



## MÉTODO ANALÍTICO NITRATOS: COLORIMÉTRICO, COLUMNAS DE CADMIO SM 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup> E.

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá

Código: D-7.2-24	Versión: 13
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 7

### 1. DESCRIPCIÓN

Es un método altamente sensible para la determinación cuantitativa de nitratos, y es especialmente recomendado cuando la concentración está alrededor de 0,1 mg de nitrato por litro.

### 2. ALCANCE

Se define que la determinación del analito en cuestión es aplicable para las matrices: Potable, Residual, Recreacional, Subterránea, Aguas de proceso (lavado de fruta), Superficial y Marina, con un rango de trabajo comprendido entre 0,1 mg/L (MRL) y 2,0 mg/L, de acuerdo a lo establecido experimentalmente.

### 3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

#### 3.1 Principio

El nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) se reduce casi cuantitativamente a nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) en presencia de cadmio (Cd). Este método utiliza gránulos de Cd comercialmente disponibles tratados con sulfato de cobre (CuSO<sub>4</sub>) y envasados en una columna de vidrio. El NO<sub>2</sub><sup>-</sup> luego se diazota con sulfanilamida y se combina con N-(1-naftil)-etilendiamina dihidrocloruro (NED) para formar un colorante azo altamente coloreado que se mide colorimétricamente. Para corregir cualquier NO<sub>2</sub><sup>-</sup> presente en la muestra antes de la reducción de NO<sub>3</sub>. Las muestras deben analizarse sin el paso de reducción. El rango aplicable de este método es 0,05 a 1,0 mg NO<sub>3</sub>-N/L. El método se recomienda especialmente para cuantificación de NO<sub>3</sub>-N <0,1 mg N/L para los cuales otros métodos carecen de sensibilidad adecuada.

#### 3.2 Interferencias

La materia suspendida en la columna restringirá el flujo de muestra, por lo tanto, se deben eliminar a través de filtración. La concentración de hierro cobre u otros metales, por encima de algunos mg por litro, reducen la eficiencia de la reducción, se puede añadir EDTA a las muestras para eliminar estas interferencias. El aceite y las grasas cubren la superficie del cadmio, elimíñese por extracción con un solvente orgánico. El cloro residual puede interferir por la oxidación de la columna de cadmio, reduciendo la eficacia, compruébese y elimíñese por adición de tiosulfato de sodio 0.0221 M (0.1 mL en 50 mL de muestra). El color de la muestra que absorbe a aproximadamente 540 nm interfiere con los resultados; diluye las muestras o mide la absorbancia de las muestras tratadas a las que no se ha

agregado el reactivo de color y réstale la absorbancia después de la adición del reactivo de color.

#### 4. TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

Se recolecta en envases de plástico o vidrio. Las muestras se pueden almacenar sin acidificar durante un máximo de 48 horas a 4°C sin congelar. Si deben almacenarse por más tiempo, se fija con ácido sulfúrico concentrado a pH≤2, a 4°C sin congelar hasta un máximo de 28 días. Las muestras cloradas son estables durante al menos 14 días sin preservación ácida.

#### 5. INSTRUMENTAL Y EQUIPOS

- Espectrofotómetro a 543 nm.
- Vidriería volumétrica en general.
- Peachímetro.
- Balanza analítica.
- Columna de vidrio.

#### 6. REACTIVOS

- **Agua grado reactivo.**
- **Cloroformo.**
- **Ácido clorhídrico 6 M:** Agregue cuidadosamente 500 ml de HCl concentrado a 400 mL de agua grado reactivo. Diluir a 1 L con agua reactiva. Esta solución es estable durante año.
- **Solución de sulfato de cobre 2%:** Disolver 20 g de CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O en 500 mL de agua y diluir a un litro.
- **Solución de cloruro de amonio-EDTA:** Disolver 13 g de cloruro de amonio (NH<sub>4</sub>Cl) y 1,7 g de EDTA en 900 mL de agua destilada, ajustar a pH 8,5 con hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH) y diluir a un litro. Esta solución es estable durante 1 año.
- **Solución diluida de cloruro de amonio-EDTA:** Dilúyase 300 mL de la solución de cloruro de amonio a 500 mL con agua destilada.
- **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 durante aproximadamente un mes

cuando se almacena en una botella de color ámbar en el refrigerador. Deseche si la solución está muy coloreada u oscura, o si se forma un precipitado.

- **Gránulos de cadmio-cobre:** Lávense 25 g de cadmio nuevos o usados con HCl 6 M y enjuague con abundante agua. Agítense por rotación con 100 mL de solución de sulfato de cobre al 2% durante mínimo 5 minutos o hasta que el color azul desaparezca parcialmente, decántese y repítase con sulfato de cobre reciente hasta que empiece a formarse un precipitado color marrón, enjuague cuidadosamente con solución de cloruro de amonio-EDTA para eliminar todo el cobre precipitado. Almacene el Cd activado cubierto con solución diluida de cloruro de amonio-EDTA
- **Solución madre de nitrato:** utilice una fuente comercial, o prepárela secando  $\text{KNO}_3$  en un horno a 105°C durante 24 horas. Disuelva 0,7218 g en agua destilada y dilúyase a un litro. Consérvese con 2 mL de cloroformo por litro. Estable durante 6 meses. 100 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ .
- **Solución intermedia de nitrato:** Dilúyase 100 mL de solución madre de nitrato a 1000 mL con agua destilada, conservar con 2 mL de cloroformo por litro. Estable durante 6 meses. 10 mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ .
- **Solución de nitrato de segunda fuente:** adquiera o prepare a partir de una fuente comercial diferente a las utilizadas.
- **Estándar de Nitrito:** utilice una fuente comercial, o prepárela pesando 1.232 g de  $\text{NaNO}_2$  en agua y diluye a 1000 mL. 250 mg  $\text{NO}_2\text{-N /L}$ . Preserva con 1 mL de  $\text{CHCl}_3$ .
- **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

### Preparación de la columna:

(Realizar cada vez que se monta curva de calibración nueva)

- I. Sacar el cadmio sólido de la columna y llevarlo a un beaker de 250 ml.
- II. Adicionar una porción de HCl (6 M) suavemente y con agitación constante, mezclar con ayuda de una cuchara plástica durante el tiempo que sea necesario, hasta evidenciar la recuperación del brillo de las partículas conformantes.

- III. Seguidamente descartar la solución ácida y lavar con abundante agua, y repetir el anterior lavado en 3 oportunidades como mínimo.
- IV. A continuación, realizar lo indicado en la sección **6 –gránulos de cadmio-cobre**, y repetir el lavado en 5 oportunidades como mínimo, hasta que las partículas de Cd se vean brillantes y sin deposiciones superficiales.

#### **Activación de la columna:**

(Realizar cada vez que se monta curva de calibración nueva)

- I. Llenar la columna de agua e ir agregando el Cu-Cd, asegurándose que la porción tenga 18.5 cm de ocupación en la zona vertical de ingreso. Lavar la columna con 200 mL de solución diluida de NH<sub>4</sub>Cl-EDTA.
- II. Activar la columna pasando a través de ella, a una velocidad de 7 a 10 mL/min, una solución de 100 mL compuesta por 1 parte de estándar de 1.0 mg de NO<sub>3</sub>-N/L y 3 partes de solución de NH<sub>4</sub>Cl-EDTA. Quedando así lista para el análisis de muestras.

#### **Tratamiento de la muestra:**

- I. Filtrar la muestra con filtro de membrana celulosa 0.45µm.
- II. Ajustar el pH entre 7 y 9 con NaOH O HCl diluido, según aplique.
- III. En un erlenmeyer de 125 ml tomar 25 ml de la muestra y adicionar 75 ml de solución de cloruro de amonio.
- IV. Pasar la anterior mezcla por la columna de cadmio.
- V. Luego, a la salida de la columna, descartar los primeros 25 ml de la muestra pasante, y a partir de allí recolectar 50 ml como porción final de trabajo, y adicionar 2 ml de reactivo de color.
- VI. Realizar lectura de la absorbancia a 543 nm en un tiempo comprendido entre los 10 minutos y las 2 horas siguientes a la adición del reactivo de color.

## **8. CÁLCULOS Y RESULTADOS**

La curva de calibración debe ir de 0 a 2 mg NO<sub>3</sub>-N/L o hasta que muestre una linealidad confiable, para ello se realiza con los patrones todo el procedimiento que se realiza con las muestras. Como los nitratos se reducen a nitritos, el valor obtenido es la concentración de nitritos totales, para obtener la cantidad de nitratos, se debe determinar los nitritos por otro método y restárselos a los obtenidos por el método de reducción, el valor final da la concentración de NO<sub>3</sub>-N/L.

Desarrollo de la curva a partir del estándar de 10 mg NO<sub>3</sub>-N/L, los patrones son llevados a un volumen final de 100 mL.

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

Estándar (mg/L)	Volumen en mL de estándar de 10 mg/L
0	0
Límite de cuantificación (MRL)	Volumen correspondiente al MRL
0,5	5
1	10
2	20

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.

## 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 acción correctiva si su resultado es  $\geq 1/2$  MRL.
  - Analizar un patrón equivalente al MRL. Error aceptado  $\leq 30\%$ .
  - Analizar un patrón de 1 mg/L, preparado a partir de una segunda fuente. Error aceptado  $\leq 10\%$ .
  - Analizar un patrón de 1.8 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 analizar un estándar de nitrito (1,0 mg NO<sub>2</sub>-N/L) sin reducción para verificar la eficiencia de la columna, la cual debe estar entre el 90-110%. De lo contrario, deténgase y corrija el problema siguiendo las instrucciones del fabricante o pasando 6 M HCL a través de la columna, seguido de un enjuague con solución diluida de cloruro de amonio-EDTA.
- Se debe realizar curva nueva cada vez que se acabe la solución de cloruro de amonio-EDTA. Además, 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, ≤50% de error.
  - Para estándares entre 3 y 5 veces el MRL, ≤20% de error.
  - Para estándares de más de 5 veces el MRL, ≤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.
- Precaución: El cadmio es tóxico y carcinogénico. Recoge y almacena todos los desechos de Cd. Cuando manipules Cd, utiliza guantes y sigue las precauciones descritas en la hoja de datos de seguridad del Cd.

## 12. MANTENIMIENTO

Se debe llevar un buen mantenimiento de la columna, no dejarla secar, lavar los gránulos si se oscurecen, si el flujo se vuelve lento por alguna razón, se sacan los gránulos y se lavan sólo con agua grado reactivo, luego se agregan nuevamente, evitar al máximo la formación de burbujas. Espectrofotómetro calibrado.

## 13. 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. SecciónSM 4500-NO<sub>3</sub>- E.

## 14. CONTROL DE CAMBIOS

Fecha	Resolución	Versión	Detalle
12/10/2010	300-03-10-23-1426	01	Aprobación inicial con código y nombre D-5.4-41: MÉTODO ANALÍTICO COLORIMÉTRICO PARA NITRATOS.
25/06/2011	300-03-10-23-0686	02	Se cambió el nombre del documento y en el ítem de bibliografía se modificó el dato del "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 20 ed., New York, 1999" por la de "Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. APHA – AWWA – WEF. 21 ed. 2005". Nitratos: Colorimétrico, Columna de Cadmio SM 4500-NO <sub>3</sub> - E.
10/04/2014	300-03-10-23-0523	03	Se eliminó el tratamiento de agua destilada y se añadió ósmosis inversa. Se actualiza versión del Standard Methods en la bibliografía.

04/07/2014	300-03-10-23-0918	04	Se incluye el tratamiento para muestras coloreadas, asimismo se especifica que la filtración de la muestra se debe hacer siempre.
04/05/2016	300-03-10-23-0486	05	Se incluye la medición de un estándar de nitrito sin reducción cada vez que se lave la columna y se corrige el tratamiento de aguas coloreadas. Se incluye el punto LC en la curva y se especifica que el porcentaje de recuperación es por duplicado.
09/06/2016	300-03-10-23-0649	06	Se reforma todo el método ajustándolo completamente al Standard Methods Ed 22 sección 4500- $\text{NO}_3^-$ E.
05/10/2016	300-03-10-23-1303	07	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.
11/08/2017	300-03-10-23-0990	08	Se modifica la concentración del patrón de nitritos usado en la verificación de la eficiencia de la columna de 1.5 a 1 mg/L.
06/10/2017	300-03-10-23-01270	09	Se cambia criterio de aceptación para el estándar de 0.2; del 10% al 20%.
15/08/2018	300-03-10-23-1436	10	En la sección de TOMA DE MUESTRAS Y ALMACENAMIENTO se incluye: "Las muestras cloradas son estables durante al menos 14 días sin preservación ácida". – SM Ed.23. Ácido clorhídrico. 6M: Agregue cuidadosamente 500 ml de HCl concentrado a 400 ml. agua reactiva Diluir a 1 L con agua reactiva. Esta solución es estable por un año. La eficiencia debe ser del 90 al 110%, de lo contrario, deténgase y corrija el problema siguiendo las instrucciones del fabricante o pasando 6 M HCL a través de la columna, seguido de un enjuague con solución diluida de cloruro de amonio-EDTA.
19/11/2019	300-03-10-23-1429	11	Se adiciona dentro de la estructura del método la sección 2 – ALCANCE, así: "De acuerdo con la verificación, se define que la determinación del analito en cuestión es aplicable para las matrices: Potable, Residual doméstica e industrial, Recreacional, Subterránea, Aguas de proceso (lavado de fruta), Superficial y Marina, con un rango de trabajo comprendido entre 0,1 mg/L (MRL) y 2,0 mg/L, de acuerdo a lo establecido experimentalmente". Por otro lado, se incluye la sección 8 – PROCEDIMIENTO, especificando el paso a paso de las partes del ensayo: preparación y activación de la columna, y tratamiento de la muestra; lo que conllevó a ajustar la sección 9 – ALGORITMO. Se cambia la codificación del documento pasando de D-5.4-41 a D-7.2-24 de acuerdo a la nueva versión de la Norma – ISO/IEC 17025:2017.
24/11/2023	300-03-10-23-2554	12	Se actualiza el documento para la determinación de NITRATOS, de acuerdo con la metodología normalizada de Standard Methods 4500 $\text{NO}_3^-$ E del 2022, edición 24.
09/07/2025	100-03-10-23-1338	13	Se corrigió el año de publicación de la versión vigente de Standard Methods (2023).

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