de 1 cm o más.
- b. **Fotómetro de filtro:** Use un fotómetro de filtro que proporciona una trayectoria de luz de 1 cm o más y que esté equipado con un filtro verde que tiene una transmitancia máxima cercana a los 540 nm.



SERVICIUDAD E.S.P	Código STLABIN-15	Versión 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 8 de 15	

## 4.7.2. REACTIVOS Y ESTÁNDARES DE CONTROL

### 4.7.2.1. REACTIVOS

**Agua libre de Nitritos:** Si no se sabe que el agua destilada o desmineralizada está libre de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, use cualquiera de los siguientes procedimientos para preparar agua libre de nitritos:

a) Agregue a 1 L de agua destilada un pequeño cristal de KMnO<sub>4</sub> y Ba(OH)<sub>2</sub> o Ca(OH)<sub>2</sub>. Vuelva a destilar en un aparato de vidrio de borosilicato y deseche los 50 mL iniciales de destilado. Recoger la fracción del destilado libre de permanganato; un color rojo con el reactivo DPD (Sección SM: 4500-Cl. F. 2b) indica la presencia de permanganato.

b) Agregue 1 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 0,2 mL de solución de MnSO<sub>4</sub> (36,4 g de MnSO<sub>4</sub> · H<sub>2</sub>O/100 mL de agua destilada) a 1 L de agua destilada y lleve a color rosado con 1 a 3 mL de solución de MnSO<sub>4</sub> (400 mg MnSO<sub>4</sub>/L agua destilada). Vuelva a destilar como se describe en el párrafo anterior.

Use agua libre de nitritos en la preparación de reactivos y diluciones.

**Reactivo de color:** A 800 mL de agua, agregue 100 mL de ácido fosfórico al 85% y 10 g de sulfanilamida. Después de disolver completamente la sulfanilamida, agregue 1g de diclorhidrato de N-(1-naftil)-etilendiamina. Mezcle para disolver, luego diluya a 1 L con agua. La solución es estable durante aproximadamente un mes cuando se almacena en un frasco oscuro en el refrigerador.

**Oxalato de sodio Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> - 0.025 M (0.05 N):** disuelva 3,350 g Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, grado estándar primario (secado a 110 °C durante 2 h), en agua y diluya a 1000 mL. (En caso de requerirse estandarización).

**Sulfato de amonio ferroso Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> - 0.05 M (0.05 N):** Disuelva 19,607 g Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> (SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> · 6H<sub>2</sub>O más 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado, en agua y diluya hasta 1000 mL. Estandarice de la siguiente manera:





<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 9 de 15	

**Estandarización de sulfato de amonio ferroso (FAS) aproximadamente 0.25 M:** Disuelva 98 g de Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> • 6H<sub>2</sub>O en agua destilada. Agregar 20 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrada, enfriar y diluir a 1000 mL.

Estandarice esta solución diariamente contra la solución estándar de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> de la siguiente manera: Diluya 25 mL de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> estándar hasta aproximadamente 100 mL. Agregar 30 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y enfriar. Titular con FAS utilizando de 0,10 a 0,15 mL (2 a 3 gotas) de indicador de ferroína.

$$M_{FAS} = \frac{\text{volumen [K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7\text{] sln titulada}}{\text{Volumen FAS usada en la titulación}} \times 0.2500$$

Reactivos para la estandarización de FAS:

- Dicromato de Potasio 0.025N (0.0417M):** Seque la cantidad necesaria de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> a 150 °C durante 2 horas. Disolver 12,259 g de K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub> estándar primario en agua destilada y completar hasta 1000 mL en balón aforado. Almacenar en frasco color ámbar.
- Solución Indicadora de Ferroína:** Pesar 1,485 g de 1,10-fenantrolina monohidrato y 0,695 g de FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O en agua destilada, diluir y completar hasta 100 mL en balón aforado.

**Solución madre de nitrito (A partir de la Sal):** Utilice reactivo grado comercial de NaNO<sub>2</sub> al menos del 99%. Debido a que el NO<sub>2</sub><sup>-</sup> se oxida fácilmente en presencia de humedad, use una botella nueva de reactivo para preparar la solución madre y mantenga los frascos bien tapados contra el libre acceso de aire cuando no esté en uso. Para determinar el contenido de NaNO<sub>2</sub>, agregue un exceso conocido de solución estándar de KMnO<sub>4</sub> 0.05 N (consulte preparación del KMnO<sub>4</sub> 0.05 N), elimine el color del permanganato con una cantidad conocida de reductor estándar, como Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> 0.025 M o Fe(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 0.05 M, y títule por retroceso con una solución estándar de permanganato.

- Preparación de la solución madre:** Disolver 1,232 g de NaNO<sub>2</sub> en agua y diluir a 1000 mL; 1,00 mL = 250 µg N. Conserva con 1 mL de CHCl<sub>3</sub>.
- Estandarización de la solución madre de Nitrito:** Pipetear en orden 50 mL de KMnO<sub>4</sub> 0,05 N estándar, 5 mL de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> concentrado y 50 mL de solución madre de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> en un matraz o



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 10 de 15	

botella con tapón de vidrio. Sumerja la punta de la pipeta muy por debajo de la superficie en la solución ácida de permanganato mientras se agrega la solución madre de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Agitar suavemente y calentar a 70 a 80 °C en una placa de calentamiento. Descargue el color del permanganato agregando suficientes porciones de 10 mL de solución estándar de 0.025 M Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>. Titular el exceso de Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> con KMnO<sub>4</sub> 0.05 N al punto final rosa tenue. Corra un blanco de agua a través de todo el procedimiento y hacer las correcciones necesarias en el cálculo final.

Si la solución estándar de sulfato de amonio ferroso 0.05 M se sustituye por Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>, omita el calentamiento y extienda el período de reacción entre KMnO<sub>4</sub> y Fe<sup>2+</sup> a 5 min antes de realizar la titulación final de KMnO<sub>4</sub>.

Calcule el contenido de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N de la solución madre de la siguiente manera:

$$A = \frac{[B \times C] - (D \times E) \times 7}{F}$$

Donde:

A = mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N/mL de la solución NaNO<sub>2</sub>

B = Volumen total de KMnO<sub>4</sub> usada

C = Normalidad del estándar de KMnO<sub>4</sub>

D = Volumen total del reductor estándar adicionado

E = Normalidad del estándar reductor

F = Volumen de la solución estándar utilizada de NaNO<sub>2</sub>

Cada 1 mL de 0.05 N KMnO<sub>4</sub> consumido por la solución NaNO<sub>2</sub> corresponde a 1725 µg NaNO<sub>2</sub> o 350 µg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N.

Registre los valores obtenidos en el formato STLABFO-14 Estandarización de Soluciones y rotule el recipiente.



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 11 de 15	

**Solución intermedia de nitrito (A partir de la Solución preparada de la sal):** Calcule el volumen, G, de la solución madre de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> requerida para la solución intermedia de NO<sub>2</sub><sup>-</sup> de G = 12.5/A. Diluir el volumen G (aproximadamente 50 mL) a 250 mL con agua; 1 mL = 50 µg N. Preparar diariamente.

**Solución estándar de nitrito:** Diluir 10 mL de la solución intermedia de la solución NO<sub>2</sub><sup>-</sup> a 1000 mL con agua; 1 mL = 0,5 µg N. Prepare diariamente.

**Valorante estándar de permanganato de potasio 0.05 N:** Disolver 1,6 g de KMnO<sub>4</sub> en 1L de agua destilada. Conservar en un frasco marrón con tapón de vidrio y envejecer durante al menos 1 semana. Decantar o pipetear con cuidado el sobrenadante sin remover ningún sedimento.

**Estandarice esta solución con frecuencia mediante el siguiente procedimiento:** Pese con precisión de 0,1 mg varias muestras de 100 a 200 mg de Na<sub>2</sub>C<sub>2</sub>O<sub>4</sub> anhidro en vasos de precipitados de 400 mL. A cada vaso de precipitados, a su vez, agregue 100 mL de agua destilada y agite para disolver. Agregar 10 mL de 1+1 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y calentar rápidamente de 90 a 95 °C. Titular rápidamente con la solución de permanganato que se va a estandarizar, mientras se agita, hasta un punto final de color rosa claro que persiste durante al menos 1 min. No dejar que la temperatura caiga por debajo de 85 °C. Si es necesario, caliente el contenido del vaso de precipitados durante la titulación; 100 mg consumirán alrededor de 6 mL de solución. Realice un blanco con agua destilada y H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

$$\text{Normalidad KMnO}_4 = \frac{g \text{ Na}_2\text{C}_2\text{O}_4}{(A - B) \times 0.067}$$

Dónde:

*A = mL valorante para muestra*

*B = mL valorante para blanco*

Promediar los resultados de varias titulaciones. Registre los valores obtenidos en el formato STLABFO-14 Estandarización de Soluciones y rotule el recipiente.



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 12 de 15	

#### 4.7.2.2. PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES Y CONTROLES DE CALIDAD

Los estándares de trabajo de nitrito, se puede preparar a partir de la sal como se indicó en este procedimiento en el siguiendo los pasos descritos. Sin embargo, también se puede usar un estándar primario trazable de 1000 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L o de menores concentraciones.

**Nota:** Si va a preparar la solución madre e intermedia partiendo de otra concentración diferente a la descrita en este procedimiento, recuerde hacer los cálculos de los volúmenes correspondientes que deberá tomar de dicha solución.

A continuación, se describe el proceso para preparar la solución madre e intermedia a partir de la solución de nitrito de 40 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L.

**Estándar intermedio (1mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L):** Tome con pipeta volumétrica 5 mL de la solución estándar de nitritos de 40 mg/L y lleve a un balón aforado de 200 mL completando con agua destilada.

**Estándar de trabajo (0.5 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L):** Tome con pipeta volumétrica 1 mL del estándar intermedio de nitritos de 1 mg/L y lleve a un balón aforado de 100 mL completando con agua destilada.

#### 4.8. CONTROLES DE CALIDAD

**Estándar 0.1 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L (BFLs) =** Tome con pipeta volumétrica 5 mL del estándar intermedio de nitritos de 1 mg/L y lleve a un balón aforado de 50 mL completando con agua destilada.

**Nota:** Calcule los volúmenes para las concentraciones que se requieran usar en los controles de calidad del procedimiento, dependiendo de la solución estándar de partida y registre los resultados en el formato STLABFO-016 Gráficos de control

#### 4.9. MATERIALES

Utilice todo el material debidamente lavado.



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 13 de 15	

En el procedimiento se podrá llegar a usar: frasco lavador, espátula, balón volumétrico de 50, 100, 200, 250, 500 y 1000 mL; pipetas volumétricas de diferentes medidas clase A, Beakers, transferpipetas, sistema de filtración de membrana de 0,45 µm, bombas de vacío, embudos y papel filtro.

## 5. DESARROLLO

### 5.1. ELIMINACIÓN DE SÓLIDOS EN SUSPENSIÓN

Si la muestra contiene sólidos en suspensión, filtrar a través de un filtro de membrana de 0,45 µm de diámetro de poro.

### 5.2. DESARROLLO DE COLOR

Si el pH de la muestra no está entre 5 y 9, ajuste a ese rango con HCl 1 N o NH<sub>4</sub>OH según sea necesario. A 50 mL de muestra, o a una porción diluida a 50 mL, agregue 2 mL de reactivo de color y mezcle.

### 5.3. MEDICIÓN FOTOMÉTRICA

Entre 10 min y 2 h después de agregar el reactivo de color a las muestras y estándares, mida la absorbancia a 543 nm. Como guía, utilice las siguientes trayectorias de luz para las concentraciones de NO<sub>2</sub><sup>-</sup>-N indicadas:

Longitud del recorrido de la luz (cm)	NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> -N (µg/L)
1	2-25
5	2-6
10	<2

### 5.4. ESTÁNDARES (CURVA DE CALIBRACIÓN)



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 14 de 15	

Prepare una curva estándar trazando la absorbancia de los estándares frente a la concentración de NO<sub>2</sub>-N o como NO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Calcule la concentración de los nitritos directamente desde la curva.

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 de 0.01, 0.02, 0.04, 0.06, 0.08, 0.10, 0.15 y 0.20 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L, partiendo del estándar intermedio de 0.5 mg NO<sub>2</sub><sup>-</sup>/L y llevando hasta 50 mL con agua destilada para ser procesadas de la misma manera que las muestras.

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

Estándar No.	Volumen a tomar en mL del estándar 0,5 mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> /L	Concentración en: mg NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> / L	Volumen final mL
1	0,5	0,01	50
2	1	0,02	
3	2	0,04	
4	3	0,06	
5	4	0,08	
6	5	0,10	
7	7,5	0,15	
8	10	0,20	

**Nota 1:** El rango de trabajo se establecerá de acuerdo a 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 recalcular los volúmenes necesarios para las concentraciones de cada estándar de la curva.

**Lectura:** Sirva un blanco para la curva y por cada lote de muestras a analizar. A cada uno de los estándares y/o muestras, incluyendo el blanco, adicione 2 mL del reactivo de color, deje reaccionar 10 minutos y lea la concentración en la curva a 543 nm. Registre la concentración en el formato STLABFO-029 Registro de Resultados Primarios según corresponda.

## 5.5. CÁLCULOS Y EXPRESION RESULTADOS

Prepare una curva estándar trazando la absorbancia de los estándares frente a la concentración de NO<sub>2</sub>-N o NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, como se tenga montada la curva. Calcule la concentración de la muestra directamente desde la curva.



<b>SERVICIUDAD E.S.P</b>	<b>Código</b> STLABIN-15	<b>Versión</b> 01
Instructivo de Nitritos SM: 4500-NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> B	Página 15 de 15	

## 5.6. PRECISIÓN Y SESGO

En un solo laboratorio que utilizó muestras de aguas residuales en concentraciones de 0.04; 0.24; 0.55 y 1.04 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup> -N/L, las desviaciones estándar fueron  $\pm 0.005$ ;  $\pm 0.004$ ; 0.005 y 0.01, respectivamente. En un solo laboratorio que utilizó muestras de aguas residuales en concentraciones de 0.24; 0.55 y 1.05 mg NO<sub>3</sub><sup>-</sup> + NO<sub>2</sub><sup>-</sup> -N/L, las recuperaciones fueron del 100%, 102% y 100 %, respectivamente.

## 6. REGISTROS

STLABFO-016 "Gráficos de control"

STLABFO-029 "Registro de Resultados Primarios"

STFO-063 "Estandarización de Soluciones"

## 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.