

	<b>MÉTODO ANALÍTICO ORTOFOSFATOS, SM 4500-P E.</b>	
	Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá	
	Código: D-7.2-14	Versión: 10
	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 6

## 1. DESCRIPCIÓN

El fósforo es absolutamente esencial para todo organismo; interviene en el almacenamiento y transferencia de la energía en las células en el ATP, la formación de los grupos fosfato de los nucleótidos de los ácidos nucleicos, principalmente. Al ser uno de los elementos no tan abundantes tanto en el universo inerte como vivo, puede llegar a ser un nutriente limitante para la productividad primaria tanto en un cuerpo de agua y como en tierra. El fósforo se oxida rápidamente en las rocas terrestres como ortofosfato, en el agua también se lo encuentra como: piro-meta-polifosfatos y ligados a moléculas compuestas orgánicas. Todas estas formas se presentan en solución, partículas o detritus. El orto fosfato (ácido fosfórico o normal) es muy soluble y es la fracción útil que absorben las plantas autótrofas. En los casos en que constituye el nutriente limitador del crecimiento, la descarga de aguas residuales brutas o tratadas (domiciliarios o industriales), drenajes agrícolas arrastradas por el lavado de las lluvias a los cuerpos de agua tanto superficiales como profundos, pueden por un lado estimular el crecimiento de micro o macroorganismos acuáticos fotosintéticos en cantidades exageradas o, por otro lado, contaminar las capas freáticas.

## 2. ALCANCE

La determinación de ortofosfatos (fósforo reactivo disuelto) en aguas mediante la técnica espectrofotométrica de UV-Visible, de acuerdo a la experimentación base de la verificación correspondiente, es aplicable para las matrices: Superficial, Residuales, Subterránea y Marina, en concentraciones a partir del MRL (definido experimentalmente) en adelante, teniendo en cuenta como rango de trabajo lineal concentraciones entre 0,1 mg/L y 1,0 mg/L.

## 3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

### 3.1.Principio

El molibdato amónico y el tartrato antimonílico reaccionan en medio ácido con ortofosfato para formar un ácido heteropoliácido fosfomolibdico que se reduce a azul de molibdeno, de color intenso por el ácido ascórbico.

### 3.2.Interferencias

Los arseniatos reaccionan con el reactivo de molibdato y producen un color azul similar al formado con el fosfato, concentraciones de arseniato tan bajas como 0,1

mg As/L interfieren en la determinación de fosfato. El cromo hexavalente y el nitrito interfieren y dan resultados un 3% más bajos a concentraciones de 1 mg/L, y de 10-15% más bajos a la de 10 mg/L. Sulfuro y silicato no interfieren a concentraciones de 1,0 y 10 mg/L, siempre que las concentraciones inferiores a 10 µg/L de P no se informen. Para concentraciones más bajas, la interferencia del silicato debe evaluarse.

La presencia de turbidez y color en la muestra debe corregirse elaborando un blanco de muestra agregando todos los reactivos excepto el ácido ascórbico y el tartrato de antimonio y potasio a la muestra. Reste la absorbancia del blanco de muestra a la absorbancia de la muestra.

#### 4. TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

Filtre la muestra inmediatamente después de la recolección. Conserve refrigerando entre 2 y 6°C, y analícelas dentro de las siguientes 48 horas. No agregue ácido ni  $\text{CHCl}_3$  como conservantes cuando se vayan a determinar las formas de fósforo.

No almacenar las muestras con bajas concentraciones de fósforo en frascos de plástico, a no ser que se mantengan congeladas, porque los fosfatos pueden adsorberse sobre las paredes del plástico. Lávense todos los recipientes de vidrio con HCl diluido caliente, y después varias veces con agua destilada. No usar nunca detergentes comerciales que contengan fosfatos para limpiar el material de vidrio utilizado en el análisis de fosfatos.

#### 5. INSTRUMENTAL Y EQUIPOS

- Espectrofotómetro (880 nm)
- Vidriería volumétrica en general.

#### 6. REACTIVOS

- **Agua grado reactivo.**
- **Solución de ácido sulfúrico 5 N:** disolver 70 mL de ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) y llevarlos a 500 mL de solución con agua destilada.
- **Solución de tartrato de potasio antimonial:** disolver 0.6857 g de tartrato de potasio  $[\text{K}(\text{SbO})\text{C}_4\text{H}_4\text{O}_6 \cdot 1/2\text{H}_2\text{O}]$  en 200 mL de agua destilada en un matraz aforado de 250 mL y dilúyase a volumen.

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá		
D-7.2-14	Versión: 10	Página: 2 de 6

- **Solución de molibdato de amonio:** disolver 10 g de molibdato  $[(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}]$  en 200 mL de agua destilada en un matraz aforado de 250 mL y dilúyase a volumen.
- **Solución de ácido ascórbico 0,01 M:** disuélvanse 1.76 g de ácido ascórbico en 100 mL de agua destilada. La solución es estable durante una semana, aproximadamente a 4°C.
- **Solución indicadora de fenolftaleína:** disolver 1 g de fenolftaleína en 100 mL de etanol al 95% o iso-propanol, y añadir 100 mL de agua grado reactivo.
- **Reactivo combinado:** mezclar en un matraz 50 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  [5N], 5mL de tartrato, 15 mL de molibdato y 30mL de ácido ascórbico. Mezclar después de agregar cada reactivo. Dejar que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de mezclar y hacerlo en el orden indicado. Si se forma turbidez en el reactivo combinado, agitar y dejar reposar unos minutos hasta que desaparezca la turbidez antes de proceder. El reactivo es estable durante 4 horas.
- **Estándar de fosfatos:** utilice una fuente comercial, o prepárela disolviendo 219.5 mg de potasio dihidrógeno fosfato ( $\text{KH}_2\text{PO}_4$ ) anhidro en agua grado reactivo hasta 1000 mL. 50 mg  $\text{PO}_4\text{-P/L}$ .
- **Solución de trabajo de fosfatos:** diluya 20 mL del estándar de fosfatos en 100 mL de agua grado reactivo. 10 mg  $\text{PO}_4\text{-P/L}$ .
- **Solución de fosfatos de segunda fuente:** adquiera o prepare a partir de una fuente comercial diferente a las utilizadas

## 7. PROCEDIMIENTO

- Tome 50 mL de muestra y llévelos a un Erlenmeyer.
- Adicione 0,05 mL (1 gota) de fenolftaleína.
- Si hay desarrollo de color rojo adicione gota a gota ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 5N hasta que desaparezca.
- Adicione 8 mL del reactivo combinado.
- Agitar cuidadosamente la solución final, dejarse reposar durante 10 a 30 minutos, leer en espectrofotómetro a 880 nm, registrar en la captura de datos la respectiva absorbancia y calcular la concentración correspondiente.

## 8. CÁLCULOS Y RESULTADOS

Prepare la curva de calibración a partir de una serie de 4 a 6 estándares, incluyendo un blanco de calibración, dentro del rango de 0-1 mg  $\text{PO}_4\text{-P/L}$  o hasta que muestre una linealidad confiable, para ello se realiza con los patrones todo el procedimiento

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá		
D-7.2-14	Versión: 10	Página: 3 de 6

que se realiza con las muestras. El blanco de calibración consiste en agua de reactivo con el reactivo combinado. Trace la absorbancia frente a la concentración de fosfato.

Se recomienda el desarrollo de la curva a partir del estándar de 10 mg PO<sub>4</sub>-P/L, y con un volumen final de 50 mL.

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

Estándares (mg/L)	Volumen en mL de estándar de 10 mg/L
0	0
MRL (Límite de cuantificación)	Volumen correspondiente al MRL (mL)
0,2	1
0,4	2
0,6	3
0,8	4
1	5

Se interpolan los datos en la curva de calibración para obtener los resultados. No se debe hacer resta de blanco debido al alto valor de la absorbancia.

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.

## 9. SEGUIMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD

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

- Analizar un blanco de reactivo. Realizar una corrección del mismo si su resultado es  $\geq \frac{1}{2}$  MRL.
- Analizar un patrón equivalente al MRL. Error aceptado  $\leq 30\%$ .
- Analizar un patrón de 0.5 mg/L, preparado a partir de una segunda fuente. Error aceptado  $\leq 10\%$ .
- Analizar un patrón de 0.9 mg/L. Error aceptado  $\leq 10\%$ .
- Analizar una muestra por duplicado. RPD aceptado  $\leq 20\%$ .
- Analizar una muestra enriquecida por duplicado. RPD aceptado  $\leq 20\%$ . Recuperación aceptada entre 80-120%.

- Se debe realizar curva nueva cada vez que los estándares de control y seguimiento estén por fuera del límite establecido o cuando el analista lo considere necesario.
- Cada vez que se realice la curva de calibración se debe comparar cada punto de dicha calibración con la curva, y volver a calcular su concentración, teniendo en cuenta el siguiente criterio de aceptación:
  - Para estándares hasta el doble del MRL,  $\leq 50\%$  de error.
  - Para estándares entre 3 y 5 veces el MRL,  $\leq 20\%$  de error.
  - Para estándares de más de 5 veces el MRL,  $\leq 10\%$  de error.
- En caso de no cumplir con lo anterior, analizar nuevamente el respectivo patrón y corregir, antes de la cuantificación de las muestras.

## 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 SM 4500-P E.

## 12. CONTROL DE CAMBIOS

Fecha	Resolución	Versión	Detalle
09/06/2016	300-03-10-23-0649	01	Aprobación inicial con código y nombre D-5.4-14: MÉTODO ANALÍTICO ORTOFOSFATOS, SM 4500-P E.
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.
06/10/2010	300-03-10-23-01270	03	Se modifica el procedimiento indicando que la muestra se debe filtrar a través de membrana de 0,45 micras. Se adiciona que si hay desarrollo de color rojo adicione gota a gota ácido sulfúrico 5N hasta que desaparezca.
15/08/2018	300-03-10-23-1436	04	El PRINCIPIO se actualiza de acuerdo a lo señalado en la edición 23 del Standard Methods. Las INTERFERENCIAS se actualizan de acuerdo a la edición 23 del Standard Methods.

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá		
D-7.2-14	Versión: 10	Página: 5 de 6

			<p>TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO: Se actualiza de acuerdo a lo señalado en la edición 23 del Standard Methods.</p> <p>Los REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE LOS REACTIVOS se actualizan de acuerdo a lo establecido en la edición 23 del Standard Methods.</p> <p>El CONTROL Y SEGUIMIENTO se actualiza de acuerdo a lo señalado en la edición 23 del Standard Methods.</p>
19/11/2019	300-03-10-23-1429	05	<p>Se adiciona dentro de la estructura del método la sección 2 – ALCANCE, así: “La determinación de ortofosfatos (fósforo reactivo disuelto) en aguas mediante la técnica espectrofotométrica de UV-Visible, de acuerdo a la experimentación base de la verificación correspondiente, es aplicable para las matrices: Superficial, Residual (doméstica e industrial), Subterránea y Marina, en concentraciones a partir del MRL (definido experimentalmente) en adelante, teniendo en cuenta como rango de trabajo lineal concentraciones entre 0,1 mg/L y 1,0 mg/L”.</p> <p>Se cambia la codificación del documento pasando de D-5.4-14 a D-7.2-14 de acuerdo a la nueva versión de la Norma – ISO/IEC 17025:2017.</p>
06/10/2020	300-03-10-23-1125	06	Se elimina la condición de 4 meses para realizar nueva curva de calibración y se condiciona a cuando el analista lo considere necesario.
16/11/2021	300-03-10-23-2356	07	Adición al procedimiento de corrección por color y turbiedad a la muestra. Además de lo anterior, se realiza modificación en la redacción para la acción correctiva del blanco del método.
04/08/2023	300-03-10-23-1521	08	Se establece que la muestra para análisis de fosforo reactivo disuelto debe ser filtrada en campo al momento de su recolección
24/11/2023	300-03-10-23-2554	09	Se actualiza el documento para la determinación de ORTOFOSFATOS, de acuerdo con la metodología normalizada de Standard Methods 4500-P, E., de 2022, edición 24.
09/07/2025	100-03-10-23-1338	10	Se corrigió el año de publicación de la versión vigente de Standard Methods (2023).

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