


|   |   |                               |
|---|---|-------------------------------|
|  | <b>MÉTODO ANALÍTICO FÓSFORO TOTAL – MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO: COLORIMÉTRICO, SM 4500-P B-4 E.</b> |                               |
|   | Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá   |                               |
|   | Código: D-7.2-38  | 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 8               |

## 1. DESCRIPCIÓN

El fósforo se encuentra en las aguas naturales y residuales casi exclusivamente en forma de fosfatos, clasificados en ortofosfatos, fosfatos condensados como el piro, meta y otros polifosfatos, y los ligados orgánicamente. Se presentan en solución, partículas o en los cuerpos de organismos acuáticos.

Estas formas del fosfato surgen de una diversidad de fuentes. Cantidades pequeñas de algunos fosfatos condensados se añaden a algunos suministros de agua durante el tratamiento, y se pueden añadir cantidades mayores de los mismos compuestos cuando el agua se utiliza para lavar ropa u otras limpiezas, ya que son los componentes principales de muchos preparados comerciales para la limpieza. Los fosfatos se utilizan ampliamente en el tratamiento de aguas de calderas. Los ortofosfatos aplicados como fertilizantes a la tierra cultivada agrícola o residual son arrastrados a las aguas superficiales con las lluvias y, en menor proporción, con la nieve derretida. Los fosfatos orgánicos se forman principalmente en procesos biológicos. Son aportados al alcantarillado por los residuos corporales y de alimentos, y también se pueden formar a partir de los ortofosfatos durante los procesos de tratamiento biológico o por recibir la carga biológica del agua.

Las fracciones de fosfato convertidas en ortofosfato solo por destrucción oxidante de la materia orgánica presente, se consideran “fósforo orgánico” o “ligado orgánicamente”. La intensidad de oxidación requerida para esta conversión depende de la forma del fósforo orgánico presente y, hasta cierto punto, de su cantidad. Al igual que el fósforo reactivo y el hidrolizable con ácido, el fósforo orgánico se encuentra tanto en la fracción disuelta como en la suspendida.

Tanto el fósforo total como las fracciones disuelta y suspendida pueden dividirse analíticamente en los tres tipos químicos descritos: reactivo, hidrolizable con ácido y fósforo orgánico.

## 2. ALCANCE

La determinación de fósforo total 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 y Residual, 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. FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

#### 3.1. Principio

Debido a que el fósforo puede encontrarse en combinación con materia orgánica, un método de digestión para determinar el fósforo total debe ser capaz de oxidar eficazmente la materia orgánica para liberar el fósforo como ortofosfato. El método de ácido nítrico-ácido sulfúrico se recomienda para la mayoría de las muestras.

El análisis del fosforo incluye dos pasos generales en los métodos:

- a) Conversión de la forma fosfatada en ortofosfato disuelto.
- b) Determinación colorimétrica del ortofosfato disuelto.

La separación del fósforo en sus varias formas se define analíticamente, pero se han seleccionado las diferenciaciones analíticas de modo que puedan utilizarse con fines interpretativos.

La hidrólisis ácida a la temperatura de ebullición del agua transforma los fosfatos condensados, disueltos y en partículas, en ortofosfato disuelto. La hidrólisis libera inevitablemente algo de fosfato a partir de los compuestos orgánicos; pero puede reducirse al mínimo eligiendo cuidadosamente la fuerza del ácido y el tiempo y temperatura de hidrólisis. Para esta fracción es preferible el término “fósforo hidrolizable por ácido” al de “fosfato condensado”.

Las fracciones de fosfato convertidas en ortofosfato solo por destrucción oxidante de la materia orgánica presente, se consideran “fósforo orgánico” o “ligado orgánicamente”. La intensidad de oxidación requerida para esta conversión depende de la forma del fósforo orgánico presente y, hasta cierto punto, de su cantidad. Al igual que el fósforo reactivo y el hidrolizable con ácido, el fósforo orgánico se encuentra tanto en la fracción disuelta como en la suspendida.

Tanto el fósforo total como las fracciones disuelta y suspendida pueden dividirse analíticamente en los tres tipos químicos descritos: reactivo, hidrolizable con ácido y fósforo orgánico.

En este caso particular, el molibdato amónico y el tartrato antimonílico potásico 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  $\text{NO}_2^-$  interfieren y dan resultados un 3% más bajos a concentraciones de 1mg/L, y del 10-15% más bajos a la de 10 mg/L. Sulfuro y silicato no interfieren a concentraciones de 1 y 10 mg/L.

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

Agregue ácido sulfúrico para alcanzar un pH <2 y refrigere entre 0 y 6 °C o congele a -10°C o menos sin añadir ácido. Analice la muestra en un plazo de 28 días desde la recolección.

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.
- Plancha de calentamiento.
- Extractor de gases
- Elementos de protección personal.

|   |             |                |
|---|-------------|----------------|
| Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá |             |                |
| D-7.2-38  | Versión: 09 | Página: 3 de 8 |

## 6. REACTIVOS

- **Agua grado reactivo.**
- **Ácido sulfúrico concentrado ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).**
- **Ácido nítrico concentrado ( $\text{HNO}_3$ ) 65%.**
- **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 hidróxido de sodio 1 N:** disolver 20 g de hidróxido ( $\text{NaOH}$ ) en perlas, en 400 mL de agua grado reactivo en un matraz aforado de 500 mL y dilúyase a volumen.
- **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.
- **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  $4^\circ\text{C}$ .
- **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

### Digestión ácida preliminar:

- i. Tome 50 mL de muestra en un Erlenmeyer de 125 a 250 mL según su preferencia.
- ii. Adicionar 1 mL de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado y 5 mL de  $\text{HNO}_3$  concentrado, agitar moderadamente para homogenizar la solución resultante.
- iii. Llevar la muestra a digestión en una plancha de calentamiento hasta que el volumen se reduzca, por ebullición, a una porción de 1 mL.
- iv. Enfriar hasta temperatura ambiente, añadir 20 mL de agua destilada, 2 gotas de indicador de fenolftaleína y agregar la cantidad necesaria de solución de NaOH 1 N hasta producir un ligero tinte rosa.
  - a. NOTA: Si después de añadir 20 mL de agua destilada la muestra está muy turbia, esta debe ser filtrada para remover material suspendido.
- v. Transferir la solución neutralizada a un balón aforado de 100 mL y completar a tope con agua destilada.

### Determinación de fósforo:

- i. A partir de lo anterior, tomar 50 mL de la muestra y llévelos a un Erlenmeyer.
- ii. Añadir 1 o 2 gotas de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  5 N hasta desaparecer la coloración rosa del indicador.
- iii. Adicione 8 mL del reactivo combinado.
- iv. 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 de fósforo total.

## 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 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  $\text{PO}_4\text{-P/L}$ , y con un volumen final de 100 mL.

| Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá |             |                |
|---|-------------|----------------|
| D-7.2-38  | Versión: 09 | Página: 5 de 8 |

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

| Estándares [mg/L]              | Volumen en [mL] de estándar de 10 mg/L |
|--------------------------------|--|
| 0                              | 0                                      |
| Límite de cuantificación (MRL) | Volumen correspondiente al MRL (mL)    |
| 0,3                            | 3                                      |
| 0,5                            | 5                                      |
| 0,8                            | 8                                      |
| 1,0                            | 10                                     |

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 4500-P B-4,E.

## 12. CONTROL DE CAMBIOS

| Fecha      | Resolución         | Versión | Detalle  |
|------------|--------------------|---------|--|
| 11/08/2017 | 300-03-10-23-0990  | 01      | Aprobación inicial con código y nombre D-5.4-77: MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINACIÓN DE FÓSFORO TOTAL.   |
| 06/10/2017 | 300-03-10-23-01270 | 02      | Se indicó de manera exacta la referencia del método según el SM 22 Ed. Por otro lado se modificó el patrón alto del control de seguimiento interno del método.   |
| 15/08/2018 | 300-03-10-23-1436  | 03      | De acuerdo al Standard Methods Ed.23 de 2017 se especifican los siguientes cambios:<br>Se indicó en el nombre del método el numeral que hace referencia a la digestión que se practica en el ensayo. Se eliminó la mención de la edición del SM de manera textual a lo largo del documento. En la sección de SEGUIMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD se especificó análisis de un patrón de seguimiento equivalente al LCM a cambio del que se venía trabajando de 0,2 mg/L y se añadió un patrón de 0,5 mg/L (de segunda fuente) para control medio; y también se indicó verificación de los puntos de la curva cada vez que deba realizarse por concepto de incumplimiento de los patrones de verificación por lote o cuatrimestralmente. |
| 19/11/2019 | 300-03-10-23-1429  | 04      | Se adiciona dentro de la estructura del método la sección 2 – ALCANCE, así: “La determinación de fósforo total 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 y Residual, 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”.  |

|            |                   |    |  |
|------------|-------------------|----|--|
|            |                   |    | Se cambia la codificación del documento pasando de D-5.4-77 a D-7.2-38 de acuerdo a la nueva versión de la Norma – ISO/IEC 17025:2017.   |
| 06/10/2020 | 300-03-10-23-1125 | 05 | Se deja como una recomendación la preparación de la curva a partir de un estándar de 10 mg/L y no como una obligación.<br>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 | 06 | Se realiza modificación en la redacción para la acción correctiva del blanco del método.   |
| 04/08/2023 | 300-03-10-23-1521 | 07 | Se actualiza el procedimiento de análisis con la siguiente nota: "Si después de añadir 20 mL de agua destilada la muestra está muy turbia, esta debe ser filtrada para remover material suspendido".   |
| 24/11/2023 | 300-03-10-23-2554 | 08 | Se actualiza el documento para la determinación de FOSFORO TOTAL, de acuerdo con la metodología normalizada de Standard Methods 4500-P B –E del 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**