

| | | |
|---|---|-------------------------------|
|  | MÉTODO ANALÍTICO NITRITO: COLORIMÉTRICO, SM 4500-NO₂⁻ B. | |
| | Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá | |
| | Código: D-7.2-13 | Versión: 09 |
| | Revisó: Subdirector de Planeación y O.T. | Aprobó: Director General (E). |
| | Fecha: 09 de Julio de 2025 | Fecha: 09 de Julio de 2025 |
| | Resolución: 100-03-10-23-1338-2025 | Páginas: 1 de 5 |

1. DESCRIPCIÓN

Los nitritos son sales del ácido nitroso. Naturalmente los nitritos deben su formación a la oxidación de las aminas y del amoníaco, o también a la reducción del nitrato en ausencia de oxígeno.

2. ALCANCE

Este método espectrofotométrico aplica para la determinación mediante análisis colorimétrico de aguas: lluvias, subterráneas, superficiales, marinas y residuales; en un rango de trabajo comprendido entre 0.0030 mg/L NO₂-N (MRL definido experimentalmente) y 0.05 mg/L NO₂-N.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

3.1 Principio

El nitrito se determina por la formación de un colorante azo purpura rojizo producido a pH 2,0- 2,5 por acoplamiento de sulfanilamida diazotizada con diclorhidrato de N-(1-naftil)- etilendiamina diclorhidrato. Este método es adecuado para determinar nitrito en concentraciones de 10 a 1000 µg NO₂-N/L. El sistema de color obedece la ley de Beer en concentraciones hasta de 180 µg NO₂-N/L a 543 nm si se emplea celda de 1 cm de longitud; se pueden hacer mediciones en el intervalo de 5 a 50 µg NO₂-N/L con una celda de 5 cm de paso de luz y un filtro de color verde. Se pueden determinar concentraciones más altas por dilución de la muestra.

3.2 Interferencias

La incompatibilidad química hace improbable la coexistencia de NO₂⁻, cloro libre y tricloruro de nitrógeno (NCl₃). NCl₃ proporciona un color rojo falso cuando se añade el reactivo de color. Los siguientes iones interfieren debido a la precipitación en las condiciones de la prueba y deben estar ausentes: Sb³⁺, Au³⁺, Bi³⁺, Fe³⁺, Pb²⁺, Hg²⁺, Ag⁺. El ion cúprico puede dar lugar a resultados bajos por catalizar la descomposición de la sal de diazonio. Los iones coloreados que alteran el sistema de color también deben estar ausentes. Elimínense por filtración los sólidos suspendidos.

4. TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

La muestra nunca se debe conservar con ácido. Haga la determinación inmediata sobre muestras recientes para evitar la conversión bacteriana del NO_2^- en NO_3^- o NH_3 . Si la muestra no se piensa analizar de inmediato, se filtra y se almacena por un máximo de 48 horas a partir de la toma, a -20°C o a 4°C .

5. INSTRUMENTAL Y EQUIPOS

- Espectrofotómetro UV-Vis, celda de lectura de 1 cm.
- Vidriería volumétrica en general.
- Peachímetro.
- Balanza analítica.

6. REACTIVOS

- **Agua grado reactivo.**
- **HCl [1N].**
- **NH_4OH .**
- **Cloroformo**
- **Reactivo de color:** Tomar 800 mL de agua y adicionar 100 mL de ácido fosfórico 85% y 10 g de sulfanilamida, tras disolver completamente, añádase 1 g de N-(1-naftil)-etilendiamina, mézclese para disolver y dilúyase con agua hasta 1 litro, la solución es estable cerca de un mes cuando se conserva en frío en un recipiente oscuro.
- **Estándar de Nitrito:** utilice una fuente comercial, o prepárela pesando 1.232 g de NaNO_2 en agua y diluye a 1000 mL. 250 mg $\text{NO}_2\text{-N}$ /L. Preserva con 1 mL de CHCl_3 .
- **Solución intermedia de nitritos:** diluye 10 mL del estándar de nitrito a 250 mL con agua. 10 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$.
- **Solución de trabajo de nitrito:** diluye 0.2 mL de la solución intermedia de nitritos a 100 mL de agua. 2 mg $\text{NO}_2\text{-N/L}$.

7. PROCEDIMIENTO

- Antes de empezar el análisis, agite vigorosamente la muestra.
- Tomar 50 ml de muestra.

| | | |
|---|-------------|----------------|
| Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá | | |
| D-7.2-13 | Versión: 09 | Página: 2 de 5 |

- Remover por filtración los sólidos suspendidos a través de una membrana con diámetro de poro de 0,45 µm.
- Ajustar el pH entre 5 y 9 con HCl 1N o NH₄OH.
- Añadir 2 ml de reactivo de color y mezclar para homogenizar.
- Esperar entre 10 minutos a 2 horas para leer la absorbancia en el espectrofotómetro a una longitud de onda de 543 nm.
- Interpolar la absorbancia en la curva de calibración.
- Si el resultado se sale del límite superior de la curva de calibración, se debe tomar una alícuota establecida y se repite el proceso hasta que el valor final quede en el intervalo de lectura.

8. CÁLCULOS Y RESULTADOS

Desarrollo de la curva a partir del estándar de 2.0 mg NO₂-N/L, debe ser desarrollada de 0 a 0,05 mg NO₂-N/L, y los patrones son llevados a un volumen final de 50 mL.

Tabla 1. Preparación de estándares para curva de calibración.

| Estándares (mg/L) | Volumen en mL de estándar de 2.0 mg/L |
|--------------------------------|---------------------------------------|
| 0 | 0 |
| MRL (Límite de cuantificación) | Volumen correspondiente al MRL (mL) |
| 0,005 | 0,125 |
| 0,01 | 0,25 |
| 0,025 | 0,625 |
| 0,05 | 1,25 |

Se interpolan los datos en la curva de calibración para obtener los resultados.

9. SEGUIMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD

Para cada lote menor o igual a 20 muestras, se debe realizar y registrar en la captura de datos lo siguiente:

- Analizar un blanco de reactivos. Realizar una acción correctiva si su resultado es $\geq \frac{1}{2}$ MRL.
- Analizar un patrón equivalente al límite de cuantificación. Error aceptado $\leq 30\%$.
- Analizar un patrón de 0,01 mg/L. Error aceptado $\leq 10\%$.

| | | |
|---|-------------|----------------|
| Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá | | |
| D-7.2-13 | Versión: 09 | Página: 3 de 5 |

- Analizar un patrón de 0.04 mg/L. Error aceptado $\leq 10\%$.
 - Analizar una muestra por duplicado. RPD aceptado $\leq 20\%$.
 - Analizar una muestra enriquecida por duplicado. RPD $\leq 20\%$. Recuperación aceptada entre 85-115%.
- Verificar la curva de calibración con un estándar cercano al punto medio.
- El reactivo de color debe almacenarse en frasco oscuro y refrigerado a 4°C, es estable un mes; no es necesario realizar curva cada vez que se acabe este reactivo si cumple el criterio de la verificación de la misma.

10. MANTENIMIENTO

Se debe llevar un buen control del tiempo de agitación y reposo en cada lectura de muestra. Celdas en óptimo estado y espectrofotómetro calibrado.

11. BIBLIOGRAFÍA

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. In: Lipps Wc, Braunt-Howland Eb, Baxter Te. Eds. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 24th Ed. Washington Dc: APHA PRESS;2023. Sección 4500-NO₂⁻ B.

12. CONTROL DE CAMBIOS

| Fecha | Resolución | Versión | Detalle |
|------------|-------------------|---------|---|
| 09/06/2016 | 300-03-10-23-0649 | 01 | Aprobación inicial con código y nombre D-5.4-13: MÉTODO ANALÍTICO NITRITO: COLORIMÉTRICO, SM 4500-NO ₂ ⁻ B. |
| 05/10/2016 | 300-03-10-23-1303 | 02 | Se actualiza el logo corporativo. Se especifica el control de calidad por cada lote. Se cambia el uso del coeficiente de variación por el RPD. |
| 11/08/2018 | 300-03-10-23-0990 | 03 | Se condiciona: El reactivo de color debe almacenarse en frasco oscuro y refrigerado a 4°C, bajo estas condiciones es estable un mes; no es necesario realizar curva cada vez que se acabe este reactivo si cumple el criterio de la verificación de la misma. |
| 15/08/2018 | 300-03-10-23-1436 | 04 | De acuerdo al Standard Methods Ed.23 de 2017 se especifican los siguientes cambios: En la sección de REACTIVOS se indicó la lista de reactivos usados para la realización del ensayo. En la sección de PREPARACIÓN DE REACTIVOS se adicionó la preparación del reactivo de color empleado en el ensayo. Por otro lado, en la sección de PROCEDIMIENTO se especifica paso a paso el procedimiento de análisis y se ajusta el tiempo de espera para hacer la lectura en el espectrofotómetro. En la sección SEGUIMIENTO Y CONTROL se modificó la periodicidad con la que se realiza el control de calidad, además |

| | | | |
|------------|-------------------|----|--|
| | | | se modificó el criterio de aceptación del blanco y se añadió como estándar de seguimiento el límite de cuantificación, así como un estándar cercano al punto medio para verificación de la curva. |
| 19/11/2019 | 300-03-10-23-1429 | 05 | Se incluye en la estructura del método la sección 2 – ALCANCE, así: “Este método espectrofotométrico aplica para la determinación mediante análisis colorimétrico de aguas: lluvias, subterráneas, superficiales, marinas y residuales; en un rango de trabajo comprendido entre 0.0030 mg/L NO ₂ -N (MRL definido experimentalmente) y 0.05 mg/L NO ₂ -N”. Por otro lado, en la sección CÁLCULOS Y RESULTADOS se modifica la concentración del estándar a partir del cual se prepara la curva y se elimina el punto 0.015 mg/L de la curva de calibración. Se cambia la codificación del documento pasando de D-5.4-13 a D-7.2-13 de acuerdo a la nueva versión de la Norma – ISO/IEC 17025:2017. |
| 01/04/2020 | 300-03-10-23-0426 | 06 | De acuerdo al método SM 4500-NO ₂ ⁻ B como referencia base, se modifica en las secciones 8 y 9 lo relacionado con el rango de tiempo apropiado para la lectura colorimétrica del analito en el espectro. |
| 16/11/2021 | 300-03-10-23-2356 | 07 | Corrección en la redacción para la acción correctiva del blanco del método. |
| 24/11/2023 | 300-03-10-23-2554 | 08 | Se actualiza el documento para la determinación de NITRITOS, de acuerdo con la metodología normalizada de Standard Methods 4500-NO ₂ ⁻ B de 2022, edición 24. |
| 09/07/2025 | 100-03-10-23-1338 | 09 | Se corrigió el año de publicación de la versión vigente de Standard Methods (2023). |

Última línea-----última línea-----última línea