



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA**

**ANTEPROYECTOS DE NORMA MEXICANA PARA LA MEDICIÓN DE
NITRITOS, NITRATOS, CROMO HEXAVALENTE Y ORTOFOSFATOS
EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS,
MEDIANTE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO (FIA)
ACOPLADO A UV/VIS**

TESIS

**PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA**

PRESENTA

DIANA VALADEZ MARTÍNEZ



MÉXICO, D.F. 2013



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

JURADO ASIGNADO

PRESIDENTE: Dra. Saldivar Osorio Liliana

VOCAL: Dr. Luna Pabello Víctor Manuel

SECRETARIO: I.Q. Goytia Leal Valia Maritza

1er SUPLENTE: Dra. Peña Álvarez Araceli Patricia

2do SUPLENTE: M. en C. Gama González Silvia Citlalli

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:
LABORATORIO NACIONAL DE REFERENCIA DE LA COMISIÓN NACIONAL DEL
AGUA

I.Q. Valia Maritza Goytia Leal
ASESOR DEL TEMA

M. en C. Silvia Citlalli Gama González
SUPERVISOR TÉCNICO

Diana Valadez Martínez
SUSTENTANTE

A mis padres Darío Valadez y Margarita Martínez.

A mi hermano Teófilo y a mis hermanas Rosalía, Rosario y Greta.

AGRADECIMIENTOS

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) de la CONAGUA, donde tuve el apoyo del Ing. Enrique Mejía Maravilla, quien autorizó la realización de la tesis y me brindó una beca durante todo el tiempo de elaboración de la misma, por lo cual estoy muy agradecida.

Agradezco a mi supervisora la I.Q. Valia Maritza Goytia Leal por todo el apoyo brindado, la confianza puesta en mí y la oportunidad de desarrollarme profesionalmente en el LNR, así como a todo el personal de este laboratorio por ofrecerme gran parte de su experiencia y colaboración. Agradezco también a la M. en C. Silvia Citlalli Gama González por su enorme disposición, orientación, asesoría y por todo el tiempo dedicado; de igual forma agradezco a todos los integrantes del jurado por sus valiosos comentarios que me ayudaron a culminar este trabajo.

Mi más profundo agradecimiento a mis padres por su inmenso cariño y apoyo incondicional; a mis hermanos de los cuales estoy muy orgullosa, quiero y admiro profundamente; a Ari, amigos y compañeros de la facultad por todos esos gratos momentos compartidos, risas, experiencias, locuras, enseñanzas, pero sobre todo, por hacer de mi vida algo extraordinariamente peculiar.

En realidad son muchas las personas a las que me gustaría agradecer, en especial a aquellas que marcaron cada una de las etapas de mi vida, afortunadamente tengo la dicha de estar aún con algunas de ellas y de otras sólo permanece su recuerdo, pero sin importar en donde se encuentren quiero darles las gracias por ser parte de mi vida.

Finalmente le doy las gracias a la naturaleza por no ocasionar un cataclismo más y permitirme concluir esta etapa de mi vida.

ÍNDICE

Resumen	1
1 Introducción	2
2 Planteamiento de la problemática	4
2.1 Objetivos	4
2.1.1 Objetivo general	4
2.1.2 Objetivos particulares	4
2.2 Justificación	5
2.3 Hipótesis	5
2.4 Estrategia de trabajo	6
3 Antecedentes	6
3.1 Calidad del Agua y Marco Regulatorio	7
3.1.1 Criterios de calidad del agua	11
3.2 Descripción de los analitos de estudio	14
3.2.1 Nitratos y nitritos	14
3.2.1.1 Efectos ambientales	16
3.2.1.2 Ciclo del nitrógeno	17
3.2.1.3 Reseña toxicológica	18
3.2.1.4 Antecedentes de la determinación del valor de referencia	20
3.2.2 Cromo hexavalente	21
3.2.2.1 Efectos ambientales	22
3.2.2.2 Reseña toxicológica	24
3.2.2.3 Antecedentes de la determinación del valor de referencia	26
3.2.3 Ortofosfatos	27

3.2.3.1 Efectos ambientales	27
3.2.3.2 Ciclo del fósforo	28
3.3 Métodos analíticos empleados para la determinación de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos.	29
3.3.1 Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR)	29
3.3.2 Método espectrofotométrico.....	30
3.3.3 Cromatografía iónica.....	30
3.3.4 Ensayos enzimáticos.	31
3.3.5 Potenciometría.....	31
3.3.6 Sistema de Análisis por Inyección en Flujo (FIA).....	32
3.3.6.1 Ventajas de los sistemas FIA.....	33
3.3.6.2 Características esenciales del sistema FIA.	34
3.3.6.3 Fundamentos del sistema FIA	35
3.3.6.4 Proceso químico del sistema FIA.	36
3.4 Parámetros de validación de los métodos analíticos.....	38
3.4.1 Límite de detección.....	38
3.4.2 Límite de cuantificación.....	38
3.4.3 Intervalo de trabajo	38
3.4.4 Intervalo lineal.....	39
3.4.4.1 Coeficiente de correlación	39
3.4.4.2 Prueba t.....	39
3.4.4.3 Análisis de residuales	39
3.4.4.4 Análisis de la varianza (ANOVA)	40
3.4.5 Linealidad.....	40

3.4.6 Sensibilidad.....	40
3.4.7 Exactitud	40
3.4.7.1 Veracidad.....	40
3.4.7.2 Precisión.....	41
3.4.7.2.1 Repetibilidad.....	41
3.4.7.2.2 Reproducibilidad.....	41
3.4.8 Recuperación.....	41
4. Desarrollo experimental.....	42
4.1 Fundamento de las reacciones	44
4.1.1 Nitratos y nitritos	44
4.1.2 Cromo hexavalente.....	45
4.1.3 Ortofosfato	45
4.2 Metodología	46
4.3 Materiales.....	46
4.4 Equipos	47
4.5 Reactivos	48
4.5.1 Reactivos para nitratos-nitritos.....	48
4.5.2 Reactivos para cromo hexavalente	48
4.5.3 Reactivos para ortofosfatos	49
4.6 Condiciones óptimas de análisis	49
4.7 Descripción de la evaluación de los parámetros de validación de los métodos analíticos.....	50
4.7.1 Límite de detección.....	50
4.7.2 Límite de cuantificación.....	50
4.7.3 Intervalo de trabajo	51

4.7.4 Intervalo lineal.....	51
4.7.5 Sensibilidad.....	52
4.7.6 Exactitud	52
4.7.6.1 Precisión.....	53
4.7.6.1.1 Repetibilidad.....	53
4.7.7 Recuperación.....	53
5 Resultados y discusión de resultados	54
5.1 Validación del método FIA de nitritos	54
5.2 Validación del método FIA de nitratos.	58
5.3 Validación del método FIA de cromo hexavalente.....	62
5.4 Validación del método FIA de ortofosfatos.	66
5.5 Aplicación de los métodos analíticos FIA validados a muestras reales.....	71
5.5.1 Zona de estudio	71
5.5.1.1 Lago Nabor Carrillo.....	71
5.5.1.2 Sitios de monitoreo.....	73
Conclusiones	77
Bibliografía.....	78
ANEXO 1. Ecuaciones empleadas para hacer el análisis estadístico de los métodos analíticos	84
ANEXO 2. Anteproyectos de Norma Mexicana.	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Esquema general de trabajo.....	6
Figura 2. Agenda del Agua 2030	11
Figura 3. Ciclo del nitrógeno.....	17
Figura 4. Circulación del Cr(III) y Cr(VI) en el medio ambiente contaminado	23
Figura 5. Principales rutas involucradas en las lesiones genéticas causadas por el Cr ..	25
Figura 6. Ciclo del fósforo.....	28
Figura 7. Porcentajes del uso del sistema FIA	33
Figura 8. Características del diagrama	36
Figura 9. Esquema general de un sistema FIA.....	37
Figura 10. Ubicación de los sitios de muestreo	74

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Criterios ecológicos de calidad del agua	12
Tabla 2. Límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-1996	12
Tabla 3. Estándares de calidad del agua potable en países de América	13
Tabla 4. Valores de referencia para nitritos, nitratos y la suma de ambos	16
Tabla 5. Métodos analíticos para cuantificar nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos.....	29
Tabla 6. Métodos internacionales estandarizados que emplean FIA para la cuantificación de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos.....	42
Tabla 7. Condiciones óptimas de análisis.....	49
Tabla 8. Mínimos cuadrados de la curva promedio de nitritos.....	56
Tabla 9. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de nitritos	57
Tabla 10. Mínimos cuadrados de la curva promedio de nitratos	60

Tabla 11. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de nitratos	61
Tabla 12. Mínimos cuadrados de la curva promedio de cromo hexavalente, FIA	64
Tabla 13. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de cromo (VI)	65
Tabla 14. Regresión ponderada de ortofosfatos.....	68
Tabla 15. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de ortofosfatos ...	69
Tabla 16. Comparación de los métodos FIA contra los métodos convencionales normados.....	69
Tabla 17. Coordenadas de los sitios de muestreo.....	73
Tabla 18. Resultados de las muestras analizadas del Lago Nabor Carrillo.....	74

ÍNDICE DE GRÁFICAS

Gráfica 1. Gráfico de residuales de nitritos.....	55
Gráfica 2. Regresión ajustada de nitritos.....	56
Gráfica 3. Gráfico de residuales de nitratos.....	59
Gráfica 4. Regresión ajustada de nitratos.....	60
Gráfica 5. Gráfico de residuales de cromo hexavalente.....	63
Gráfica 6. Regresión ajustada de cromo hexavalente.....	64
Gráfica 7. Gráfico de los residuales de ortofosfatos.....	67
Gráfica 8. Regresión ajustada de ortofosfatos.....	68

LISTA DE SIMBOLOS Y SIGLAS

a	Ordenada en el origen de la recta de regresión
AICAS	Área de Importancia para la Conservación de las Aves
ADN	Ácido desoxirribonucleico
AMM	Analytical Methods Manual
b	Pendiente de la recta de regresión
CFA	Análisis de Flujo Continuo
CIIC	Centro Internacional de Investigaciones sobre el Cáncer
CONAGUA	Comisión Nacional del Agua
CV	Coeficiente de variación
DE	Desviación estándar
DSEAO	Dosis sin efecto adverso observado
EPA	United States Environmental Protection Agency
FIA	Análisis por Inyección en Flujo
IDA	Ingesta diaria admisible
ISO	International Organization for Standardization
JECFA	Comité Mixto FAO/OMS de Expertos en Aditivos Alimentarios
LC	Límite de cuantificación
LD	Límite de detección
LNR	Laboratorio Nacional de Referencia
MN	Método Normado
mg/L	Miligramos por litro
n	Tamaño muestral
NAD	Nicotinamida adenina dinucleótido
NADP	Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato
NCAR	National Center for Atmospheric Research
NOM	Norma Oficial Mexicana
NTK	Nitrógeno total Kjeldahl
OMS	Organización Mundial de la Salud
ppm	Partes por millón
r	Coeficiente de correlación lineal
S	Desviación estándar de una muestra
$S_{y/x}$	Desviación estándar de los residuos de y
S_b	Desviación estándar de la pendiente
S_a	Desviación estándar de la ordenada al origen
$S_{(y/x)w}$	Desviación estándar de los residuos de y de la recta de regresión ponderada
S_{x_0}	Desviación estándar del valor de x estimado con la recta de regresión
S_B	Desviación estándar de un blanco
$S_{x_{0w}}$	Desviación estándar de un valor de x estimado con la recta de regresión ponderada
SFA	Análisis por Flujo Segmentado
SM	Standar Methods
t	Contraste t
UV/VIS	Ultravioleta-visible
\bar{x}	Concentración promedio
x_0	Valor de x estimado utilizando la recta de regresión

\hat{y}
 x_i
 y_i
 \bar{y}

Valores de y corregidos
Representa el resultado numérico al i -ésimo valor
Representa la respuesta al i -ésimo valor
Respuesta promedio

RESUMEN

Millones de mediciones analíticas se realizan diariamente en miles de laboratorios alrededor del mundo. Hay innumerables razones para realizar esas mediciones, por ejemplo, en materia de calidad del agua, ésta se analiza para verificar si cumple con los criterios establecidos de acuerdo a su uso como: fuente de abastecimiento, riego agrícola, recreativo con contacto primario, consumo humano, pecuario o protección de la vida acuática. El tiempo y costo de realizar esas mediciones son elevados, además, los residuos que éstas generan muchas veces son dañinos para la salud y el medio ambiente, por lo tanto, se buscan implementar métodos analíticos más amigables; ejemplo de ello, es el sistema de Análisis por Inyección en Flujo (FIA, por sus siglas en inglés: Flow Injection Analysis), que permite reducir la cantidad de reactivos y muestras empleadas y por lo tanto, la generación de residuos; por lo anterior, se estableció como objetivo realizar Anteproyectos de Norma Mexicana para la medición de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos en aguas naturales, residuales y residuales tratadas mediante FIA UV/VIS, ya que estos analitos a ciertas concentraciones son nocivos para la salud y el medio ambiente.

Dentro de los resultados se llevó a cabo la validación de los métodos propuestos y de los métodos convencionales actualmente normados para poder contrastar el desempeño de cada uno de ellos y evaluar si los métodos FIA pueden complementar a la normativa vigente. Posteriormente, se hizo uso de los métodos para analizar muestras reales del lago Nabor Carrillo con la finalidad de probarlos y de conocer las condiciones de calidad del momento del cuerpo de agua.

En conclusión los protocolos FIA establecidos son estadísticamente aceptables, por lo tanto, complementan y robustecen a la normativa vigente para la medición de la calidad del agua y son altamente recomendables para análisis de rutina.

1 INTRODUCCIÓN

En años recientes, los problemas de calidad del agua han atraído cada vez más la atención de las autoridades y comunidades de todo el mundo, debido a su carácter de bien común y recurso no renovable; por lo que cuidar su calidad es eje de política pública, por ello la CONAGUA busca implementar técnicas analíticas más confiables, sensibles, reproducibles, económicas, rápidas y amigables con el medio ambiente al reducir la cantidad de desechos.

Como bien se sabe, el agua es elemental para la vida, la salud básica y la supervivencia, así como para la producción de alimentos y para las actividades económicas, por ende, debe cumplir con ciertos criterios de calidad que incluyen parámetros fisicoquímicos, microbiológicos, radiológicos y organolépticos, los cuales son cuantificados por diversas técnicas analíticas que hoy en día y debido a la creciente demanda de análisis de control analítico en áreas como: clínica, agrícola, ambiental, farmacéutica, industrial, bioquímica y alimentaria; han llevado al desarrollo de la automatización del análisis químico; ejemplo de ello es el sistema FIA con detección espectrofotométrica, el cual es una de las formas más avanzadas que el químico analítico tiene a su disposición para manipular disoluciones acuosas o mezclar reactivos sin intervención humana, en donde finalmente se transportan los componentes de una o más reacciones químicas a un instrumento de medida, en este caso un espectrofotómetro UV/VIS.

En el presente trabajo se expone el proceso y los resultados de validación para la implementación de métodos estandarizados internacionalmente en un laboratorio mexicano con el objetivo de generar Anteproyectos de Norma Mexicana, para la medición de los iones: nitritos (NO_2^-), nitratos (NO_3^-), cromo hexavalente (Cr^{6+}) y ortofosfatos (PO_4^{3-}), mediante FIA UV/VIS; los cuales a ciertos niveles de concentración son nocivos para la salud y el medio ambiente.

El nitrato es una de las formas de nitrógeno de mayor interés en las aguas naturales y residuales. Se presenta generalmente como trazas en las aguas

superficiales, pero puede alcanzar niveles elevados en aguas subterráneas. Es un nutriente esencial para muchos organismos autótrofos fotosintéticos y en algunos casos ha sido identificado como el determinante en el crecimiento de éstos. Una concentración alta de nitratos es indicio de una etapa de mayor mineralización (amonificación) de los compuestos nitrogenados. Mientras que los dos efectos más conocidos producidos por los nitritos son la metahemoglobinemia y la formación de compuestos cancerígenos, las nitrosaminas.

El cromo hexavalente es tóxico para los humanos, los animales y la vida acuática; fácilmente produce sensibilidad de la piel y se sabe que es cancerígeno por inhalación.

Por otro lado los ortofosfatos que provienen de una gran cantidad de fuentes, tales como: productos de limpieza, fertilizantes, procesos biológicos, etc., son un nutriente esencial para el crecimiento de los organismos, por lo que la descarga de éstos en cuerpos de agua puede estimular el crecimiento de macro y micro organismos fotosintéticos en cantidades nocivas.

De acuerdo a las buenas prácticas de laboratorio, es de suma importancia que todos los métodos analíticos empleados estén validados. La validación de un método es el proceso por el cual se establece que éste cuenta con capacidades de desempeño consistentes que satisfacen los requisitos particulares para su uso previsto. Se expresa en términos de parámetros estadísticos como: repetibilidad, recuperación, robustez, límite de cuantificación, límite de detección, intervalo de lineal, sesgo, exactitud, sensibilidad, entre otros.

Con el fin de verificar el desempeño de los métodos propuestos en muestras reales, se analizaron muestras del Lago Nabor Carrillo ubicado al noreste de la ciudad de México, en la zona federal del ex vaso de Texcoco; el cual se ha convertido en un valioso ecosistema y es un Área de Importancia para la Conservación de las Aves (AICAS).

2 PLANTEAMIENTO DE LA PROBLEMÁTICA

2.1 OBJETIVOS

2.1.1 OBJETIVO GENERAL

- Elaborar los Anteproyectos de Norma Mexicana de calidad del agua para la medición de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos en aguas naturales, residuales y residuales tratadas, mediante FIA UV/VIS.

2.1.2 OBJETIVOS PARTICULARES

- Implementar los métodos de análisis FIA para la medición de parámetros químicos de impacto ambiental en el LNR.
- Crear los procedimientos operativos estandarizados para los métodos FIA.
- Realizar la validación de los métodos FIA y métodos convencionales normados empleados en el LNR.
- Evaluar si los métodos FIA pueden complementar a la normativa actual en materia de análisis de calidad del agua y desde su alcance para la evaluación de valores guía y criterios de la misma.
- Emplear los métodos FIA para evaluar si las condiciones actuales de calidad del agua del lago Nabor Carrillo son adecuadas para un AICAS y para otros posibles usos en un futuro.

2.2 JUSTIFICACIÓN

Nuestro país en la actualidad cuenta con métodos normalizados para la medición de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos mediante espectroscopia UV/VIS, pero derivado de la necesidad de proteger al medio ambiente y de disminuir tiempos, así como de mejorar los procesos de manejo de muestras y niveles de concentración detectados; se plantea la generación de normas de análisis de calidad del agua empleando el sistema FIA con detección espectrofotométrica, el cual nos permitirá obtener un gran número de resultados en menor tiempo, con mayor sensibilidad, precisión y disminución de residuos así como de costos; por ello, se realizará la elaboración de Anteproyectos de Norma Mexicana para la medición de esos analitos, ya que a ciertas concentraciones son perjudiciales para la salud y el medio ambiente.

2.3 HIPÓTESIS

Los métodos FIA acoplados a UV/VIS generan datos confiables, reproducibles y son metodologías más limpias ambientalmente, por lo tanto, pueden optimizar los métodos tradicionales y complementar a la normativa actual en materia de calidad del agua.

2.4 ESTRATEGIA DE TRABAJO

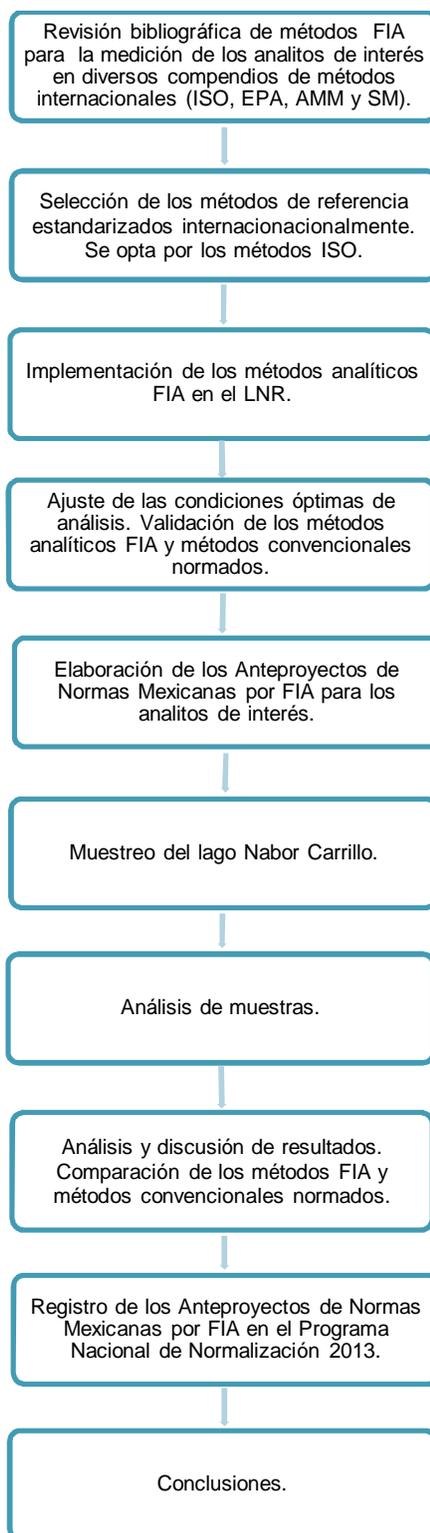


Figura 1. Esquema general de trabajo.

3 ANTECEDENTES

3.1 Calidad del Agua y Marco Regulatorio

Durante la colonia, los pobladores españoles que arribaron a México, demandaron agua para desarrollar la agricultura, la minería y el establecimiento de villas y ciudades. En principio, los distintos usos del agua fueron regulados con base en la legislación castellana, la cual ordenaba que el agua fuera propiedad eminente y directa de los reyes. En el derecho castellano el uso del agua se dividía entre público y privado. El acceso público consideraba al agua como un bien común de los habitantes de una ciudad o villa y por ello podía obtenerse de manera gratuita en las fuentes públicas. Así mismo, establecía el gravamen de las aguas públicas con el fin de garantizar la limpieza y reparación de las cañerías. Los usos privados de las aguas fueron otorgados a distintos grupos (pueblos de indios, órdenes religiosas e instituciones civiles) o particulares mediante concesión real, es decir, se trataba de un uso sancionado por una merced concedida por el rey (CONAGUA, 2009).

Con la independencia de México y los diferentes movimientos sociales, políticos y culturales, la regulación de la gestión del agua evolucionó, así para el 13 de diciembre de 1910, cuando se desarrollaba una de las primeras revoluciones sociales del mundo, fue publicada una ley que declaraba que eran de jurisdicción federal:

Los mares territoriales, las de los esteros, lagos y lagunas que comunican con el mar; las de los ríos, lagos y cauces en general y otras corrientes cuyos lechos en su totalidad o en parte sirvan de límites entre los estados o territorios o países vecinos, y cuando se extiendan o pasen de un estado a otro; las de los afluentes directos o indirectos de estas corrientes; las de los lagos y lagunas que comuniquen con los ríos y lagos ya mencionados; las de los ríos, lagunas y cauces en general situados en el distrito y territorios Federales (Lanz, 1982).

Desde entonces, el manejo del agua se dio a partir de los diferentes sectores que representaban sus diversos usos; así el 16 de enero de 1989 se crea la Comisión Nacional del Agua (CONAGUA) como un organismo Federal desconcentrado de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

Una de las primeras tareas de la CONAGUA fue establecer un nuevo marco jurídico en materia de agua, por lo que el primero de diciembre de 1992, se publica la Ley de Aguas Nacionales. Además de esta ley y con el objetivo de regular los diversos usos del agua, se generan Normas Oficiales Mexicanas (NOM) de cumplimiento obligatorio con objeto de gravar las descargas en los cuerpos de agua nacional que se convierten en cuerpos receptores; así, en materia de aguas residuales y de interés para este trabajo se cuenta con las siguientes Normas Oficiales Mexicanas:

- **NOM-001-SEMARNAT-1996**

Establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, con el objeto de proteger su calidad y posibilitar sus usos, y es de observancia obligatoria para los responsables de dichas descargas. Esta NOM no se aplica a las descargas de aguas provenientes de drenajes separados de aguas pluviales. Los contaminantes que aborda la NOM son: contaminantes básicos (grasas y aceites, materia flotante, sólidos sedimentables, sólidos suspendidos totales, demanda bioquímica de oxígeno, nitrógeno total, fósforo total, temperatura y pH), contaminantes patógenos (coliformes fecales y huevos de helmintos), metales pesados (arsénico, cadmio, cobre, cromo, mercurio, níquel, plomo, zinc) y cianuro.

Sin embargo, esta NOM posee un vacío legal, ya que fue diseñada en los años 90 únicamente para el monitoreo de descargas industriales en cuerpos de agua receptores y no considera las diversas descargas resultado de los procesos actuales y sus desechos.

- **NOM-003-SEMARNAT-1997**

Establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público, con el objeto de proteger el medio ambiente y la salud de la población, y es de observancia obligatoria para las entidades públicas responsables de su tratamiento y reúso. Cuando el servicio al público se realice por terceros, éstos serán responsables del cumplimiento de la presente norma, desde la producción del agua tratada hasta su reúso o entrega, incluyendo la conducción o transporte de la misma. En lo que corresponde a esta NOM los contaminantes que aborda son: contaminantes básicos (grasas y aceites, materia flotante, demanda bioquímica de oxígeno y sólidos suspendidos totales), contaminantes patógenos y parasitarios (coliformes fecales y huevos de helmintos), metales pesados y cianuros; sin embargo, a esta norma también le falta la inclusión de la medición de parámetros que evalúen la presencia de los residuos de los usos actuales.

Por otro lado la norma que se encarga de regular la calidad del agua potable es la **NOM-127-SSA1-1994** que establece los límites permisibles de calidad y los tratamientos de potabilización del agua para uso y consumo humano, que deben cumplir los sistemas de abastecimiento públicos y privados o cualquier persona física o moral que la distribuya, en todo el territorio nacional.

Dentro del quehacer del Gobierno Federal, se encuentra el Programa Nacional Hídrico 2007-2012 que es el instrumento de planeación para el manejo y preservación del agua; en el se establecen los objetivos y estrategias nacionales para cada uno de los cinco ejes de política pública que lo componen (1. Estado de derecho y seguridad; 2. Economía competitiva y generadora de empleos; 3. Igualdad de oportunidades; 4. Sustentabilidad ambiental y 5. Democracia efectiva y política exterior responsable), enunciando los siguientes objetivos:

1. Mejorar la productividad del agua en el sector agrícola.
2. Incrementar el acceso y calidad de los servicios de agua potable, alcantarillado y saneamiento.
3. Promover el manejo integrado y sustentable del agua en cuencas y acuíferos.
4. Mejorar el desarrollo técnico, administrativo y financiero del sector hidráulico.
5. Consolidar la participación de los usuarios y la sociedad organizada en el manejo del agua y promover la cultura de su buen uso.
6. Prevenir los riesgos derivados de fenómenos meteorológicos e hidrometeorológicos y atender sus efectos.
7. Evaluar los efectos del cambio climático en el ciclo hidrológico.
8. Crear una cultura contributiva y de cumplimiento a la Ley de Aguas Nacionales en materia administrativa.

De los cuales, el objetivo 3) Promover el manejo integrado y sustentable del agua en cuencas y acuíferos, particularmente su estrategia 4) Consolidar un sistema integral de medición de las diferentes componentes del ciclo hidrológico, es de suma importancia para la preservación y mejora de la calidad del agua y requiere que el marco normativo de regulación de la calidad sea reforzado y actualizado, por esta razón el LNR está revisando, implementando y validando una serie de metodologías analíticas encaminadas a este fin.

La Agenda del Agua 2030 es el documento resultado de una consulta nacional sobre los grandes temas y preocupaciones en torno al agua, que expone la planeación a largo plazo como guía. En principio plantea una serie de enunciados del deber ser, a continuación se plantean desafíos a largo plazo: 1) Cuencas en equilibrio, 2) Ríos limpios, 3) Cobertura universal y 4) Asentamientos seguros contra inundaciones catastróficas (ver fig. 2).

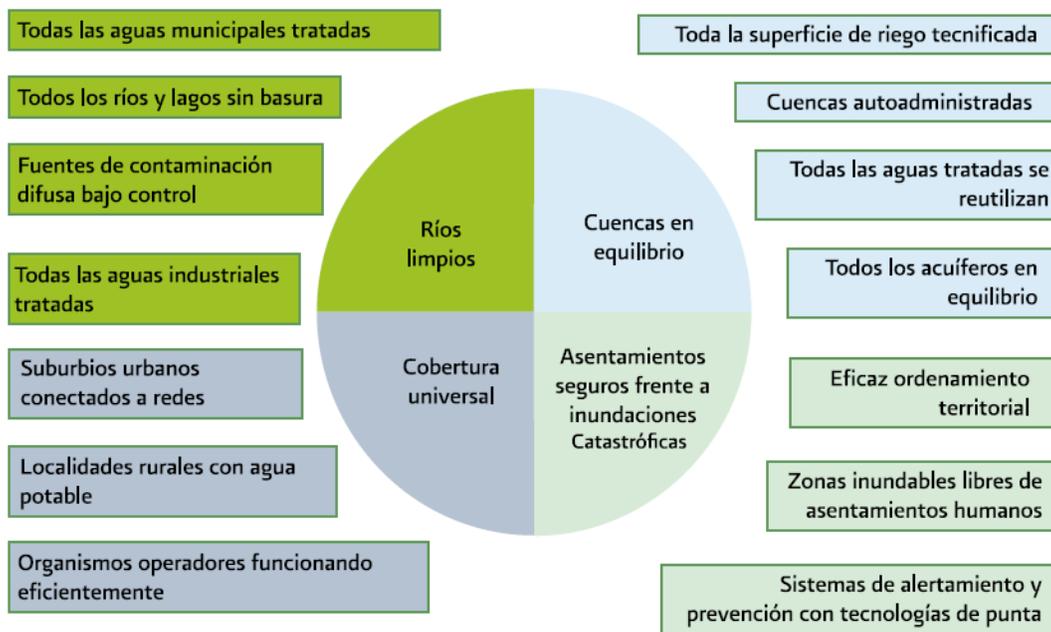


Figura 2. Agenda del Agua 2030 (CONAGUA, 2012).

En el Comité de Derechos Económicos, Sociales y Culturales se definió el derecho al agua en la Observación General No. 15 (2002), como el derecho de todas las personas a “disponer de agua suficiente, salubre, aceptable, accesible y asequible para el uso personal y doméstico”.

A pesar de que no existe un marco único de políticas que satisfagan a todos ni existirá nunca una solución de aplicación universal, un número creciente de países incluye el derecho humano al agua en sus Constituciones, aprueba normativas dirigidas a ampliar y mejorar los servicios de agua y saneamiento y busca políticas innovadoras para realizar el derecho humano al agua, logrando al mismo tiempo una gestión del agua más eficaz y sostenible.

3.1.1 Criterios de Calidad del Agua

El 2 de diciembre del 1989, se publicó en el Diario Oficial de la Federación el acuerdo por el que se establecen los Criterios Ecológicos de Calidad del Agua CE-CCA-001/89. En la tabla 1 sólo se enlistan los analitos de interés para el trabajo.

Tabla 1. Criterios ecológicos de calidad del agua (Gaceta Ecológica, enero de 1990)

PARÁMETROS mg/L	FUENTE DE ABASTECIMIENTO DE AGUA POTABLE	RECREATIVO CONTACTO PRIMARIO	RIEGO AGRÍCOLA	PECUARIO	PROTECCIÓN DE LA VIDA ACUÁTICA	
					AGUA DULCE	AGUAS COSTERAS Y ESTUARIOS
Cromo hexavalente	0.05	-	1.0	1.0	0.01 (XII)	0.05 (XII)
Ortofosfatos	0.1	-	-	-	XXV	0.002
Nitratos	5.0	-	-	90	-	0.04
Nitritos	0.05	-	-	10	-	0.002

XXV Los fosfatos totales, medidos como fósforo, no deberán exceder de 0,05 mg/L en influentes a lagos o embalses ni de 0,025 mg/L dentro del lago o embalse, para prevenir el desarrollo de especies biológicas indeseables y para controlar la eutrofización acelerada. Para el caso de ríos y arroyos, se permitirán concentraciones de hasta 0,1 mg/L

XII La concentración promedio de 4 días de esta sustancia, no debe exceder este nivel, más de una vez cada tres años.

Ahora bien, en la NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas residuales en aguas y bienes nacionales, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de enero de 1997, se establecen los siguientes criterios (ver tabla 2).

Tabla 2. Límites máximos permisibles de la NOM-001-SEMARNAT-1996

LÍMITES MÁXIMOS PERMISIBLES PARA CONTAMINANTES BÁSICOS																				
PARÁMETROS (mg/L)	RÍOS						EMBLASES NATURALES Y ARTIFICIALES				AGUAS MARINAS						SUELO			
	USO EN RIEGO AGRÍCOLA		USO PÚBLICO URBANO		PROTECCIÓN DE VIDA ACUÁTICA		USO EN RIEGO AGRÍCOLA		USO PÚBLICO URBANO		EXPLOTACIÓN PESQUERA, NAVEGACIÓN Y OTROS USOS		RECREACIÓN		ESTUARIOS		USO EN RIEGO AGRÍCOLA		HUMIAEDALES NATURALES	
	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.	P.M.	P.D.
Fósforo Total	20	30	20	30	5	10	20	30	5	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	5	10	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Nitrógeno Total	40	60	40	60	15	25	40	60	15	25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.	15	25	N.A.	N.A.	N.A.	N.A.
Cromo Total	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	1	1.5	0.5	1.0	0.5	1.0	0.5	1.0

N.A. = No es aplicable
P.M. = Promedio mensual
P.D. = Promedio diario

Como se puede apreciar en la tabla anterior la norma no establece valores específicos para nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos, sino que presenta valores para la totalidad de las especies de estos analitos.

La NOM-003-SEMARNAT-1997 publicada en el Diario Oficial de la Federación el 21 de septiembre de 1998, sólo establece que el agua residual tratada reusada en servicios al público no deberá contener concentraciones de metales pesados mayores a los límites máximos permisibles establecidos en la columna que corresponde a embalses naturales y artificiales con uso en riego agrícola de la tabla 2 de la NOM-001-ECOL-1996, por lo tanto, sólo hace mención al cromo total y tampoco establece valores para nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos.

En materia de calidad del agua potable se establecen los siguientes límites máximos permisibles por diversas normativas internacionales (ver tabla 3).

Tabla 3. Estándares de calidad del agua potable en países de América

País	Año	Origen	Cromo (mg/L)	Nitrato (mg/L)	Nitrito (mg/L)
OMS	2006	Valores guía	0.05	50	3
Argentina	1994	Código alimentario	0.05	45	0.1
Bolivia	1997	IBNORCA NB512	0.05	45	0.1
Brasil	1990	Portaria 36-GM	0.05	10	-
Colombia	1998	DEC. 475/98	0.01	10	0.1
Costa Rica	1997	Dto. 25991-S	0.05	50	3
Chile	1984	NCH 409/1	0.05	10	1
Ecuador	1992	IEOS	0.05	50	0.2
EL Salvador	1998	NSO 130701	0.05	45	1
Guatemala	1998	NGO 29001	0.05	45	0.01
México	1994	NOM-127-SSA1	0.05	10	1
Nicaragua	1994	CAPRE	0.05	50	1
Peru	1999	DIGE-SA (propuesta)	0,05	50	3
Rep. Dominicana	1980	NOR-DOM	0,05	45	-
Uruguay	1996	Dto: 27335	0,05	10	1,5
Venezuela	1998	Norm 187 & 138	0,05	45	0,03
Honduras	1995	Acuerdo No 084	0,05	50	3
Panamá	1999	Resolución No 579	0,05	10	1
Paraguay	2000	Ley N. 1614	-	45	-
Canada	2004	Guidelines	0,05	45	3,2
Estados Unidos	2003	EPA 816 - F	0,1	10	1

Como se puede apreciar en la tabla 3 las Guías de la OMS establecen un nivel máximo recomendable de 0.05 mg/L para cromo hexavalente, valor que ha sido prácticamente adoptado por todos los países de América Latina (89.47%) a excepción de Estados Unidos quien se encuentra por encima al permitir 0.1 mg/L y Colombia quien se encuentra por debajo del valor recomendado al permitir un nivel máximo de 0.01 mg/L. Esta tendencia muestra un comportamiento muy homogéneo de las normas de calidad del agua para consumo humano.

Por otro lado la concentración del nitrato está limitada por los estándares de agua potable a 50 mg/L por razones fisiológicas. Todos los países investigados se encuentran al margen (22.22%) o por debajo de este nivel (77.77%), en un intervalo de 10 mg/L como mínimo a un máximo de 50 mg/L, mientras que el estándar establecido por la OMS para nitritos es de 3 mg/L, valor sobre el cual se encuentran Costa Rica, Honduras y Perú alcanzando un porcentaje de 17.64%. Canadá admite un valor máximo de 3.2 mg/L, mientras que el resto de los países de América registran valores inferiores a los de la OMS, los cuales oscilan entre 0.01 mg/L a 1.5mg/L, siendo la gran mayoría con un 76.47%. En este caso ningún país excede el límite recomendado por la OMS.

3.2 Descripción de los analitos de estudio

3.2.1 Nitratos y Nitritos

El nitrato y el nitrito son iones de origen natural que forman parte del ciclo del nitrógeno (ver figura 3). El nitrato se utiliza principalmente en fertilizantes inorgánicos, así como agente oxidante en explosivos y como sal potásica purificada en la fabricación de vidrio, mientras que el nitrito fundamentalmente se emplea como aditivo alimentario (E-249 nitrito potásico, E-250 nitrito sódico), especialmente en carnes curadas. El nitrato es añadido en ocasiones junto con el nitrito como conservante (E-251 nitrato sódico, E-252 nitrato potásico), ya que sirve como reserva de éste al irse transformando lentamente en nitrito.

La principal preocupación derivada de la presencia de nitratos en alimentos o en agua potable tiene dos motivos: por un lado, los efectos tóxicos producidos por un exceso de nitratos en la dieta y por otra parte porque pueden causar la formación endógena de N-nitrosocompuestos, de efectos cancerígenos (como las nitrosaminas).

Los N-nitrosocompuestos son agentes teratógenos, mutágenos y probables carcinógenos, altamente peligrosos para la salud humana. Se originan como consecuencia de la reacción de las aminas secundarias (aromáticas y alifáticas) con el ácido nitroso HONO.

Los nitritos no son aceptables en las aguas potables. Proceden de la oxidación incompleta del amoníaco y de la reducción bacteriana incompleta de los nitratos. El agua que contenga nitritos puede considerarse como agua contaminada por materia fecal. La mayoría de los países de América establecen como valor máximo tolerable 0,1 mg/L.

La concentración de nitrato en aguas subterráneas y superficiales suele ser baja, pero puede llegar a ser alta por filtración o escorrentía de tierras agrícolas o debido a la contaminación por residuos humanos o animales como consecuencia de la oxidación del amoníaco y fuentes similares. Las condiciones anaerobias pueden favorecer la formación y persistencia del nitrito. La cloraminación podría ocasionar la formación de nitrito en el sistema de distribución si no se controla debidamente la formación de cloramina. La formación de nitrito es consecuencia de la actividad microbiana y puede ser intermitente. La nitrificación en los sistemas de distribución puede aumentar la concentración de nitrito, que suele ser de 0,2 a 1,5 mg/L (OMS, 2006).

Tabla 4. Valores de referencia para nitritos, nitratos y la suma de ambos (OMS, 2006)

VALOR DE REFERENCIA	DESCRIPCIÓN
Valor de referencia para el nitrato	50 mg/L para proteger a los lactantes alimentados con biberón contra la metahemoglobinemia (exposición a corto plazo).
Valor de referencia Valor de referencia provisional (nitritos)	<ul style="list-style-type: none"> • 3 mg/L para la metahemoglobinemia en lactantes (exposición a corto plazo) • 0,2 mg/L (provisional) (exposición prolongada) <p>El valor de referencia para los efectos crónicos del nitrito se considera provisional debido a la incertidumbre que existe sobre la relevancia de los efectos adversos para la salud de las personas observadas y la sensibilidad de los seres humanos en comparación con la de los animales. La presencia de nitritos en sistemas de distribución como consecuencia del uso de cloramina será intermitente, y las exposiciones medias a lo largo del tiempo no deben exceder el valor de referencia provisional.</p>
Valor de referencia para la suma de nitratos y nitritos	La suma de los cocientes entre la concentración de cada uno y su valor de referencia no debe ser mayor que 1.
Presencia	En la mayoría de los países, las concentraciones de nitrato en aguas de consumo procedentes de aguas superficiales no superan los 10 mg/L, aunque los niveles de nitrato en agua de pozo superan con frecuencia los 50 mg/L; las concentraciones de nitrito suelen ser menores, inferiores a unos pocos miligramos por litro.
Método de cálculo del valor de referencia	<ul style="list-style-type: none"> • Nitrato (lactantes alimentados con biberón): en estudios epidemiológicos no se describió metahemoglobina en lactantes en zonas en las que el agua de consumo contenía siempre menos de 50 mg/L de nitrato • Nitrito (lactantes alimentados con biberón): el nitrito es 10 veces más potente que el nitrato (en molaridad) con respecto a la formación de metahemoglobina • Nitrito (exposición prolongada): basada en la asignación al agua de consumo del 10% de la IDA propuesta por el JECFA de 0.06 mg/Kg de peso corporal al día, correspondiente a las alteraciones morfológicas en las glándulas suprarrenales, el corazón y los pulmones inducidas por el nitrito en estudios con animales de laboratorio.

3.2.1.1 Efectos ambientales

El contenido de nitratos y nitritos en aguas es un indicativo de la contaminación de las mismas. El agua urbana contiene del orden de 25 ppm de nitratos, mientras que este valor aumenta en aguas negras; en especial en aquellas que hayan estado en contacto con abonos. La presencia elevada de nitratos en agua no es buena ya que, junto con los fosfatos, dan lugar a procesos de eutrofización en los que aumenta la materia vegetal consumiéndose el oxígeno del agua. La presencia de bacterias reductoras en el agua puede originar procesos de reducción que conviertan los nitratos en nitritos, mucho más tóxicos.

3.2.1.2 Ciclo del nitrógeno

La forma en que el nitrógeno circula sobre la superficie de la tierra y la atmosfera se representa mediante el ciclo del nitrógeno (figura 3).

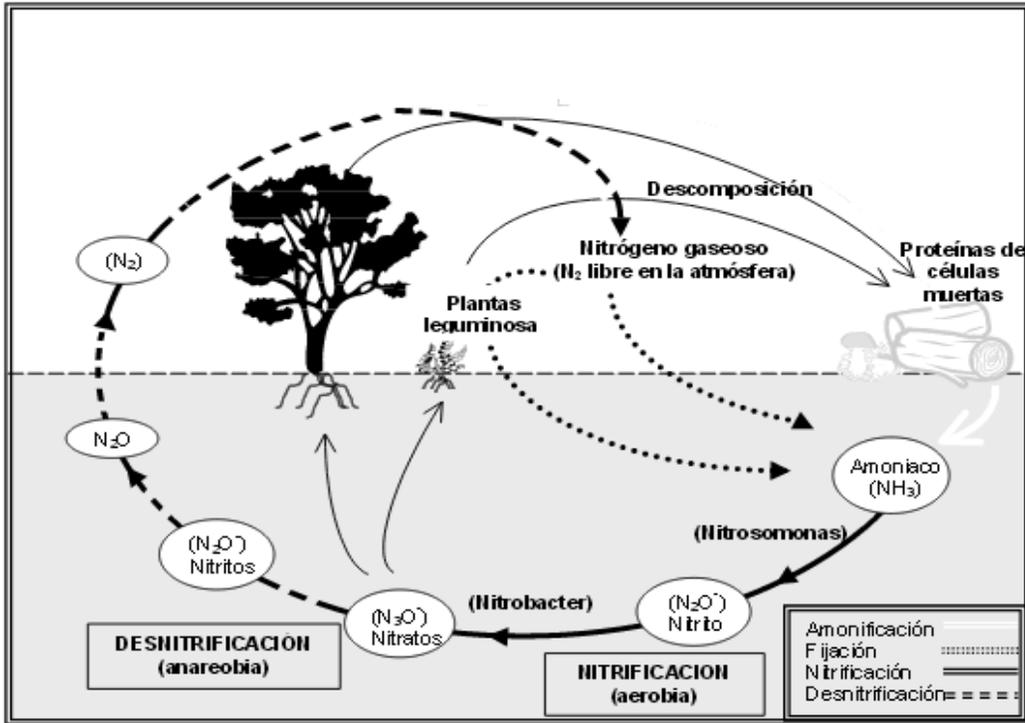


Figura 3. Ciclo del nitrógeno.

El nitrógeno atmosférico (N_2) se incorpora al suelo al combinarse con el hidrógeno y forma amoníaco (NH_3); este proceso, denominado fijación del nitrógeno, lo realizan algunas bacterias (*Clostridium*, *Rhizobium*, *Acetobacter*) y ciertas algas cianofíceas (*Anabaena*, *Nostoc*). El proceso de nitrificación que llevan a cabo las bacterias nitrosomonas y nitrobacter transforman el NH_3 en NO_2^- (ion nitrito) y éste en NO_3^- (ion nitrato), respectivamente. El ion nitrito constituye la fuente de nitrógeno para las plantas superiores, las cuales lo incorporan disuelto en agua a través de las raíces.

Los animales obtienen el nitrógeno necesario a partir de las proteínas que hay en los alimentos. Los cadáveres y productos resultantes de la excreción dan lugar a amoníaco (amonificación) por la acción de algunas bacterias y hongos. El

amoníaco es transformado primero en nitritos y después en nitratos. El proceso de desnitrificación que llevan a cabo algunas bacterias consiste en transformar los nitratos en nitritos, y éstos en nitrógeno atmosférico, que vuelve a la atmósfera.

3.2.1.3 Reseña toxicológica

Los nitratos son considerados como no tóxicos; se ha comprobado por medio de estudios en animales de laboratorio que se pueden ingerir crónicamente altas dosis de nitratos sin sufrir daños importantes. El único síntoma característico es su propiedad diurética. El modo de acción diurético es de tipo osmótico en donde el ion nitrato desplaza una importante fracción del ion cloruro y provoca paralelamente una importante pérdida de sodio, y por lo tanto de agua; los cationes (K^+ y Na^+) participan también en esta acción diurética, provocando también una excreción mayor de sodio y agua.

Sólo en dos condiciones podemos tener una intoxicación por nitratos; en primer lugar si se tiene una ingestión realmente masiva de estos compuestos y si los nitratos se transforman a nitritos por la microflora digestiva.

Ingerimos esencialmente nitratos y cantidades traza de nitritos, en una alimentación equilibrada, su ingestión en forma de aditivos alimentarios es relativamente puntual como en embutidos, conservadores, etc. La ingestión potencial principal de nitratos es debida, principalmente, a las verduras, más que al agua potable (Derache, 1990).

El nitrato es totalmente reducido por microorganismos y absorbido como nitrito. La dosis letal de $N-NO_3$ para humanos es de cerca de 20 mg/Kg, una quinta parte de la dosis letal es la cantidad máxima recomendada diaria que puede ser tolerada sin causar síntomas tóxicos (OMS, 2006).

Por otro lado el principal riesgo para la salud del nitrito y el nitrato es la metahemoglobinemia, también llamada «síndrome del recién nacido cianótico». El

nitrato se reduce a nitrito en el estómago de los lactantes, y el nitrito puede oxidar la hemoglobina a metahemoglobina, que no puede transportar oxígeno por el organismo. La disminución del transporte de oxígeno se manifiesta clínicamente cuando la concentración de metahemoglobina alcanza o supera el 10% de la concentración normal de hemoglobina; esta enfermedad, denominada metahemoglobinemia, produce cianosis y, en concentraciones más altas, asfixia. La proporción normal de metahemoglobina en lactantes menores de 3 meses es menos del 3%.

La hemoglobina de los lactantes menores tiene mayor tendencia a transformarse en metahemoglobina que la de los niños de más edad y los adultos; se cree que esto se debe a la gran proporción de hemoglobina fetal, que se oxida con más facilidad a metahemoglobina, que todavía contiene la sangre de los lactantes. Además, los lactantes tienen un déficit de metahemoglobina-reductasa, la enzima que se encarga de reducir la metahemoglobina a hemoglobina. Además, las bacterias gástricas que reducen el nitrato a nitrito tienen mayor actividad en los lactantes, debido a su baja acidez gástrica. La concentración de nitrato en la leche materna es relativamente baja; sin embargo, alimentar a los lactantes menores con biberón supone un riesgo para su salud por la posibilidad de exposición al nitrato o el nitrito presentes en el agua de consumo y por la ingesta de agua, relativamente alta en relación con su peso corporal. La mayor reducción de nitrato a nitrito en los lactantes menores no está bien explicada, pero parece que las infecciones gastrointestinales potencian dicha transformación.

Los casos mortales de metahemoglobinemia son relativamente raros en el hombre, por tres razones; primero, la acidez gástrica limita la actividad reductora de la flora estomacal, lo que permite una importante absorción de los nitratos; por otro lado, los nitritos pueden oxidarse a nitratos, por ejemplo, por la acción de catalasa asociados a la xantina oxidasa; finalmente existen en el organismo tres sistemas enzimáticos de reducción que generan la hemoglobina a partir de la metahemoglobina, los tres se localizan en los eritrocitos y funcionan con cofactores reducidos de NAD o NADP (Derache, 1990).

Las pruebas, en su conjunto, no respaldan en absoluto la existencia de una asociación entre la exposición de los seres humanos al nitrito o el nitrato y el riesgo de cáncer.

En estudios sobre el nitrito realizados en ratas de laboratorio se ha descrito hipertrofia de la zona glomerular de la corteza suprarrenal. Aún no se ha determinado el mecanismo mediante el cual se produce este efecto ni si tiene lugar en otras especies. El JECFA calculó una IDA de 5 mg para el nitrito potásico por kg de peso corporal basándose en la DSEAO obtenida en estos estudios (OMS, 2006).

3.2.1.4 Antecedentes de la determinación del valor de referencia

Las Normas internacionales para el agua potable de la OMS de 1958 hicieron referencia a los nitratos, afirmando que la ingestión de agua que contenga más de 50-100 mg/L de nitratos (como ion nitrato) puede producir metahemoglobinemia en lactantes menores de un año. En las Normas internacionales de 1963 se redujo este valor a 45 mg/L (como ion nitrato), el cual se mantuvo en las Normas internacionales de 1971 donde se expresó por primera vez preocupación por la posible formación de nitrosaminas *in vivo*. Dado que las nitrosaminas constituyen un peligro potencial para la salud de las personas, las Normas de 1971 señalaron que podría llegar a ser necesario reducir la concentración de nitratos en el agua si se observa que esta fuente supone una contribución significativa al peligro que representan las nitrosaminas para la salud de las personas. En la primera edición de las *Guías para la calidad del agua potable*, publicada en 1984, se recomendó un valor de referencia basado en efectos sobre la salud para el nitrógeno en forma de nitrato de 10 mg/L. También se recomendó que el valor de referencia para el nitrito fuese proporcionalmente menor que el del nitrato, y se señaló que la concentración de nitrógeno en forma de nitrito debe ser considerablemente inferior a 1 mg/L cuando el agua de consumo está tratada correctamente. Las Guías de 1993 concluyeron que la gran cantidad de datos epidemiológicos disponibles respaldan el valor de referencia

establecido actualmente para el nitrógeno en forma de nitrato de 10 mg/L, pero señalaron que este valor no debe expresarse en función del nitrógeno en forma de nitrato sino en función del propio nitrato, que es la sustancia química que implica un riesgo para la salud. Por consiguiente, el valor de referencia para el nitrato es de 50 mg/L. Este valor de referencia para la metahemoglobinemia en lactantes, un efecto agudo, se confirmó en el apéndice a las Guías publicado en 1998. Las Guías de 1993 también concluyeron que debía proponerse un valor de referencia para el nitrito, aunque no se disponía de estudios adecuados sobre la metahemoglobinemia en animales. Por lo tanto, se propuso un valor de referencia provisional para el nitrito de 3 mg/L, aceptando que la potencia relativa del nitrito con respecto al nitrato en cuanto a la formación de metahemoglobina es de 10:1 (en molaridad). En el apéndice a las Guías, publicado en 1998, se concluyó que los datos que el JECFA había examinado sobre el nitrito en seres humanos respaldaban el valor de referencia provisional vigente de 3 mg/L, basado en la inducción de metahemoglobinemia en lactantes. Además, en el apéndice a las Guías se calculó un valor de referencia para el ion nitrato de 0,2 mg/L asociado a la exposición a largo plazo, a partir de la IDA que el JECFA calculó en 1995. No obstante, este valor de referencia se consideró provisional debido a la incertidumbre que existe en torno a la relevancia de los efectos adversos para la salud de las personas observados y la sensibilidad de los seres humanos en comparación con la de los animales. Dada la posibilidad de que el agua de consumo contenga tanto nitrito como nitrato, en las Guías de 1993 y 1998 se recomendó que la suma de los cocientes entre la concentración de cada uno y su valor de referencia no fuese mayor que 1 (OMS, 2006).

3.2.2 Cromo hexavalente

El cromo es un metal de transición que presenta varios estados de oxidación que van de +2 a +6, siendo los estados +4 y +5 poco frecuentes, mientras que los estados de oxidación +3 y +6 son los más comunes. Los compuestos crómicos trivalentes son los más estables y tienen una fuerte

tendencia a formar complejos y quelatos, las formas hexavalentes están siempre ligadas a oxígeno, por lo que son fuertes oxidantes (Norseth, 1981).

Se trata de un elemento que se encuentra extensamente distribuido en la corteza terrestre, principalmente, en los alimentos tales como: carnes, cereales, leche, huevos y verduras. Debido a que la cantidad de este mineral es muy baja en los alimentos, es muy raro tener altos niveles de cromo, razón que justifica su ingestión como suplemento.

El cromo (III) es un micronutriente esencial para los humanos ya que juega un papel importante en el metabolismo de proteínas, azúcares y grasas. Impide la formación de coágulos en la sangre y es también una pieza clave para prevenir los ataques al corazón. Se ha comprobado que las personas que fallecen de enfermedades cardíacas, tienen menos cantidad de cromo en el organismo que la mayoría. Asimismo, es un mineral importante para mantener el correcto desarrollo de nuestra dentadura, además regula los niveles de colesterol.

Por otra parte, el cromo (VI) es nocivo para la salud de los humanos, mayoritariamente para la gente que trabaja en la industria del acero y textil. La gente que fuma tabaco también puede tener un alto grado de exposición al cromo. Este elemento cuando es un compuesto en los productos de la piel, puede causar reacciones alérgicas, como erupciones cutáneas y si se inhala puede causar irritación y sangrado de la nariz.

3.2.2.1 Efectos ambientales del cromo

Usualmente los niveles de cromo en aire y agua son bajos, sin embargo, existen ejemplos de contaminación del agua, en algunos casos muy serios, cuando efluentes que contienen compuestos de cromo se han evacuado en los ríos. Puede estar en forma trivalente o hexavalente, ya sea como sal soluble o como partículas insolubles, y muchas veces como complejos químicos.

El cromo entra en el aire, agua y suelo en forma de cromo (III) y cromo (VI) a través de procesos naturales y actividades humanas (ver figura 4). Las mayores actividades humanas que incrementan las concentraciones de cromo (VI) son: el acero, colorantes, cerámicas, industrias textiles, pintura y eléctrica; debido a sus propiedades ácidas y oxidantes. A través de la combustión del carbón el cromo será también emitido al agua y eventualmente se disolverá.

De manera general, las poblaciones nos encontramos expuestas al Cr(III) y Cr(VI) mediante la ingestión de alimentos, de agua o por la inhalación de aire. Se ha estimado que el consumo diario promedio del Cr(III) contenido en el aire, agua y alimentos sólidos es de alrededor de 0.2 a 0.4 μg , 2.0 μg , y 60 μg respectivamente, aunque para adultos se recomienda una ingesta diaria de 50-200 μg de Cr(III) (ATSDR,2000).

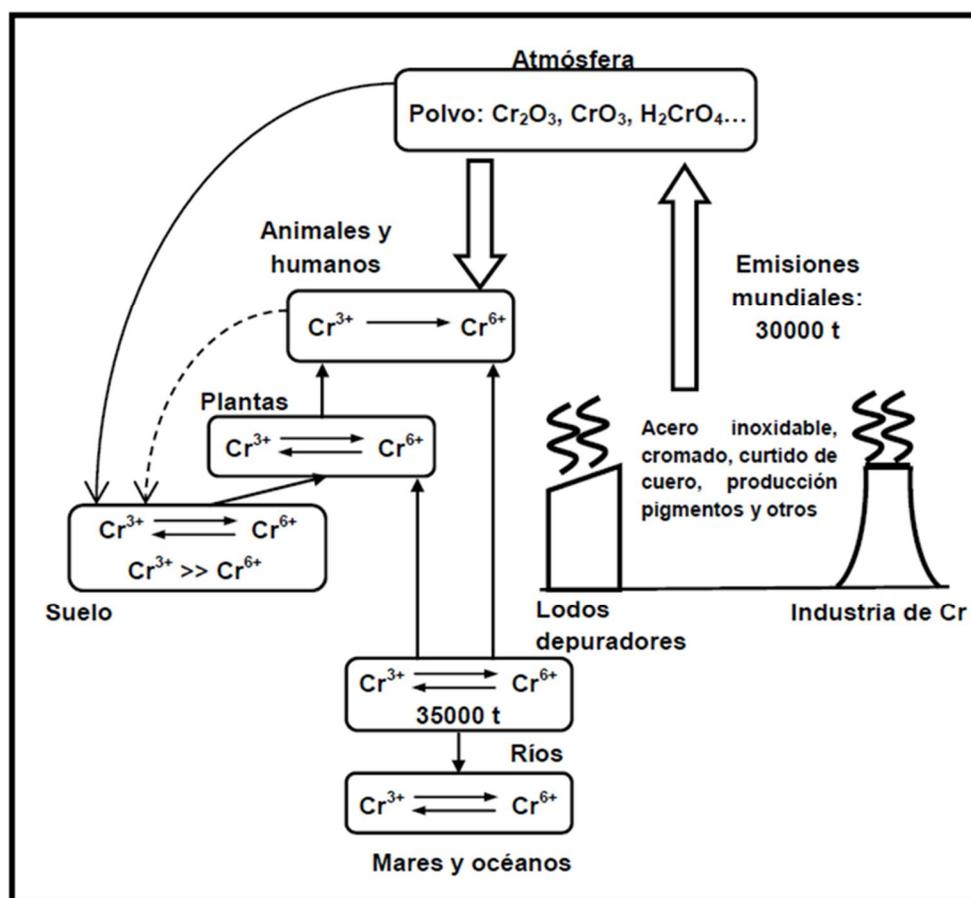


Figura 4. Circulación del Cr(III) y Cr(VI) en el medio ambiente contaminado (Ciésłak-Golonka, 1995 modificada).

No es conocido que el cromo se acumule en los peces, pero altas concentraciones de cromo, debido a la disponibilidad de metales en las aguas superficiales, pueden dañar las branquias de los peces que nadan cerca del punto de vertido. En animales, el cromo puede causar problemas respiratorios y una baja disponibilidad puede dar lugar a contraer enfermedades, defectos de nacimiento, infertilidad y formación de tumores.

Se establece una cantidad de 0.1 mg/L de cromo hexavalente en agua de riego ya que una cantidad mayor puede afectar a los cultivos por acumulación de sales en la zona de la raíz, pérdida de permeabilidad del suelo debido al exceso de sodio o lixiviado de calcio o por la presencia de patógenos o contaminantes que son directamente tóxicos para las plantas o los consumidores. Los contaminantes presentes en el agua de riego pueden acumularse en el suelo y después de un periodo pueden hacer que esté sea inapropiado para la agricultura.

3.2.2.2 Reseña toxicológica

Podemos estar expuestos al cromo al inhalarlo, comerlo, beberlo y/o a través del contacto con la piel.

Del total de cromo ingerido, sólo cerca del 2 al 3% es absorbido por el intestino (sistema gastrointestinal). Los jugos gástricos rápidamente reducen el Cr(VI) a Cr(III) en pequeñas cantidades. El proceso de reducción parece ser 100 % completado, de tal forma que el Cr(VI) no puede ser detectado en el sistema gastrointestinal o en la sangre después de su ingestión. Esta es la razón por la cual el Cr(VI) no es considerado como un peligro a la salud por ingestión (Shrivastava *et al.*, 2002).

Una vez realizado el proceso de reducción el Cr(VI) se absorbe completamente por las células rojas. Esto al parecer es debido a que es un anión tetraédrico, que imita a las sales de sulfato y fosfato, por lo que es introducido mediante transporte activo. Una vez dentro de la célula se reduce a Cr(III) en

presencia de agentes reductores como el ascorbato, el glutatión, el NADPH y NAD. El glutatión es el principal agente reductor que actúa en el citosol, otra porción considerable se reduce en la mitocondria donde el principal agente reductor es el NADH.

Se ha demostrado que el cromo (VI) atraviesa la membrana celular, dentro de ésta se reduce rápidamente por la interacción con moléculas citoplasmáticas a cromo (V), (IV) y (III) los cuales tienen una gran afinidad con las bases y fosfatos de la cadena de ADN, además de generar radicales libres, principalmente hidroxilo los cuales pueden inducir aductos en la cadena de ADN, así como entrecruzamientos e interacciones con proteínas (figura 5), aspectos que tienen efecto mutagénico y carcinogénico (O'Brien *et al.*, 2003; Valko *et al.*, 2006).

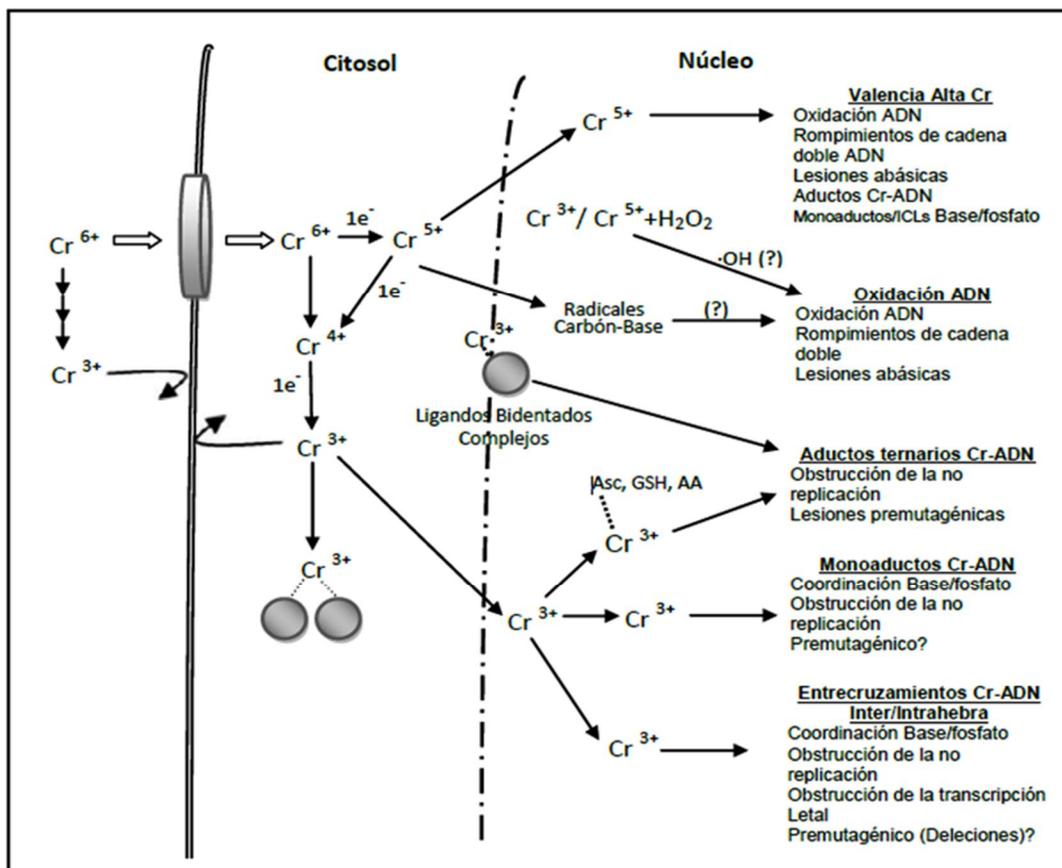


Figura 5. Principales rutas involucradas en las lesiones genéticas causadas por el Cr (O'Brien *et al.*, 2003 modificada).

Estudios de carcinogenia han demostrado que el cromo (VI) es cancerígeno sólo por inhalación. La EPA lo ha clasificado como un cancerígeno humano en el grupo A, teniendo una unidad de riesgo por inhalación de $0.012 \mu\text{g}/\text{m}^3$, equivalente a un factor de potencia de 42 mg/Kg de peso corporal por día; mientras que el CIIC ha clasificado en el Grupo 1 (cancerígeno para el ser humano).

El cromo hexavalente en concentraciones de 10 mg/kg de peso corporal produce casos de necrosis hepática, nefritis y muerte en el hombre; las dosis más bajas sólo causan irritación de la mucosa gastrointestinal.

3.2.2.3 Antecedentes de la determinación del valor de referencia

Las Normas internacionales para el agua potable de la OMS de 1958 recomendaron una concentración máxima admisible de cromo (VI) de 0,05 mg/L, basándose en los posibles efectos perjudiciales para la salud. Este valor se mantuvo en las Normas internacionales de 1963. El cromo no se evaluó en las Normas internacionales de 1971. En la primera edición de las Guías para la calidad del agua potable, publicada en 1984, se mantuvo el valor de referencia de 0,05 mg/L, y se especificó que se refería al cromo total debido a la dificultad de analizar únicamente la forma hexavalente. Las Guías de 1993 pusieron en duda el valor de referencia de 0,05 mg/L debido a la capacidad cancerígena del cromo hexavalente por inhalación y a su genotoxicidad, pero los datos toxicológicos disponibles no justificaban la determinación de un nuevo valor de referencia. Como medida práctica se mantuvo como valor de referencia provisional 0,05 mg/L —una concentración que se considera que es poco probable que implique riesgos significativos para la salud— hasta que se disponga de información nueva y el cromo pueda ser evaluado de nuevo (OMS, 2006).

3.2.3 Ortofosfatos

El fósforo es un elemento esencial para los organismos. Forma parte de los ácidos nucleicos (ADN y ARN); del ATP y de otras moléculas que tienen PO_4^{3-} y se encargan de almacenar la energía química; participa en el metabolismo, la fotosíntesis, la función nerviosa y la acción muscular. También se encuentra en los fosfolípidos que forman las membranas celulares; y en huesos y dientes de los animales como fosfato de calcio en aproximadamente el 1% de su masa corporal.

Por otro lado las plantas necesitan fosfatos para crecer y desarrollar su potencial genético, éstas absorben únicamente el fósforo que está en la disolución del suelo en forma de HPO_4^{2-} (ion fosfato monoácido) y como ion fosfato diácido. En general se encuentra en pequeñas cantidades que oscilan alrededor del 0,2%.

En experimentos con ratas y ratones no se han detectado efectos tóxicos con dosis de hasta varios gramos por kilo de animal.

3.2.3.1 Efectos ambientales

Generalmente se encuentran en aguas naturales y residuales como fosfatos (ortofosfatos, fosfatos condensados y compuestos organofosfatados). Estas formas de fosfatos provienen de una gran cantidad de fuentes, tales como: productos de limpieza, fertilizantes, procesos biológicos, etc. Este elemento es un nutriente esencial para el crecimiento de los organismos, por lo que la descarga de fosfatos en cuerpos de agua puede estimular el crecimiento de macro y micro organismos fotosintéticos en cantidades nocivas, fenómeno comúnmente conocido como eutrofización; es por ello que los criterios de calidad del agua para los compuestos del fósforo, tales como los ortofosfatos, se fijan a una concentración que previene el crecimiento excesivo de algas.

Habitualmente en jardinería se utiliza para la formulación de abonos minerales para inducir y fortalecer la floración.

3.2.3.2 Ciclo del fósforo

El fósforo es el único macronutriente que no se halla en la atmósfera, sino que únicamente en forma sólida en las rocas, al meteorizarse es captado por las raíces de las plantas y se incorpora a la cadena trófica de los consumidores, regresando al suelo por medio de su excremento o bien tras su muerte. Una parte del fósforo llega al mar transportada por corrientes de agua, allí se incorpora a la cadena trófica marina o se acumula y se pierde en los fondos marinos donde no puede ser aprovechado por los seres vivos, aunque el afloramiento de aguas profundas puede reincorporarlo a la cadena trófica. A partir del guano o excremento de aves pelecaniformes donde el fósforo puede ser reutilizado como abono iniciando un nuevo ciclo (figura 5).

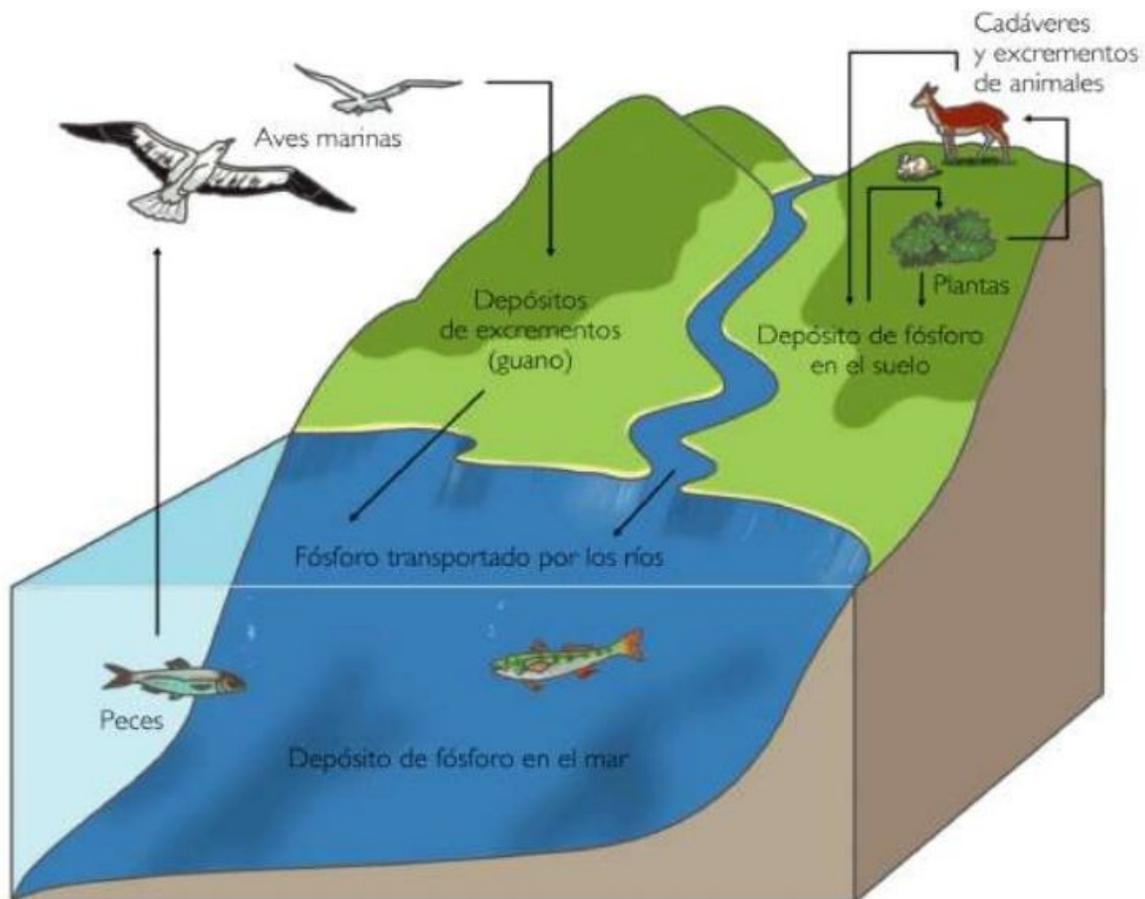


Figura 6. Ciclo del fósforo.

3.3 Métodos analíticos empleados para la determinación de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos

En la literatura se encuentran reportados varios métodos analíticos e instrumentales para cuantificar: nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos, en aguas naturales, residuales y residuales tratadas; en la siguiente tabla se resumen las condiciones de algunos de ellos.

Tabla 5. Métodos analíticos para cuantificar nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos

MÉTODOS	MÉTODO ESPECIFICO	NITRITOS	NITRATOS	CROMO (VI)	ORTOFOSFATOS
CLAR	-	LD 0.1 µg	LD 0.2 µg	-	-
Espectrofotométrico	Espectrofotometría visible NMX	0.05 - 1.0 mg/L	0.05 - 1.0 mg/L	0.1 – 1.0 mg/L	0.01 – 0.05 mg/L
	Análisis por inyección en flujo (ISO)	0.01-0.10 mg/L	0.2 – 2.0 mg/L	0.02-0.20 mg/L	0.01 – 0.10 mg/L
Cromatografía iónica	-	LD 3.7 µg/L	50-400 µg/L LD 2.7 µg/L	0.5-5000 µg/L	LD 14 µg/L
Enzimático	-	✓	✓	-	-
Potenciométrico	-	✓	0.14-1400 mg/L	-	-

3.3.1 Cromatografía Líquida de Alta Resolución (CLAR)

La cromatografía líquida de alta resolución es una técnica que permite separar, aislar e identificar componentes de una mezcla de compuestos químicos. La muestra es distribuida entre dos fases, una estacionaria y otra móvil, de tal manera que cada uno de los componentes de la mezcla es selectivamente retenido por la fase estacionaria.

Por medio de esta técnica se han hecho determinaciones simultaneas de nitratos y nitritos, mediante un intercambio aniónico usando columnas como Partisil SAX, y como fase móvil un buffer de acido fosfórico-ortofosfato potásico

0.03 M y un pH de 3.5 y con un detector de UV/VIS. En donde se han obtenido LD de 0.2 μg para nitratos y 0.1 μg para nitritos. La reproducibilidad del método, calculado como desviación estándar relativa en el intervalo óptimo es menor al 2% para nitratos y 5% para nitritos (Blanco, 1995).

Si se hace una comparación entre las diferencias que existen entre esta técnica con la técnica FIA, se puede observar que la principal diferencia es el fundamento de la técnica ya que en CLAR siempre hay una interface que logra la separación de una mezcla de sustancias que pasan por una columna; otra diferencia es la presión, en FIA la presión es baja mientras que en CLAR la bomba (generalmente de doble pistón) debe imprimir una presión alta para vencer la resistencia hidrodinámica de la columna cromatográfica rellena de un material finamente dividido para aumentar la eficacia del proceso. A pesar de que se han desarrollado métodos FIA usando componentes de CLAR, los sistemas FIA ordinarios son mucho más simples al no tener que estar diseñado para resistir altas presiones.

3.3.2 Método espectrofotométrico

La espectrofotometría UV-visible es una técnica analítica que permite determinar la concentración de un compuesto en solución. Se basa en que las moléculas absorben las radiaciones electromagnéticas y a su vez que la cantidad de luz absorbida depende de forma lineal de la concentración. Para hacer este tipo de medidas se emplea un espectrofotómetro, en el que se puede seleccionar la longitud de onda de la luz que pasa por una solución y medir la cantidad de luz absorbida por la misma. El método espectrofotométrico se rige por la ley de Lambert-Beer.

3.3.3 Cromatografía iónica

Es una variante de la cromatografía líquida de alta resolución. Se trata de un método eficaz para la separación y determinación de iones, basado en el uso

de resinas de intercambio iónico. Cuando una muestra iónica atraviesa estas columnas, los iones presentes sufren una separación debido a las diferentes retenciones que sufren al interactuar con la fase fija de las columnas analíticas. Una vez separada, la muestra pasa a través de un detector (conductimétrico, amperométrico o UV) donde se registra la señal obtenida respecto al tiempo de retención. El resultado son unos cromatogramas donde la posición de los máximos indica el ion presente (carácter cualitativo) y su área la cantidad existente de dicho ion (carácter cuantitativo).

3.3.4 Determinación por ensayos enzimáticos

Estos procedimientos resultan ser costosos y muy delicados ya que las enzimas que se usan en ellos necesitan de un cuidado especial. Además de necesitar condiciones especiales como temperatura, pH, etc. El principio de este método consiste en llevar a cabo una reducción de nitratos a nitritos a través de una enzima reductasa.

3.3.5 Potenciometría

Se han podido diseñar electrodos que responden de manera específica a ciertos analitos. El principio del proceso se basa en la generación de un potencial eléctrico cuando el electrodo de medida se pone en contacto con la muestra.

En su forma más simple se puede utilizar la celda galvánica constituida; de una parte por la disolución de la especie a la cual se determinara su actividad, en contacto con un metal que sirve para conducir las cargas que producirán el cambio en el estado de oxidación, constituyendo así lo que se denomina un electrodo indicador ya que es el que causará la señal correspondiente en el circuito eléctrico de medida comparando su respuesta con la de otro sistema redox que sirve como referencia.

Un electrodo de referencia está constituido por dos sustancias que contienen una misma especie química en dos estados de oxidación diferentes. La elección de ese par de sustancias se hace de tal manera que en la solución en la cual se produce la transferencia de cargas no se modifiquen las concentraciones de las mismas.

Una de las ventajas de la potenciometría frente a otros métodos de análisis es que es rápida aunque menos sensible.

3.3.6 Sistema de Análisis por Inyección en Flujo (FIA)

Los métodos de inyección en flujo en su forma actual, fueron descritos por primera vez a mediados de los años setenta por Ruzicka y Hansen en Dinamarca, y Stewart y colaboradores en Estados Unidos.

Estos métodos inicialmente se diseñaron para solucionar las necesidades de los laboratorios de análisis clínicos, los cuales tenían que analizar un gran número de muestras de forma rutinaria con fines diagnóstico, preventivo, o como control de la evolución de pacientes sometidos a algún tipo de tratamiento; son una consecuencia de los métodos de Análisis por Flujo Segmentado (SFA) que se empleaban en los laboratorios clínicos para los fines antes mencionados entre los años sesenta y setenta.

En las técnicas SFA las muestras eran transportadas a través del sistema hasta el detector por medio de un acarreador en donde había aire entre el lavado y la muestra; la misión de estas burbujas de aire era evitar la dispersión excesiva de la muestra y limpiar las paredes para evitar la contaminación entre muestras sucesivas. Sin embargo, hacia mediados de la década de los setenta, se observó que inyectando directamente en un sistema sin burbujas de aire, la mezcla de muestras y reactivos se realizaba de forma sencilla, se eliminaba casi por completo la dispersión excesiva, así como la contaminación mutua y se incrementa notablemente la velocidad de los análisis, logrando analizar hasta 300

muestras por hora. Por otra parte, los componentes de un sistema FIA son más sencillos y versátiles, lo cual es importante, al posibilitar las medidas automáticas para grupos de muestras relativamente pequeñas de tipo no rutinario.

Los sistemas FIA son una técnica microquímica que se utiliza para la automatización del análisis químico por vía húmeda. Hoy en día estos instrumentos se utilizan en diversas áreas como son: agrícola 9%, ambiental 35%, clínica 23%, industrial 13%, farmacéutica 7%, bioquímica 7% y alimentaria 6% (ver figura 7).

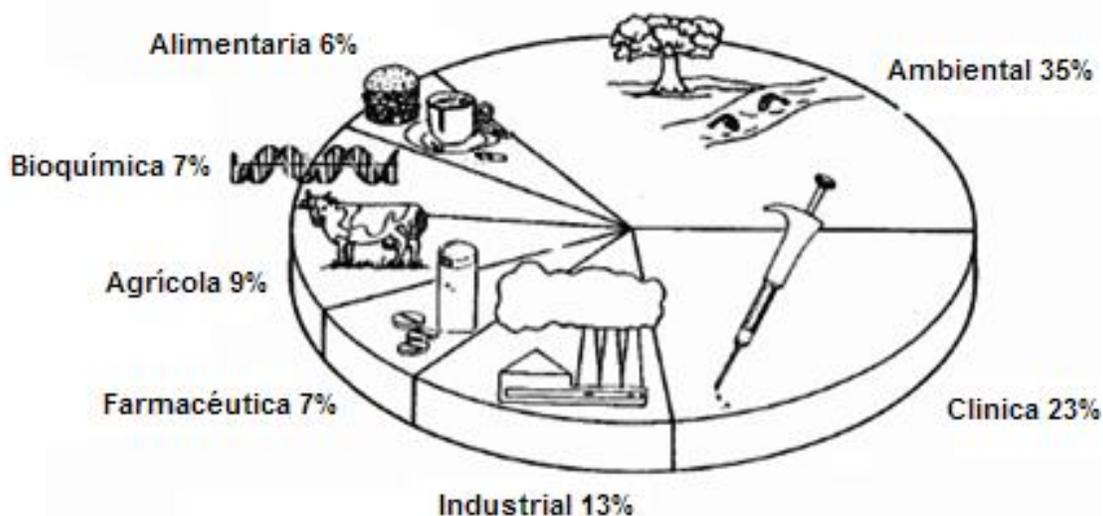


Figura 7. Porcentajes de uso del sistema FIA (Manual FIA, Perkin Elmer).

3.3.6.1 Ventajas de los sistemas FIA

Los instrumentos de este tipo cuentan con tres ventajas importantes como son:

Precisión

- La repetibilidad que ofrece la técnica FIA se basa en la dispersión controlada del volumen de muestra inyectado.

Rapidez

- Resultados en menos de un minuto (ahorro de tiempo).

Economía

- Alto caudal de muestras;
- Bajo consumo de reactivos;
- Adaptable para series limitadas de muestras.

3.3.6.2 Características esenciales del sistema FIA

Las características esenciales de sistema FIA son las siguientes:

- 1) El flujo es continuo.
- 2) Se inyecta la muestra directamente en el flujo.
- 3) Se realiza un transporte del bolo inyectado a través del sistema. Durante este transporte puede incluirse un proceso fisicoquímico adicional como: diálisis, extracción líquido-líquido, etc.
- 4) La dispersión o dilución parcial del analito se puede manipular mediante el control de las características geométricas e hidrodinámicas del sistema.
- 5) Un sistema de detección continuo proporciona una señal transitoria, la cual se registra para posterior análisis cualitativo y/o cuantitativo.
- 6) En el momento de la detección de la señal, no se ha alcanzado el equilibrio físico (que supondría la homogenización de una porción del flujo) ni el químico (reacción completa).
- 7) La técnica FIA es altamente repetible a pesar de que no se trabaja en condiciones de equilibrio. Esto se debe a que cada inyección de muestra en el

sistema recorre la misma distancia desde su inyección hasta su detección en el sistema sensor y la velocidad de flujo es constante.

3.3.6.3 Fundamentos del sistema FIA

Sus principios básicos son la inyección de un volumen de muestra, una dispersión controlada y un tiempo reproducible.

La dispersión o dilución de la zona de muestra es controlada por los componentes del sistema tales como: el volumen inyectado, el caudal, la longitud y el diámetro de los tubos.

El análisis por inyección en flujo se basa en la inyección de una muestra líquida dentro de un flujo continuo de una solución portadora. La muestra inyectada es transportada a través del sistema donde se puede o no llevar a cabo una reacción, hasta llegar al detector que registra continuamente la señal producida por la muestra, mientras pasa a través de una celda de flujo.

Por tratarse de un sistema de flujo continuo, cada inyección genera una señal transitoria en un gráfico de absorbancia contra tiempo, conocido como fiagrama. La señal observada por el detector durante el paso de la muestra dispersada tiene la forma de un pico. Las características de un fiagrama se representan en la figura 8:

- a) La altura del pico (h), se relaciona con la concentración del analito.
- b) El tiempo de residencia (T), está definido como el tiempo transcurrido desde la inyección hasta que se alcanza una señal máxima.
- c) El tiempo de aparición o arranque (t_a) es el tiempo que pasa desde la inyección hasta que inicia la señal (aumento de 1-2% de la línea base). La diferencia entre ambos tiempos es $t' = T - t_a$, que normalmente es muy pequeña.

d) El tiempo de retorno (T), es el tiempo comprendido entre el momento que se alcanza la señal máxima hasta que regresa a la línea base.

f) El ancho del pico o tiempo durante el que aparece la señal (Δt), se define como el intervalo de tiempo desde que la señal empieza a salir y hasta que regresa a la línea base. El ancho del pico es una medida de la dispersión del analito.

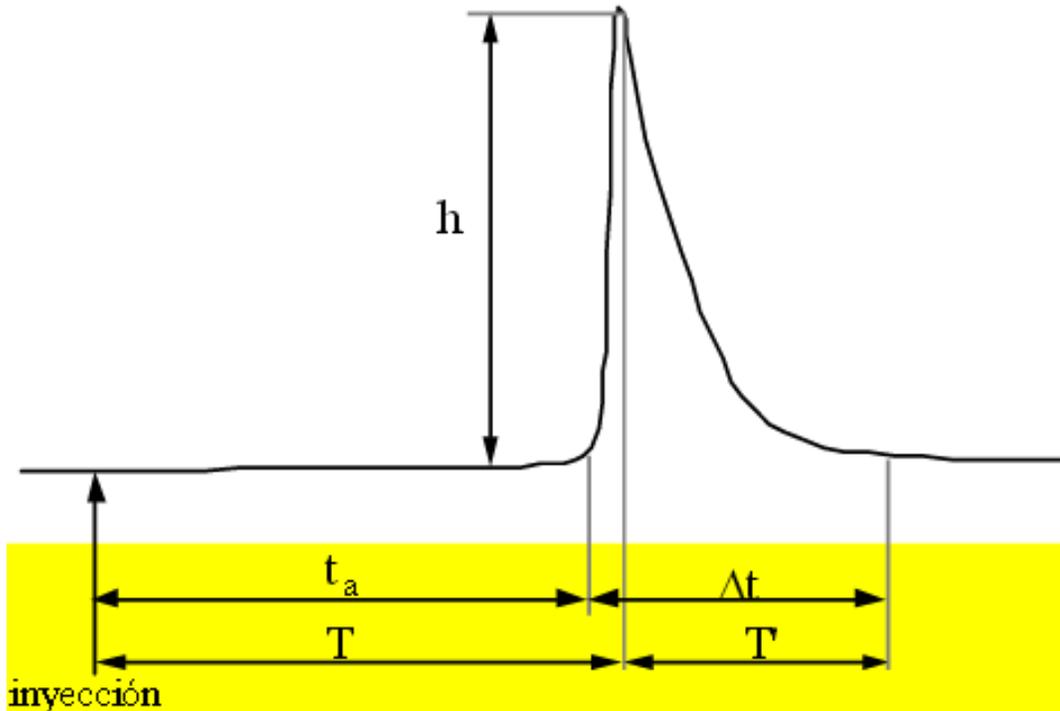


Figura 8. Características del fiagrama.

3.3.6.4 Proceso químico del sistema FIA

Como se mencionó anteriormente el proceso consiste en inyectar una muestra líquida dentro de un portador continuo; la muestra inyectada forma una zona (o bolo) que es transportada hacia el detector que registra continuamente los cambios.

Los sistemas que intervienen en el proceso químico son (ver figura 9):

- a) Unidad de propulsión
- b) Sistema de inyección
- c) Zona de reacción
- d) Sistema de detección

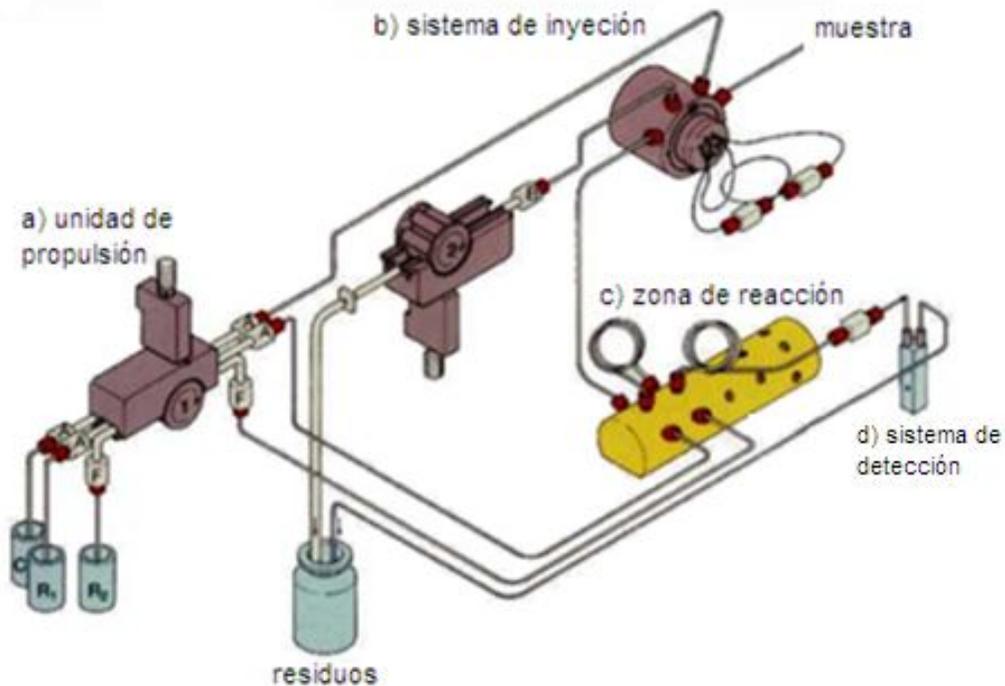


Figura 9. Esquema general de un sistema FIA (Manual FIA, Perkin Elmer).

En los sistemas FIA se bombean ininterrumpidamente la o las soluciones transportadoras (acarreadores) y las disoluciones reactivas a través de tubos y serpentines mezcladores (manifold), en donde puede o no ocurrir una reacción química, la cual entra a la celda de flujo del detector que mide el cambio de absorbancia resultante. Todo el proceso, desde la inyección hasta la detección, se realiza en menos de un minuto.

Cuando la zona de muestra dispersada llega a la celda de flujo del detector ni la reacción química ni el proceso de dispersión deben haberse completado o llegado a un estado estable, por lo tanto, en este tipo de sistemas no se llega al

equilibrio físico ni químico, sin embargo, al mantener las condiciones idénticas tanto para muestras como para estándares es por ello que se consiguen procesos precisos y reproducibles.

3.4 Parámetros de validación de los métodos analíticos

De acuerdo a las Buenas Prácticas de Fabricación como de Laboratorio, es necesario que todos los métodos analíticos empleados para evaluar la calidad del agua estén validados.

La validación se define como el proceso por el cual se demuestra mediante evidencia experimental documentada que un procedimiento cumple con el propósito para el que fue diseñado y debe ser evaluado como mínimo en los siguientes parámetros que se describen a continuación:

3.4.1 Límite de detección (LD)

Es la menor concentración del analito en una muestra que puede detectarse, pero no necesariamente cuantificarse bajo las condiciones establecidas de la prueba (CENAM, 2005).

3.4.2 Límite de cuantificación (LC)

Es la menor concentración de un analito que puede determinarse con una precisión (repetibilidad) y una exactitud aceptables bajo las condiciones establecidas de la prueba (CENAM, 2005).

3.4.3 Intervalo de trabajo

Conjunto de valores del mensurando para los cuales se pretende que el error de un instrumento de medición caiga dentro de límites especificados (CENAM, 2005).

3.4.4 Intervalo lineal

Intervalo de concentraciones del analito dentro del cual los resultados de prueba obtenidos por el método son proporcionales a la concentración del analito (CENAM, 2005).

3.4.4.1 Coeficiente de correlación

Es un índice que mide la relación lineal entre dos variables aleatorias cuantitativas.

3.4.4.2 Prueba t

Prueba de significancia de la regresión; es una de las pruebas de hipótesis utilizadas para medir la bondad de ajuste del modelo. Esta prueba determina si existe una relación lineal entre la variable respuesta y y alguna de las variables regresoras x_1, x_2, \dots, x_n .

3.4.4.3 Análisis de residuales

Un residual r_i es la diferencia entre el valor observado y_i y el valor estimado por la línea de regresión \hat{y}_i , es decir, $r_i = y_i - \hat{y}_i$. El residual puede ser considerado como el error aleatorio observado.

El análisis de residuales permite comparar si las suposiciones del modelo de regresión se cumplen y permite detectar los siguientes puntos:

- a) Si efectivamente la relación entre las variables x e y es lineal;
- b) Si hay normalidad en los errores;
- c) Si hay valores anormales en la distribución de errores;
- d) Si hay varianza constante (propiedad de homocedasticidad);
- e) Si hay independencia entre los errores.

3.4.4.4 Análisis de la varianza (ANOVA)

Es una técnica estadística de contraste de hipótesis que se utiliza para separar y estimar las diferentes causas de variación (Miller & Miller, 2002).

3.4.5 Linealidad

Es la habilidad del método para obtener resultados de prueba proporcionales a la concentración del analito (CENAM, 2005).

3.4.6 Sensibilidad

Es la pendiente de la recta de calibración, es decir, el cambio en la respuesta del instrumento que corresponde a un cambio en la concentración del analito (Miller & Miller, 2002).

3.4.7 Exactitud

Es la proximidad de concordancia entre el resultado de una medición y el valor de referencia aceptado (CENAM, 2005). La validación de un método busca cuantificar la exactitud probable de los resultados evaluando tanto los efectos sistemáticos como aleatorios sobre los resultados. Normalmente la exactitud se estudia en dos componentes: veracidad y precisión.

3.4.7.1 Veracidad

Es una expresión de que tan cercana se encuentra la media de un conjunto de resultados (producidos por el método) respecto del valor real. Normalmente la veracidad se expresa en términos de sesgo (CENAM, 2005).

3.4.7.2 Precisión

Es una medida de que tan cercanos están los resultados unos con respecto a los otros y por lo general se expresa mediante medidas tal como la desviación estándar, la cual describe la dispersión de los resultados. Las medidas de precisión más comunes son la repetibilidad y la reproducibilidad (Eurachem, 1998).

3.4.7.2.1 Repetibilidad

Precisión de un método analítico que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio, se basa en usar el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, usando el mismo equipo, por el mismo operador y dentro de intervalos de tiempo cortos (CENAM, 2005).

3.4.7.2.2 Reproducibilidad

Precisión bajo condiciones según las cuales los resultados de prueba se obtienen con el mismo método, sobre objetos de prueba idénticos, en diferentes laboratorios, por diferentes operadores y empleando diferentes equipos (CENAM, 2005).

3.4.8 Recuperación

Es una medida de la eficacia del proceso de aislamiento del analito de interés de la matriz en la que se encuentra presente (CENAM, 2005).

4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

En primer lugar se realizó una búsqueda de los métodos FIA para la cuantificación de los analitos de interés en diversos compendios de métodos estandarizados internacionalmente; los cuales se enlistan a continuación.

Tabla 6. Métodos internacionales estandarizados que emplean FIA para la cuantificación de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos

MÉTODOS	NITRITOS	NITRATOS	CROMO (VI)	ORTOFOSFATOS
EPA	Método 353.2 :1993 Determinación de nitrógeno de nitratos-nitritos por colorimetría automática.	Método 353.2:1993 Determinación de nitrógeno de nitratos-nitritos por colorimetría automática.	-	Método 365.1:1993 Determinación de fósforo por colorimetría semiautomática.
SM [Rice, et al., 2012]	4500-NO ₂ ⁻ Método colorimétrico para la determinación de nitrógeno de nitrito.	4500-NO ₃ ⁻ F Método automatizado de reducción por cadmio. 4500-NO ₃ ⁻ I. Método por inyección en flujo de reducción por cadmio.	-	4500-P G. Análisis de ortofosfato por inyección en flujo. 4500-P H. Digestión manual y análisis por inyección en flujo para fósforo total. 4500-P I. Digestión en línea con persulfato/ UV y análisis por inyección en flujo para fósforo total.
ISO	ISO 13395:1996 Determinación de nitritos, nitratos y la suma de ambos por análisis en flujo (CFA y FIA) y detección espectrofotométrica.	ISO 13395:1996 Determinación de nitritos, nitratos y la suma de ambos por análisis en flujo (CFA y FIA) y detección espectrofotométrica.	ISO 23913:2006 Determinación de cromo VI: Método usando análisis en flujo (FIA y CFA) y detección espectrofotométrica.	ISO 15681-1:2003 Determinación de ortofosfato y fósforo total por análisis en flujo (FIA y CFA). Parte 1: método de análisis por inyección en flujo (FIA).

MÉTODOS	NITRITOS	NITRATOS	CROMO (VI)	ORTOFOSFATOS
AMM [Sheldrick, 1984]	<p>Método 01-1182. Análisis de nitrógeno de nitritos en aguas de precipitación, superficiales y subterráneas por TRAACS 800, método de colorimetría automatizada.</p> <p>Método 01-1181. Análisis de Nitratos y Nitritos en aguas de precipitación, superficiales y subterráneas, por TRAACS 800 Procedimiento colorimétrico automatizado de reducción al cadmio.</p>	<p>Método 01-1181. Análisis de Nitratos y Nitritos en aguas de precipitación, superficiales y subterráneas, por TRAACS 800 Procedimiento colorimétrico automatizado de reducción al cadmio</p>	-	<p>Método 01-1200. Análisis de fósforo como ortofosfatos en aguas de precipitación, superficiales y subterráneas por colorimetría automática usando cloruro estanoso.</p>

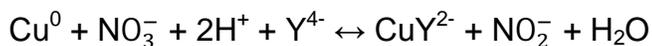
Por ser un lineamiento del Gobierno Federal y corroborara su vigencia y validez técnica, se seleccionan los métodos ISO como métodos de referencia, además de que se cuenta con todo el material señalado.

4.1 Fundamento de las reacciones

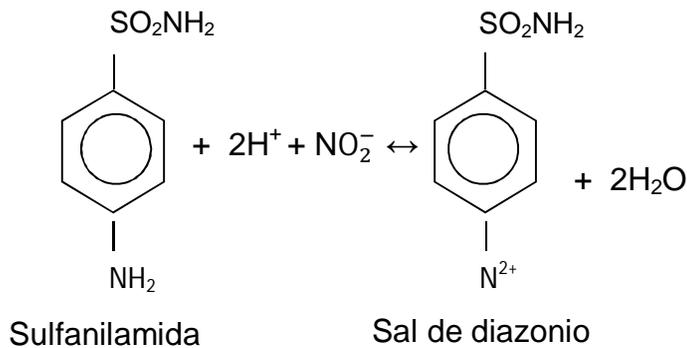
4.1.1 Nitratos y Nitritos

El ion nitrato (NO_3^-) se reduce cuantitativamente a nitritos (NO_2^-) a través de una columna de vidrio empacada con cadmio cuperizado. El nitrito producido entonces se determina por diazotización de sulfanilamida acoplada con N-(1-naftil)etilendiamina diclorhidrato para formar un compuesto azo altamente colorido que se mide espectrofotométricamente a 540 nm. Para la determinación de nitritos no se emplea la columna de cadmio cuperizado. Las reacciones se deben llevar a cabo a un pH mayor a 2,0.

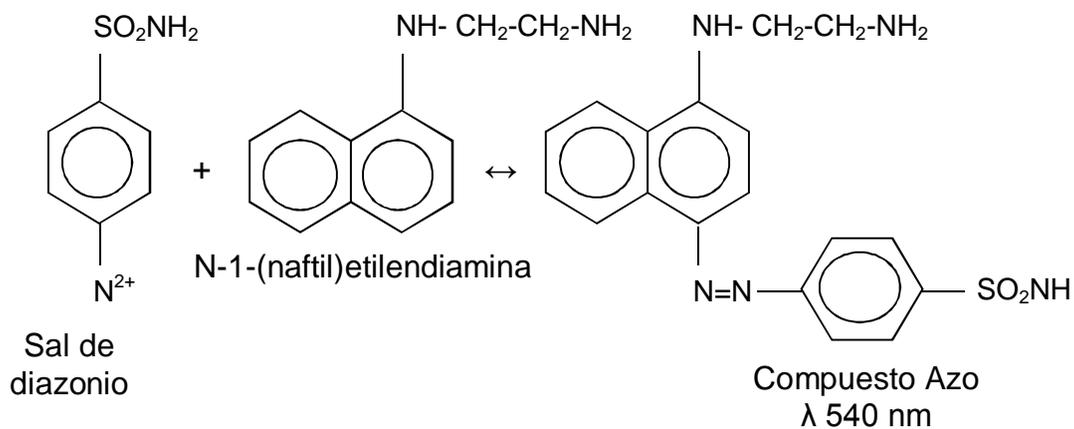
Reacción de reducción de nitratos (NO_3^-):



Formación de la sal de diazonio:

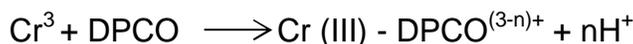
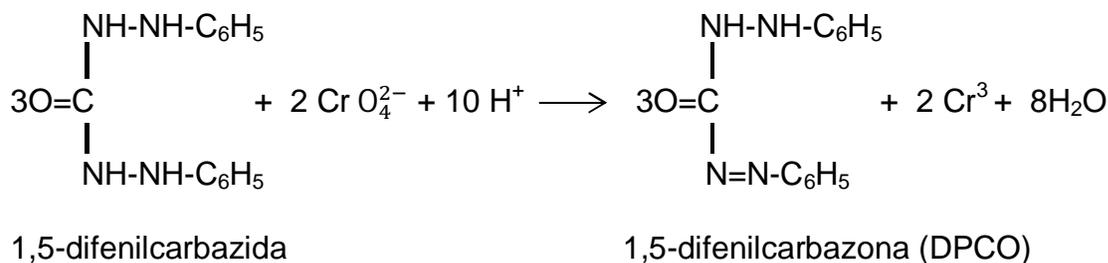


Formación del compuesto azoico:



4.1.2 Cromo hexavalente

El principio del método colorimétrico se basa en una reacción redox donde el cromo hexavalente oxida en medio ácido la 1,5-difenilcarbazida (DPC) a 1,5-difenilcarbazona reduciéndose a su vez a cromo trivalente. Estos iones de cromo (III) se combinan con la 1,5-difenilcarbazona formando un complejo de color rojo-violeta que se determina colorimétricamente a una longitud de onda de 540 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de cromo hexavalente.



Donde: $n=n^\circ$ desconocido de protones que intervienen en la reacción.

4.1.3 Ortofosfatos

Este método se basa en la reacción del fósforo contenido en la muestra como ortofosfato con el ácido molíbdico para formar el ácido 12-molibdofosfórico según la siguiente reacción:



El ácido 12-molibdofosfórico es reducido por el cloruro de estaño a azul de molibdeno, compuesto de composición desconocida que contiene una mezcla de Mo(VI) y Mo(V), que absorbe a 700 nm. La intensidad del color azul formado depende de la concentración de fosfatos adicionados al heteropoliácido.

4.2 Metodología

Se siguió la metodología establecida en la ISO 15681-1 para la medición de ortofosfatos, para cromo hexavalente la ISO 23913:2006 y para nitritos y nitratos la ISO 13395:1996 (ver anexo 2), pero en general los métodos consisten en los siguientes pasos:

1. Preparar las disoluciones requeridas.
2. Montar el manifold, loops y tubos correspondientes.
3. Optimizar el método ajustando:
 - Velocidades de flujo de las disoluciones reactivo y acarreadores
 - Tiempos de reacción
 - Tiempo de inyección
 - Volumen de inyección
 - Diámetro interno de los tubos capilares
 - Selección de la celda de flujo
4. Establecer los parámetros de análisis para automatizar el método.
5. Preparar la curva de calibración, controles y muestras.
6. Colocar en el automuestreador los blancos, estándares, controles y muestras.
7. Correr el método analítico con las disoluciones reactivo y acarreadores durante 10 minutos para enjuagar el sistema.
8. Ajustar a cero la línea base con un blanco de agua destilada.
9. Correr el método analítico, leyendo primero un blanco reactivo.
10. Analizar los resultados.
11. Reportar los resultados.

4.3 Materiales

- Material de vidrio lavado con detergente libre de fosfatos.
- Pipetas y matraces volumétricos clase "A" verificada su calibración.
- Filtros de microfibra de vidrio, Whatman.
- Tubos de centrifuga de 50 mL, Corning.

- Tubos de centrifuga de 15 mL, Sarstedt.
- Tiras indicadoras de pH.

4.4 Equipos

Sólo se mencionan los equipos y materiales que son relevantes para los métodos analíticos FIA.

- Equipo de Análisis por Inyección en Flujo Perkin Elmer que consta de las siguientes partes:
 - Automuestreador AS90.
 - Espectrofotómetro UV/VIS Lambda 35 (190 - 1100nm).
 - Sistema de inyección en flujo FIAS 300 que incluye:
 - Dos bombas peristálticas para tres almacenes de dos canales y un almacén de un canal cada una.
 - Válvula de inyección de flujo de cinco puertos.
- Celdas de cuarzo de 1 cm, Perkin Elmer.
- Celdas de flujo de 1 y 5 cm, Perkin Elmer.
- Manifold, Perkin Elmer.
- Baño ultrasónico, Branson 5200.
- Bomba de vacío, Emerson.
- Balanza analítica digital con resolución 0.0001g, OHAUS. Verificada su calibración.
- Equipo de agua destilada Elix, Merck Millipore.
- Potenciómetro digital, ORION, modelo 720A. Verificada su calibración.
- Desecador, Pyrex.
- Cronometro, Tomas Scientific.
- Horno, Felisa.

4.5 Reactivos

4.5.1 Reactivos para nitratos-nitritos

- Agua destilada grado reactivo analítico tipo II
- Ácido clorhídrico, J.T. Baker, lote B29C01, pureza 36.7%
- Ácido fosfórico, High Purity, lote 06J0887, pureza 85.0%
- Cadmio granular, Fluka Analytical, lote 1379619, malla: 0.3-1.6 mm
- Cloruro de amonio, CTR Scientific, lote 56GP10-0307, pureza 99.6%
- N-(1-naftil) etilendiamina diclorhidrato, Merck, lote K17568837, pureza 95%
- Sulfanilamida, Spectrum, lote MJ0342
- Sulfato de cobre, PQF, lote 7041-R, pureza 98.0 - 102.0%
- Disolución madre de nitritos: Nitrito de sodio, Fermont, lote 040502, pureza 99.75%
- Disolución control de nitritos: Nitrito de sodio, Spectrum, lote NB0361, pureza 97.0%
- Disolución madre de nitratos: Nitrato de potasio, Baker Analyzed, lote M-31699, pureza 99.79%
- Disolución control de nitratos: Nitrato de potasio, Fisher Scientific, lote 976896, pureza 100.006%

4.5.2 Reactivos para cromo hexavalente

- Agua destilada grado reactivo analítico tipo II
- Ácido sulfúrico, J.T. Baker, lote M37C09, pureza 97.7%
- Ácido fosfórico, High Purity, lote 06J0887, pureza 85.0%
- Acetona, Honeywell, DC093, 99.97%
- Alcohol isopropílico, Tecsiquim, lote TEC-314-AL5-R, 99.5%
- 1,5-difenilcarbazida, Riedel-de-Haen, lote 70680, pureza 98.0%
- Disolución madre: Dicromato de potasio, Merck, lote 106343, pureza 99.5%
- Disolución control: Dicromato de potasio, lote, pureza %

4.5.3 Reactivos para ortofosfatos

- Agua destilada grado reactivo analítico tipo II
- Ácido sulfúrico, J.T. Baker, lote M37C09, pureza 97.7%
- Cloruro estanoso, Baker Analyzed, lote H25456, pureza 102.2%
- Sulfato de hidracina, Merck, lote 803B882303, pureza 99.0%
- Heptamolibdato de amonio tetrahidratado, Mllinckrodt, lote 3420P19D53, pureza 81.4%
- Disolución madre: Fosfato de potasio monobásico, Baker Analyzed, lote M-31357, pureza 100.27%
- Disolución control: Fosfato de potasio monobásico, Mllinckrodt, lote 7100MVAP, pureza 99.0%

4.6 Condiciones óptimas de análisis

Tabla 7. Condiciones óptimas de análisis

PARÁMETROS	NITRITOS	NITRATOS	CROMO (VI)	ORTOFOSFATOS
Intervalo de trabajo (mg/L)	0.01 - 0.10	0.2 - 2.0	0.02 - 0.20	0.01 - 0.10
Vol. de inyección (µL)	300	100	200	300
Longitud de la celda (cm)	1	1	1	5
Longitud de onda (nm)	540	540	540	700

4.7 Descripción de la evaluación de los parámetros de validación de los métodos analíticos

Para evaluar los parámetros de validación indicados en la EURACHEM se siguió la estadística descrita en el libro *Estadística y Quimiometría para Química Analítica* de Miller y Miller.

4.7.1 Límite de detección (LD)

La EURACHEM plantea analizar: a) 10 blancos de muestra independientes medidos sólo una vez cada uno o b) 10 blancos de muestra independientes fortificados a la menor concentración aceptable, medidos también sólo una vez cada uno. En ambos casos se calcula la desviación estándar “s” de los blancos y se expresa el LD como la concentración del analito correspondiente a: a) el valor promedio de los blancos de muestra + 3s o b) 0 + 3s; sin embargo, las determinaciones múltiples del blanco consumen mucho tiempo y mayor cantidad de reactivos, por lo que Miller y Miller establecen el límite de detección como la concentración de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco, y_B , más tres veces la desviación estándar del blanco, S_B , ($LD = y_B + 3S_B$); donde $y_B = a$ y $S_B = S_{y/x}$.

Entonces el límite de detección aplicando la ecuación de regresión, quedará de la siguiente forma (ver anexo 1):

$$LD = \frac{3 S_{y/x}}{b}$$

4.7.2 Límite de cuantificación (LC)

La EURACHEM establece analizar 10 blancos de muestra independientes medidos una vez cada uno y expresar el LC como la concentración del analito correspondiente a los valores del blanco de muestra más 5, 6 ó 10 desviaciones estándar de la media del blanco, pero como esto requiere de mayor tiempo y costos, el LC se evalúa al igual que el LD a partir de la ecuación de la recta de la

curva de calibración obtenida mediante el método de mínimos cuadrados descrito en el libro de *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*; sólo que el LC queda definido como la ordenada en el origen más diez veces la $S_{y/x}$, aplicando la ecuación de regresión, obtenemos que:

$$LC = \frac{10 S_{y/x}}{b}$$

4.7.3 Intervalo de trabajo

Debido a que los métodos analíticos FIA que fueron implementados en el LNR provienen de diferentes ISO las cuales ya cuentan con un intervalo de trabajo que fue arduamente evaluado, lo que se hizo fue preparar cinco estándares a diferentes concentraciones que cubrían todo el intervalo de trabajo propuesto y se verificó si se trataba de un intervalo lineal. En donde el extremo inferior queda limitado por el LC y el extremo superior por los efectos que dependen del sistema de respuesta del instrumento.

4.7.4 Intervalo lineal

Para evaluar el intervalo lineal se realizaron tres pruebas:

a) Coeficiente de correlación

Se evaluó el coeficiente de correlación, también llamado coeficiente de correlación momento-producto, r , el cual se calcula a través de la ecuación 1 (ver anexo 1). Para evaluar si el coeficiente de correlación es realmente significativo se aplica la prueba t o contraste t ; para ello se calculará el valor de t mediante la ecuación 21 (ver anexo 1), y éste se comparará con el valor de t tabulado, utilizando un contraste t de *dos colas* y $(n-2)$ grados de libertad.

La hipótesis nula será que no existe correlación entre x e y . Si el valor calculado de t es mayor que el valor tabulado, se rechaza la hipótesis nula y se concluirá en que sí existe una correlación significativa.

b) Gráfico de residuales

El gráfico de residuales se obtuvo a través de Excel, en donde se capturaron los valores obtenidos de tres curvas de calibración. En dichos gráficos se esperaría que, si se utilizase el modelo correcto de calibración, los residuos permanecerían aproximadamente uniformes en el tamaño a medida que crece la variable x . Una distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirma la linealidad del método. Si se presentan tendencias sistemáticas (tendencia a subir o bajar, o zigzagueante al aumentar o disminuir x), será un indicativo de no-linealidad.

c) Análisis de la varianza (ANOVA)

El análisis de varianza se realizó mediante Excel. Para ello se capturaron las tres curvas de calibración de cada método.

4.7.5 Sensibilidad

Se expresa como la pendiente de la ecuación de la recta de la curva de calibración obtenida mediante el método de mínimos cuadrados descrito en el libro de *Estadística y Quimiometría para Química Analítica*.

4.7.6 Exactitud

Este parámetro se evalúa en dos componentes: veracidad y precisión. La veracidad no fue evaluada por falta de materiales de referencia certificados vigentes, por ello sólo quedó establecida en términos de precisión.

4.7.6.1 Precisión

4.7.6.1.1 Repetibilidad

Debido a que la repetibilidad se expresa en términos de CV (ver anexo 1, ec. 2); se calcula la desviación estándar (ver anexo 1, ec. 3) y la x de 8 controles correspondientes al punto medio de la curva de calibración, los cuales son leídos por triplicado y analizados en periodos de tiempo corto, bajo las mismas condiciones de análisis, con el mismo equipo, preparados a partir de la misma disolución madre y por el mismo analista. El LNR establece como criterio de aceptación un valor $\leq 5\%$.

4.7.7 Recuperación

Para obtener la recuperación se leyeron 8 controles de la misma concentración correspondientes al punto medio de la curva de calibración, los cuales fueron preparados a partir de la misma disolución madre que contenía una sal de diferente marca y pureza que la sal empleada para preparar la curva de calibración. Se expresa en términos de % y se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$\%R = \left(\frac{\text{Concentración experimental}}{\text{Concentración teórica}} \right) * 100$$

Criterio de aceptación: 80% - 120%.

5 RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

5.1 Validación del método FIA de nitritos

Demostración de desempeño

- **Límite de detección y cuantificación (ver tabla 8)**

LD = 0.0020 mg/L

LC = 0.0065 mg/L

Como se puede ver el límite de cuantificación es apropiado ya que se encuentra muy cercano al primer punto de la curva de calibración lo cual indica que en este punto se puede cuantificar adecuadamente el analito y determinarse con una precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones establecidas de prueba.

Por otro lado el límite de detección indica que a una concentración de 0.0020 mg/L se puede determinar cualitativamente la presencia del analito, con una certeza estadística razonable.

- **Intervalo de trabajo:** 0.01 - 0.1 mg N-NO₂/L
- **Intervalo lineal**

a) Coeficiente de correlación

Se obtiene un valor de $r = 0.9999$ (ver tabla 8), el cual cumple con el criterio de aceptación ($r \geq 0.998$) establecido por el LNR, y es indicativo de que existe correlación, pero para ver si se trata de una correlación lineal se aplica la prueba *t*.

Prueba t

t experimental = 98.058 (ver punto c)

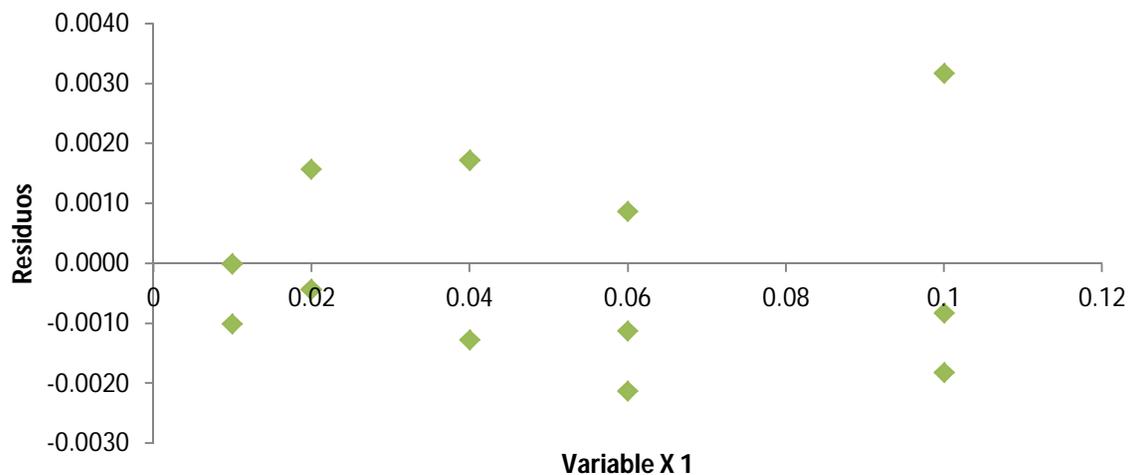
t de tablas = 2.160

La hipótesis nula es que no existe correlación entre x y y .

Al obtener una t experimental más grande que la t tabulada, se concluye que sí existe una correlación significativa entre x y y .

Se observa que el valor crítico de F es mucho menor a 0.05 por lo que se puede concluir con un 95% de confianza que las desviaciones de los resultados obtenidos con respecto al modelo lineal son por errores aleatorios.

b) Gráfico de residuales



Gráfica 1. Gráfico de residuales de nitritos.

El gráfico de residuos muestra una distribución satisfactoria, excepto que un dato pudiera representar una anomalía que se atribuye a que existe mayor variación al tomar alícuotas más grandes, pero la distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirma la linealidad del método.

c) Análisis de la varianza (ANOVA)

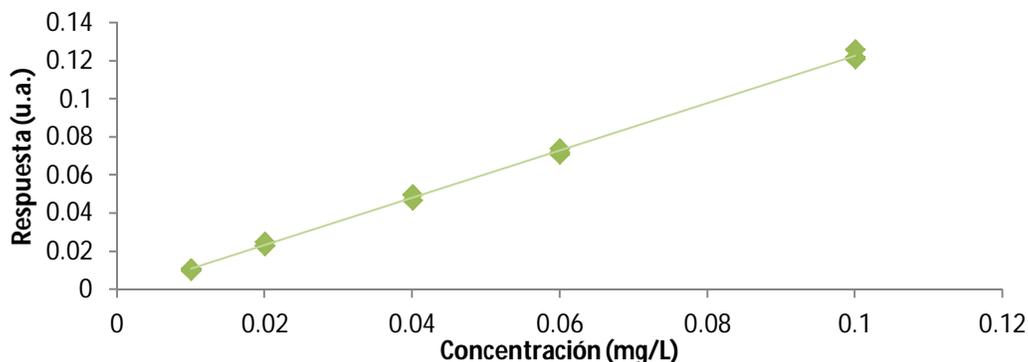
	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	0.0237	0.0237	9615.3285	4.83537E-20
Residuos	13	3.20573E-05	2.46595E-06		
Total	14	0.0237			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t
Intercepción	-0.0014	0.0007	-1.9990
Variable X 1	1.2424	0.0127	98.0578

La siguiente regresión lineal por mínimos cuadrados, se realiza a partir del promedio de las señales de los estándares de tres curvas de calibración que fueron preparadas a partir de la misma disolución madre.

Tabla 8. Mínimos cuadrados de la curva promedio de nitritos

x_i	y_i	\hat{y}	$(y_i - \bar{y})$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(y_i - \bar{y})(x_i - \bar{x})$	x^2	S_{x0}	$(y_i - \hat{y})^2$
0.000	0.000	-0.0009	-0.0464	0.0022	-0.0383	0.0015	0.0018	0.0000	0.0005	0.0000
0.01	0.011	0.0115	-0.0358	0.0013	-0.0283	0.0008	0.0010	0.0001	0.0005	0.0000
0.02	0.024	0.0238	-0.0228	0.0005	-0.0183	0.0003	0.0004	0.0004	0.0005	0.0000
0.04	0.049	0.0485	0.0026	0.0000	0.0017	0.0000	0.0000	0.0016	0.0005	0.0000
0.06	0.072	0.0732	0.0259	0.0007	0.0217	0.0005	0.0006	0.0036	0.0005	0.0000
0.10	0.123	0.1226	0.0766	0.0059	0.0617	0.0038	0.0047	0.0100	0.0007	0.0000
$\Sigma 0.23$	$\Sigma 0.279$	$\Sigma 0.2787$	$\Sigma 0.0000$	$\Sigma 0.0105$	$\Sigma 0.0000$	$\Sigma 0.0069$	$\Sigma 0.0085$	$\Sigma 0.0157$		$\Sigma 0.0000$
a	-0.0009	$S_{y/x}$	$S_{y/x}$	0.0008	n	6.0000	L.D.	0.0020		
b	1.2345	Sb	0.0097	1/n	0.1667	b2	1.5241			
r	0.9999	Sa	0.0005	1/3+1/n	0.5000	$S_{y/x}/b$	0.0007			
		\bar{x}	0.0383	\bar{y}	0.0464	L.C.	0.0065			



Gráfica 2. Regresión ajustada de nitritos.

- **Ecuación de la recta:** $y = 1.2345x - 0.0009$
- **Sensibilidad**

La sensibilidad es igual a la pendiente de la curva de calibración la cual corresponde a 1.2345 y es adecuada porque indica una representación lineal.

- **Repetibilidad y Recuperación.**

Tabla 9. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de nitritos

CONTROL	CONCENTRACIÓN (mg/L)	ABSORBANCIA	%R
1	0.0407	0.0493	98.73
2	0.0409	0.0497	99.37
3	0.0409	0.0497	99.37
4	0.0409	0.0497	99.37
5	0.0409	0.0497	99.37
6	0.0409	0.0497	99.35
7	0.0412	0.0500	100.02
8	0.0409	0.0497	99.37
Promedio	0.0409	0.0497	99.37
Desv. Estándar	0.0001		
REPETIBILIDAD	0.35		

Concentración teórica 0.0412 mg/L

En conclusión el método es repetible ya que cumple con el criterio establecido por el LNR de CONAGUA de ser $\leq 5\%$.

La recuperación también cumple con el criterio de aceptación (80-120%) que establece el LNR de la CONGUA.

5.2 Validación del método FIA de nitratos

Demostración de desempeño

- **Límite de detección y cuantificación (ver tabla 10)**

LD = 0.0552 mg/L

LC = 0.1839 mg/L

Tanto el LD como el LC son adecuados.

- **Intervalo de trabajo:** 0.2 - 2.0 mg N-NO₃/L

- **Intervalo lineal**

a) Coeficiente de correlación

Se obtiene un coeficiente de correlación de **0.9998** (ver tabla 10) el cual cumple con el criterio de aceptación ($r \geq 0.998$) establecido por el LNR, pero para ver si se trata de una correlación lineal se aplica la prueba t .

Prueba t

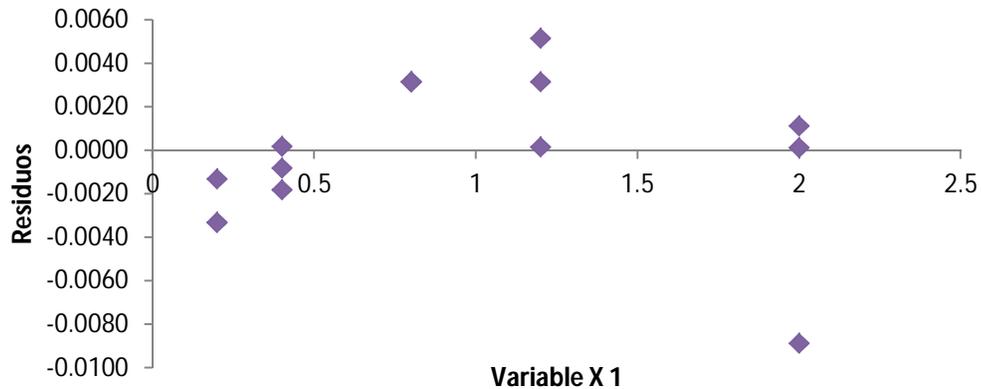
La hipótesis nula es que no existe correlación entre x y y .

t experimental = 258.931 (ver punto c)

t de tablas = 2.160

Al obtener una t experimental más grande que la t tabulada, se concluye que sí existe una correlación significativa entre x y y .

b) Gráfico de residuales



Gráfica 3. Gráfico de residuales de nitratos.

El gráfico de residuos muestra una distribución satisfactoria, excepto que podría tener un dato anómalo, pero la distribución aleatoria alrededor de la línea recta confirma la linealidad.

c) Análisis de la varianza (ANOVA)

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.8991	0.8991	67045.1150	1.6046E-25
Residuos	13	0.0002	1.341E-05		
Total	14	0.8992			

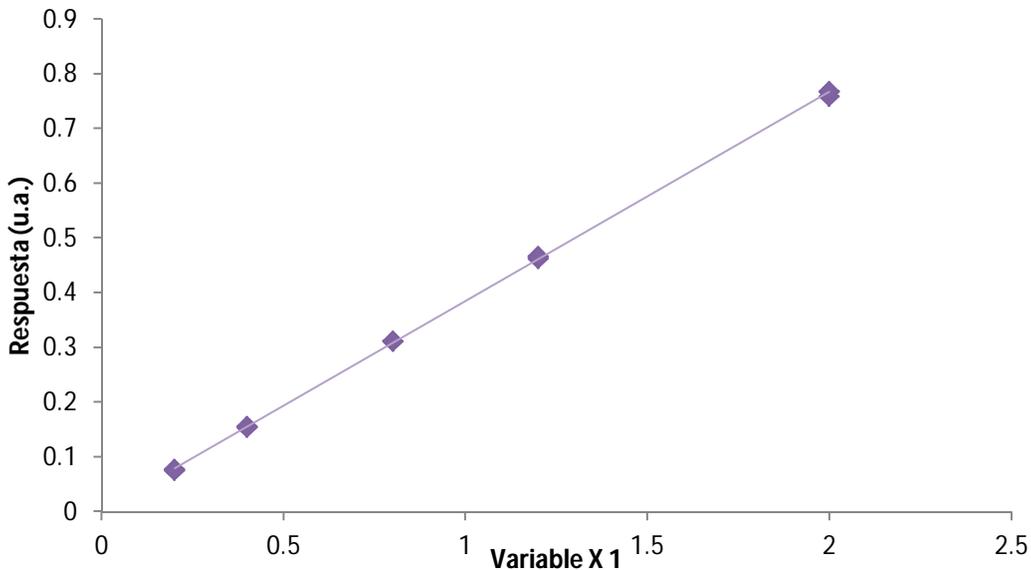
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>
Intercepción	0.0028	0.0017	1.6932
Variable X 1	0.3825	0.0015	258.9307

La siguiente regresión lineal por mínimos cuadrados (ver tabla 10), se realiza a partir del promedio de las señales de los estándares de tres curvas de calibración, que fueron preparadas a partir de la misma disolución madre.

Tabla 10. Mínimos cuadrados de la curva promedio de nitratos

x_i	y_i	\hat{y}	$(y_i - \bar{y})$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(y_i - \bar{y})(x_i - \bar{x})$	x^2	S_{x_0}	$(y_i - \hat{y})^2$
0.0	0.000	-0.00253027	-0.25150000	0.06325225	-0.76666667	0.58777778	0.19281667	0.00000000	0.01548795	0.00000640
0.2	0.066	0.06373850	-0.18550000	0.03441025	-0.56666667	0.32111111	0.10511667	0.04000000	0.01440856	0.00000511
0.4	0.133	0.13000726	-0.11850000	0.01404225	-0.36666667	0.13444444	0.04345000	0.16000000	0.01359477	0.00000896
0.8	0.255	0.26254479	0.00350000	0.00001225	0.03333333	0.00111111	0.00011667	0.64000000	0.01300462	0.00005692
1.2	0.389	0.39508232	0.13750000	0.01890625	0.43333333	0.18777778	0.05958333	1.44000000	0.01379347	0.00003699
2.0	0.666	0.66015738	0.41450000	0.17181025	1.23333333	1.52111111	0.51121667	4.00000000	0.01900887	0.00003414
4.6	1.509	1.50900000	0.00000000	0.30243350	0.00000000	2.75333333	0.91230000	6.28000000		0.00014853

a	-0.00253027	$S_{y/x}$	0.00609360	n	6.00000000	L.D.	0.05517169
b	0.33134383	Sb	0.00367235	1/n	0.16666667	b2	0.10978873
r	0.99975442	Sa	0.00375707	1/3+1/n	0.50000000	$S_{y/x}/b$	0.01839056
		Xm	0.76666667	Ym	0.25150000	L.C.	0.18390565



Gráfica 4. Regresión ajustada de nitratos

- **Ecuación de la recta:** $y = 0.3313x - 0.0025$
- **Sensibilidad**

La sensibilidad es igual a la pendiente de la curva de calibración la cual corresponde a 0.3313.

- Repetibilidad y Recuperación

Tabla 11. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de nitratos

CONTROLES	CONCENTRACIÓN (mg/L)	ABSORBANCIA	%R
1	0.7863	0.2580	98.26
2	0.7953	0.2610	99.39
3	0.7833	0.2570	97.88
4	0.7802	0.2560	97.51
5	0.7863	0.2580	98.26
6	0.8014	0.2630	100.15
7	0.7893	0.2590	98.64
8	0.7953	0.2610	99.39
Promedio	0.7897	0.2591	98.69
Desv. Estándar	0.0071		
REPETIBILIDAD	0.90		

Concentración teórica: 0.8002 mg/L

Tanto la repetibilidad como la recuperación cumplen con los criterios de aceptación establecidos por el LNR.

5.3 Validación del método FIA de cromo hexavalente

Demostración de desempeño

- **Límite de detección y cuantificación (ver tabla 12)**

LD = 0.0044mg/L

LC = 0.0148 mg/L

Tanto el LD como el LC son adecuados.

- **Intervalo de trabajo:** 0.02 – 0.2 mg/L

- **Intervalo lineal**

a) **Coeficiente de correlación**

Se obtiene un coeficiente de correlación de **0.9999** (ver tabla 12) el cual cumple con el criterio de aceptación ($r \geq 0.998$) establecido por el LNR, pero para ver si se trata de una correlación lineal se aplica la prueba t .

Prueba t

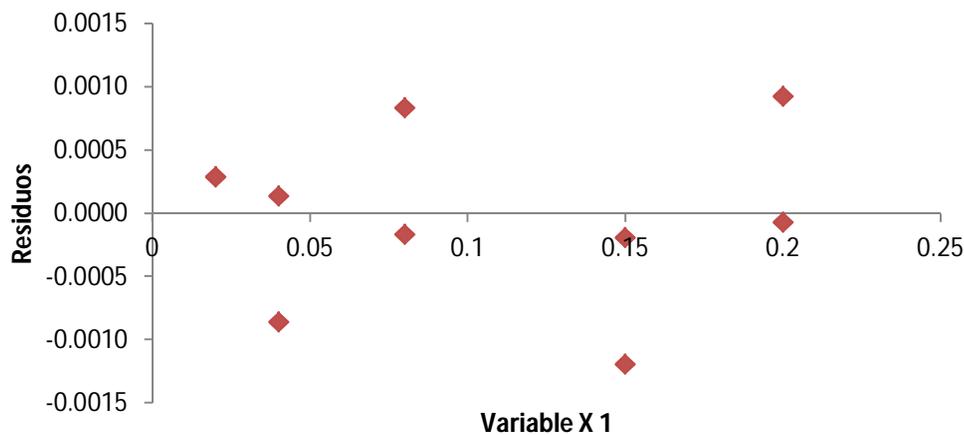
La hipótesis nula es que no existe correlación entre x y y .

t experimental = 108.390 (ver punto c)

t de tablas = 2.306

Al obtener una t experimental más grande que la t tabulada, se concluye que sí existe una correlación significativa entre x y y .

b) Gráfico de residuales



Gráfica 5. Gráfico de residuales de cromo hexavalente

El gráfico de residuos muestra una distribución satisfactoria lo cual confirma la linealidad del método.

c) Análisis de la varianza (ANOVA)

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.0059	0.0059	11748.3289	5.8647E-14
Residuos	8	3.98383E-06	4.97979E-07		
Total	9	0.0059			

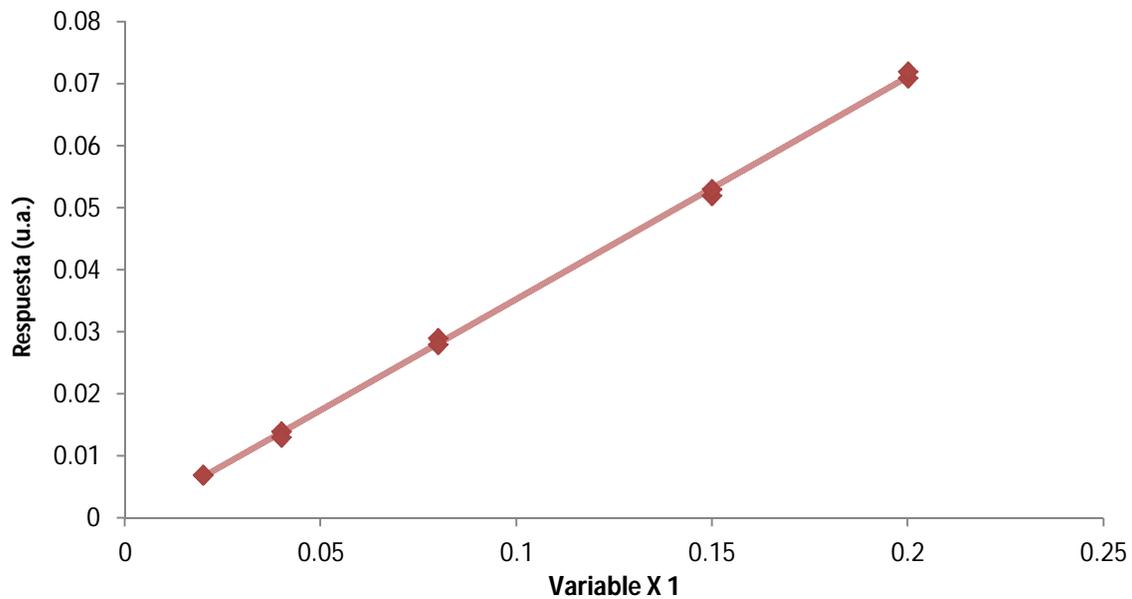
	<i>Coefficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>
Intercepción	-0.0004	0.0004	-1.1226
Variable X 1	0.3576	0.0033	108.3897

La siguiente regresión lineal por mínimos cuadrados (ver tabla 12), se realiza a partir del promedio de las señales de los estándares de dos curvas de calibración, preparadas a partir de la misma disolución madre.

Tabla 12. Mínimos cuadrados de la curva promedio de cromo hexavalente, FIA

x_i	y_i	\hat{y}	$(y_i - \bar{y})$	$(y_i - \bar{y})^2$	$(x_i - \bar{x})$	$(x_i - \bar{x})^2$	$(y_i - \bar{y})(x_i - \bar{x})$	x^2	S_{x0}	$(y_i - \hat{y})^2$
0.0	0.000	-0.00027226	-0.02883333	0.00083136	-0.08166667	0.00666944	0.00235472	0.00000000	0.00124827	0.00000007
0.02	0.007	0.00685564	-0.02183333	0.00047669	-0.06166667	0.00380278	0.00134639	0.00040000	0.00116631	0.00000002
0.04	0.014	0.01398354	-0.01533333	0.00023511	-0.04166667	0.00173611	0.00063889	0.00160000	0.00110702	0.00000023
0.08	0.029	0.02823934	-0.00033333	0.00000011	-0.00166667	0.00000278	0.00000056	0.00640000	0.00104613	0.00000007
0.15	0.053	0.05318699	0.02366667	0.00056011	0.06833333	0.00466944	0.00161722	0.02250000	0.00118610	0.00000047
0.20	0.072	0.07100675	0.04266667	0.00182044	0.11833333	0.01400278	0.00504889	0.04000000	0.00145259	0.00000024
0.49	0.173	0.17300000	0.00000000	0.00392383	0.00000000	0.03088333	0.01100667	0.07090000		0.00000111

a	-0.00027226	S_{y/x}	0.00052725	n	6.00000000	L.D.	0.00443821
b	0.35639504	S_b	0.00300024	1/n	0.16666667	b₂	0.12701742
r	0.99985829	S_a	0.00032614	1/3+1/n	0.50000000	S_{y/x}/b	0.00147940
		X_m	0.08166667	Y_m	0.02883333	L.C.	0.01479405



Gráfica 6. Regresión ajustada de Cromo Hexavalente

- **Ecuación de la recta:** $y = 0.3564x - 0.0003$
- **Sensibilidad**

La sensibilidad corresponde a 0.3564 y es adecuada.

- Repetibilidad y Recuperación

Tabla 13. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de cromo (VI)

CONTROL	CONCENTRACIÓN (mg/L)	ABSORBANCIA	%R
1	0.0400	0.0133	99.60
2	0.0400	0.0133	99.60
3	0.0399	0.0133	99.16
4	0.0401	0.0133	99.65
5	0.0389	0.0130	96.85
6	0.0399	0.0133	99.16
7	0.0389	0.0130	96.81
8	0.0400	0.0133	99.60
Promedio	0.0397	0.0133	98.80
Desv. Estándar	0.0005		
REPETIBILIDAD	1.25		

Concentración teórica: 0.0402 mg/L

Se cumple con los criterios de aceptación para ambos parámetros.

5.4 Validación del método FIA de ortofosfatos

Demostración de desempeño

- **Límite de detección y cuantificación (ver tabla 14)**

LD = 0.0010 mg/L

LC = 0.0034 mg/L

Tanto el LD como el LC son apropiados.

- **Intervalo de trabajo:** 0.01 - 0.1 mg/L
- **Intervalo lineal**

a) Coeficiente de correlación

Se obtiene un coeficiente de correlación de **0.9995**, por lo tanto, se cumple con el criterio de aceptación establecido por el LNR, pero para ver si se trata de una correlación lineal se aplica la prueba *t*.

Prueba *t*

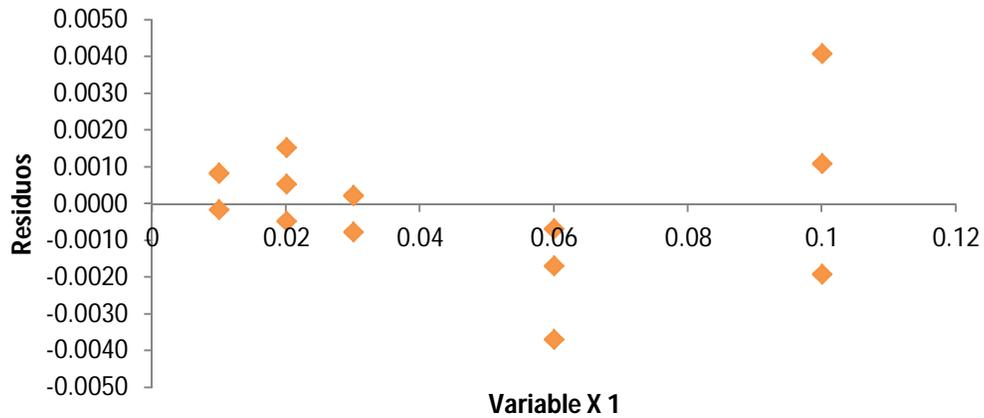
La hipótesis nula es que no existe correlación entre *x* y *y*.

t experimental = 112.640

t de tablas = 2.160

Al obtener una *t* experimental más grande que la *t* tabulada, se concluye que sí existe una correlación significativa entre *x* y *y*.

b) Gráfico de residuales



Gráfica 7. Gráfico de los residuales de Ortofosfatos

Como se puede apreciar en la gráfica de residuales existe un comportamiento heterocedástico, es decir, la desviación estándar de los valores de y aumentan con la concentración del analito, en lugar de tener el mismo valor para todas las concentraciones, por lo tanto, se tendrá que emplear un gráfico de regresión ponderada.

c) Análisis de la varianza (ANOVA)

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	0.0424	0.0424	12687.6751	7.9905E-21
Residuos	13	4.34787E-05	3.3445E-06		
Total	14	0.0425			

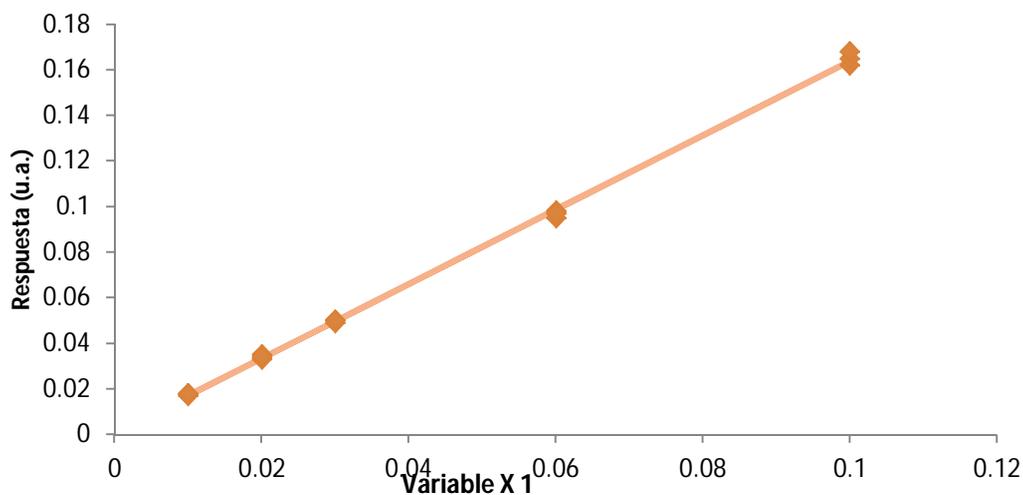
	<i>Coeficientes</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>
Intercepción	0.0009	0.0008	1.0779
Variable X 1	1.6306	0.0145	112.6396

La siguiente regresión ponderada (ver tabla 14), se realiza a partir del promedio de las señales de los estándares de tres curvas de calibración independientes.

Tabla 14. Regresión ponderada de ortofosfatos

x_i	y_i	\hat{y}	s_i	$1/s_i^2$	w_i	$w_i x_i$	$w_i y_i$	$w_i x_i y_i$	$w_i x_i^2$	x_i^2	$w_i (y_i - \bar{y})^2$	S_{xow}	$(y_o - y_w)^2$
0	0.000	0.0019	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.0000	0.05756
0.01	0.018	0.0179	0.0006	2777777	2.3438	0.0234	0.0422	0.0004	0.0002	0.0001	0.0000	0.0034	0.04924
0.02	0.034	0.0340	0.0010	1000000	0.8438	0.0169	0.0287	0.0006	0.0003	0.0004	0.0000	0.0024	0.04240
0.03	0.050	0.0500	0.0006	2777777	2.3438	0.0703	0.1172	0.0035	0.0021	0.0009	0.0000	0.0020	0.03606
0.06	0.097	0.0982	0.0015	444444	0.3750	0.0225	0.0364	0.0022	0.0014	0.0036	0.0000	0.0014	0.02042
0.1	0.165	0.1624	0.0030	111111	0.0938	0.0094	0.0155	0.0015	0.0009	0.0100	0.0000	0.0011	0.00561
0.22	0.364		0.0067	7111111	6.0000	0.1425	0.2399	0.0082	0.0050	0.0150	0.0000		

b_w	1.6050	$S_{(y/x)w}$	0.0005	n	6.0000	LD	0.001014542
a_w	0.0019	$S_{(y/x)w}/b$	0.0003	$n-2$	4.0000	LC	0.003381807
b^2	2.5759			$1/n$	0.1667		



Gráfica 8. Regresión ajustada de Ortofosfatos

- **Ecuación de la recta:** $y = 1.6050x + 0.0019$
- **Sensibilidad**

La sensibilidad es igual a la pendiente de la curva de calibración la cual corresponde a 1.6050.

- Repetibilidad y Recuperación

Tabla 15. Resultados de repetibilidad y recuperación del método FIA de ortofosfatos

CONTROLES	CONCENTRACION mg/L	ABSORBANCIA	%R
1	0.0289	0.0483	95.48
2	0.0304	0.0507	100.42
3	0.0298	0.0497	98.36
4	0.0294	0.0490	96.92
5	0.0294	0.0490	96.92
6	0.0292	0.0487	96.30
7	0.0296	0.0493	97.54
8	0.0294	0.0490	96.92
Promedio	0.0295	0.0492	97.36
Desv. Estándar	0.0005		
REPETIBILIDAD	1.53		

Concentración teórica 0.0303 mg/L

Se cumple con los criterios de aceptación.

Después de evaluar el desempeño por separado de los métodos FIA y los métodos convencionales actualmente normados, se realizó una comparación entre ambos para poder visualizar mejor el desempeño de cada uno de ellos; en la siguiente tabla (ver tabla 16) se resumen los parámetros de validación obtenidos.

Tabla 16. Comparación de los métodos FIA contra los métodos convencionales normados

Parámetros	Nitritos FIA	Nitritos MN	Nitratos FIA	Nitratos MN	Cromo (VI) FIA	Cromo (VI) MN	Ortofosfatos FIA	Ortofosfatos MN
Intervalo de trabajo (mg/L)	0.01 – 0.10	0.05 – 1.0	0.2 – 2.0	0.05 – 1.0	0.02 – 0.20	0.1 – 1.0	0.01 – 0.10	0.01 – 0.05
r	0.9999	1	0.9998	0.9999	0.9999	0.9997	0.9998	0.9990
LD (mg/L)	0.0020	0.0109	0.0552	0.0157	0.0044	0.0310	0.0010	0.0029
LC (mg/L)	0.0065	0.0363	0.1839	0.0524	0.0148	0.1033	0.0034	0.0095
Repetibilidad (CV)	0.35	4.04	0.90	4.42	1.25	4.14	1.53	7.62
Recuperación (%R)	99.37	101.40	98.69	108.11	98.80	114.02	97.36	110.54
Sensibilidad	1.2345	2.8823	0.331	0.4853	0.3564	1.9020	1.6050	1.1483

Como se puede apreciar en la tabla anterior, los métodos establecidos para la medición de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos mediante FIA resultaron ser repetibles ($CV < 5\%$), exactos ($\%R$ 80-120), precisos y sensibles, por lo tanto, estos procedimientos operativos estandarizados son estadísticamente aceptables de acuerdo a los criterios establecidos por el Laboratorio Nacional de Referencia de la CONAGUA.

Una vez que se evaluó el desempeño de los métodos FIA individualmente, se comparó la fiabilidad de éstos contra los métodos convencionales normados que estaban implementados en el LNR y se pudo demostrar que efectivamente la repetibilidad, los límites de detección y cuantificación se disminuyen considerablemente, por ello las metodologías FIA sí pueden enriquecer y complementar a la normativa actual en materia de calidad del agua. Por otro lado, estas metodologías requieren de una menor cantidad de reactivos y muestras, por lo tanto, generan menos residuos; además se disminuye considerablemente el tiempo de operación y manipulación, por lo que se puede tener un mayor número de resultados en menor tiempo.

Sin embargo, la implementación y optimización de los mismos requiere de un adecuado control en el ajuste de las velocidades de flujo de cada uno de los tubos de reacción que transportan las disoluciones reactivo, ya que los métodos FIA se fundamentan en la dispersión y tiempo de reacción; otro aspecto que se debe tener en cuenta es el cuidado de la configuración de entradas y salidas en el manifold ya que esto es la representación física de la reacción química; así mismo, es de vital importancia evitar que entren burbujas de aire en el sistema ya que esto provocará errores de las lecturas de absorbancia.

Debido al cumplimiento de los criterios de validación de los diferentes métodos analíticos FIA, se registraron los Anteproyectos de Norma Mexicana por FIA en el Programa Nacional de Normalización 2013.

5.5 Aplicación de los métodos analíticos FIA validados para analizar muestras reales

5.5.1 Zona de estudio

Posterior a la implementación, optimización y validación de los métodos FIA, se realizaron diversos muestreos del Lago Nabor Carrillo para obtener muestras reales y poder aplicar los métodos propuestos.

5.5.1.1 Lago Nabor Carrillo

La situación de la disponibilidad del agua en el Valle de México está próxima a una crisis. Casi el 62% del abastecimiento del vital líquido proviene del acuífero localizado bajo el área metropolitana, el cual ha sufrido una considerable sobreexplotación y por ende, un alarmante agotamiento. Ideas como tratar y almacenar grandes volúmenes de agua residual tratada para su mejoramiento, representa una posible alternativa para satisfacer las demandas poblacionales de agua (agricultura, potabilización, piscicultura, recreativas, pesca deportiva, etc.). Tal situación dio las bases para la construcción del lago Nabor Carrillo, mismo que sería alimentado con agua del río Churubusco con previo proceso de tratamiento y a su vez, servir como mejorador de la calidad del agua de forma natural.

El lago Nabor Carrillo se encuentra ubicado en la antigua zona lacustre de Texcoco, al noroeste de la Ciudad de México, entre los 19°25' y 19°35' latitud norte y a los 98°55' y 99°03' longitud oeste.

Para su construcción se aprovechó la compresibilidad de los suelos arcillosos del ex-lago. Se colocó una batería de 180 pozos de bombeo dispuestos alrededor de la futura depresión con el fin de extraer agua y provocar el hundimiento del piso mediante bombeo ininterrumpido a 65 metros de profundidad durante 5 años (1973-1978) y provocar una depresión del suelo de aproximadamente 3.60 metros. Se obtuvieron así, 12 millones de metros cúbicos

de capacidad de almacenamiento. Posteriormente, se construyó un bordo perimetral de tipo presa de baja altura, con una longitud de 11 kilómetros, para rodear la zona hundida e incrementar al doble la capacidad inicial. Finalmente, al ser llenado el lago, el peso del agua produjo un hundimiento adicional de 1,5 metros (Cruickshank, 1984).

En la actualidad el lago posee una capacidad de almacenamiento de 36 millones de m³, una superficie de 1000 hectáreas y una profundidad de 4 metros. Recibe agua de once ríos, previamente tratada en las plantas del mismo proyecto.

Comenzó su operación en 1982 y forma parte de un proyecto de rescate hidrológico, de suelos y ambiente que comenzó desde 1971 bajo la dirección del Doctor Nabor Carrillo.

Además de su función de almacenar agua para uso agrícola e industrial, que se destina a suelos de cultivo del Valle de Texcoco y para detener la explotación de los mantos acuíferos del área; desempeña también un papel activo en la regulación climática, ya que es un importante generador de humedad.

El lago Nabor Carrillo se ha convertido en un importante ecosistema en el que se puede encontrar una especie de pez pequeño llamado mexclapique (*Gyrardinichtis viviparus*) que es exclusivamente mexicano y cuya distribución se restringe a la ciudad de México y sus alrededores, como el estado de México e Hidalgo; este pez permite el mantenimiento de la cadena alimenticia de diversos animales de la región. Además de esta especie, existen diferentes variedades de carpa y tilapia como especies introducidas con fines de cultivo y para los embalses artificiales. Sobre los anfibios, se identifican sapos (*Bufo sp*), ajolotes (*Ambystoma spp*) y tres especies de ranas: *Hyla eximia*, *Rana pipiens* y *Rana holecina*. Respecto a los reptiles, se reporta que no son muy abundantes, pero se encuentra el zencuate *Pituophis deppei*, culebras de agua del género *Thomnophis spp* y algunas lagartijas del género *Scalaris spp* (Ducks, 2005).

La comunidad de mamíferos está constituida por especies de tamaño pequeño y mediano, que habitan principalmente en pastizales, abundan las especies de roedores: *Microtus mexicanus*, *Peromyscus maniculatus* y *Reithrodontomys megalotis*; musarañas del género *Crhyptotis spp.*; tuzas del género *Papogeomys spp.*; comadreja de cola larga *Mustela frenata*, ardillas terrestres *Spermophilus mexicanus*, conejos *Sylvilagus floridanus* y liebres *Lepus californicus*.

La zona ha sido considerada por diferentes investigadores nacionales y extranjeros como el sitio más importante del valle de México para la invernación, alimentación, reproducción y descanso para miles de aves acuáticas que viajan desde Alaska, Canadá y Estados Unidos. Desde la década de los ochenta, 68 especies de aves acuáticas han llegado a la zona; entre ellas, 13 especies de patos, 29 de aves de río, 11 tipos de herón, 5 de gallinas de agua, 1 de palomas, 8 especies asociadas con ambientes acuáticos (como pelicanos) y 65 especies de aves terrestres. Es por ello que el lago Nabor Carrillo es considerado como un AICAS.

5.5.1.2 Sitios de monitoreo

Se tomaron ocho muestras de agua de diferentes sitios del lago Nabor Carrillo y éstos fueron ubicados mediante un GPS (ver tabla 17 y figura 10).

Tabla 17. Coordenadas de los sitios de muestreo

		Ubicación geográfica	
Embalse	Sitios de muestreo	Latitud	Longitud
Lago Nabor Carrillo	1	19°28'24.53"N	98°57'53.57"O
	2	19°28'17.75"N	98°58'4.17"O
	3	19°27'11.85"N	98°58'48.38"O
	4	19°28'6.23"N	98°58'14.20"O
	5	19°28'4.40"N	98°57'27.89"O
	6	19°28'16.22"N	98°57'9.48"O
	7	19°28'44.24"N	98°57'16.55"O
	8	19°27'18.43"N	98°58'14.69"O



Figura 10. Ubicación de los sitios de muestreo (Google Earth, 2012).

Tabla 18. Resultados de las muestras analizadas del Lago Nabor Carrillo

Sitio de muestreo	Concentración de nitritos (mg/L)	Concentración de nitratos (mg/L)	Concentración de cromo (VI) (mg/L)	Concentración de ortofosfatos (mg/L)
1	0.302 ± 0.002	6.338 ± 0.557	< 0.02 ± 0.005	2.600 ± 0.064
2	0.139 ± 0.002	10.396 ± 0.573	< 0.02 ± 0.005	2.620 ± 0.064
3	0.139 ± 0.002	14.745 ± 0.655	< 0.02 ± 0.005	2.560 ± 0.063
4	0.058 ± 0.002	27.750 ± 1.110	0.026 ± 0.005	2.648 ± 0.065
5	0.261 ± 0.002	17.894 ± 0.745	< 0.02 ± 0.005	2.679 ± 0.066
6	0.302 ± 0.002	14.759 ± 0.656	< 0.02 ± 0.005	2.699 ± 0.066
7	0.342 ± 0.002	12.875 ± 0.613	< 0.02 ± 0.005	2.480 ± 0.061
8	0.667 ± 0.002	13.285 ± 0.622	< 0.02 ± 0.005	2.694 ± 0.066

Como se puede apreciar en la tabla anterior las concentraciones de nitritos, nitratos y ortofosfatos sobrepasan los criterios ecológicos de calidad del agua (publicados en la gaceta ecológica de 1990) establecidos para la protección de la vida acuática (ver tabla 1); por lo tanto, este alto contenido de nutrientes puede provocar la eutrofización del lago, disminuyendo drásticamente su calidad y no siendo apto para la mayor parte de los seres vivos, además de dar como resultado final un ecosistema casi destruido. Las causas de ello son la evaporación, la falta de operación de la planta de tratamiento de aguas residuales, además de su baja eficiencia, así como la falta de intercambio del agua almacenada y las condiciones geológicas propias del sitio. Lo cual no es ajeno a los lagos ya que éstos son especialmente susceptibles a los impactos negativos de la eutrofización debido a su complejo dinamismo, con un periodo de residencia del agua relativamente largo, y al hecho de que concentran los contaminantes procedentes de las cuencas de drenaje. Las concentraciones de nitrógeno superiores a 5 mg/L de agua a menudo son un indicativo de contaminación procedente de residuos humanos, animales o provenientes de la escorrentía de fertilizantes de las zonas agrícolas.

Por otro lado la NOM-001-SEMARNAT-1996, que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales, sólo hace mención a los límites para nitrógeno total ($\text{NO}_3 + \text{NO}_2 + \text{NTK}$), fósforo total (ortofosfatos, polifosfatos y fósforo orgánico) y cromo total (Cr(VI) y Cr(III)) estableciendo como límites 60 mg/L, 30 mg/L y 1,5 mg/L respectivamente para embalses naturales y artificiales para uso en riego agrícola que es una de las finalidades del lago Nabor Carrillo; debido a que no hace referencia a los analitos de interés específicamente, no se puede hacer una comparación objetiva con estos criterios.

La NOM-003-SEMARNAT-1997 (publicada en Diario Oficial de la Federación el 21 de septiembre de 1998), establece que el agua residual tratada reusada en servicios al público no deberá contener concentraciones de metales pesados mayores a los límites máximos permisibles establecidos en la columna que corresponde a embalses naturales y artificiales para uso en riego agrícola de la

NOM-001-SEMARNAT-1996, donde se fija un límite de 1,5 mg/L para cromo total; valor que es claramente superior al obtenido experimentalmente; mientras que los criterios ecológicos de calidad del agua para protección de la vida acuática (ver tabla 1) establece un límite de 0.05 mg/L de cromo hexavalente; valor que también se encuentra por arriba del obtenido experimentalmente; por lo tanto, sí se cumple con este criterio y una de las causas de estos bajos niveles de cromo hexavalente es debido a que este elemento posee baja solubilidad en agua; en donde se podrían encontrar niveles más altos sería en los sedimentos del lago.

CONCLUSIONES

- Se implementaron los métodos FIA y se establecieron los procedimientos operativos estandarizados para la medición de nitritos, nitratos, cromo hexavalente y ortofosfatos.
- Se evaluaron los parámetros de validación de los métodos FIA y métodos convencionales normados para conocer el desempeño de cada uno de ellos y de esta forma se concluyó que los métodos FIA sí pueden complementar la normativa actual en materia de calidad del agua.
- De acuerdo al desempeño de los métodos FIA, estas herramientas analíticas son altamente recomendables para análisis de rutina, ya que se pueden realizar varias mediciones en menor tiempo, además de que son herramientas precisas, exactas, sensibles, repetibles y económicas.
- Derivado de los resultados del presente trabajo fue posible elaborar y registrar los Anteproyectos de Normas Mexicanas de Calidad del Agua en el Programa Nacional de Normalización 2013 y en febrero del mismo año se entregaron al grupo de trabajo interinstitucional convocado por la CONAGUA.
- De los resultados obtenidos se concluye que estos anteproyectos de norma son aplicables para la verificación de valores Guía y criterios nacionales e internacionales de calidad del agua tanto residual como potable.
- El agua almacenada en el lago Nabor Carrillo no cumple con los criterios ecológicos de calidad del agua, una vez que por la naturaleza del suelo, tiene un alto contenido de sales, así como de nutrientes (nitrógeno y fósforo) adicionados por las aguas de alimentación, los cuales son causantes de eutrofización. Deberá continuarse con el monitoreo de la calidad del agua y con un adecuado mantenimiento del lago, éste podrá ser adecuado para otros posibles usos.

BIBLIOGRAFÍA

1. ATDSR (2000). Agency for Toxic Substances and Disease Registry Toxicological Profile for Chromium September. P.H.S. US Department of Health and Human Services.
2. Blanco, D.; *et al.*, (1995). Determination of nitrate and nitrite in tap water and vegetables by high performance liquid chromatography. *Journal of Liquid Chromatography*: 18. pp. 2445-2456.
3. CEMAN Eurachem (2005). Métodos analíticos adecuados a su propósito. Primera edición. pp. 1-66.
4. CieSiak-Golonka, M. (1995). Toxic and Mutagenic Effects of Chromium (VI) A Review. *Coord. Chem. Rec.* 19. p. 223.
5. Cruickshank, G. G. (1984). Proyecto Texcoco. IV Congreso Nacional de Ingeniería Sanitaria y Ambiental S.M.I.S.A.A.C. México. pp. 680-684.
6. Comisión Nacional del Agua (2009). *Semblanza Histórica del Agua en México*. Ed. Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales. México.
7. Díaz Z. G. (1987). Informe final del proyecto: Control de malezas acuáticas SARH. Instituto Mexicano de Tecnología del Agua (IMTA). México.
8. Ducks Unilimeted de México (2005). Programa de Conservación y Manejo para las Aves de la Ribera en el lago de Texcoco, Estado de México, A. C.
9. Derache, R. (1990). *Toxicología y seguridad de los alimentos*. Ed. Omega Barcelona, España.

10. Helmer, R. y Hespanhol, I. (1999). Control de la contaminación del agua: guía para la aplicación de principios relacionados con la calidad del agua. Lima, CEPIS.
11. ISO 23913:2006 Water quality. Determination of chromium (VI). Method using flow analysis (FIA and CFA) and spectrometric detection.
12. ISO 15681-1:2003 Water quality. Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) – Part 1. Method by flow injection analysis (FIA).
13. ISO 13395:1996 Water quality. Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analysis (FIA and CFA) and spectrometric detection.
14. ISO/IEC 17025:1999, Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
15. ISO 8466-1:1990 Water quality. Calibration and evaluation of analytical methods and estimation of performance characteristics. Part 1: Statistical evaluation of the linear calibration function.
16. Manual of Analytical Methods, Vol 1. Major Ions and Nutrients. The National Laboratory for Environmental Testing. Canada Centre for Waters.
17. Miller, J. C. and Miller, J. N. (2002): Estadística y Quimiometría para Química Analítica. 4a Ed. Prentice Hall, Madrid, pp. 111-152.
18. NMX-AA-044-SCFI-2001. Análisis de aguas - Determinación de Cromo Hexavalente en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Diario Oficial de la Federación. Agosto 01 del 2001.

19. NMX-AA-029-SCFI-2001, Análisis de aguas - Determinación de fósforo total en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. Diario Oficial de la Federación. Abril 17 del 2001.
20. NMX-AA-079-SCFI-2001, Análisis de aguas - Determinación de nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Diario Oficial de la Federación. Agosto 13 del 2001.
21. NMX-AA-099-SCFI-2006, Análisis de aguas - Determinación de nitrógeno de nitritos en aguas naturales y residuales. Diario Oficial de la Federación. Agosto 21 del 2006.
22. NOM-001-SEMARNAT-1996. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales en aguas y bienes nacionales. Diario Oficial de la Federación. Enero 06 de 1997.
23. NOM-003-SEMARNAT-1997. Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes para las aguas residuales tratadas que se reúsen en servicios al público. Diario Oficial de la Federación Septiembre 21 de 1998.
24. NOM-127-SSA1-1994. Salud Ambiental. Agua para uso y consumo humano. Límites permisibles de calidad y tratamientos a que debe someterse el agua para su potabilización. Diario Oficial de la Federación Enero 18 de 1996.
25. O'Brien T.J., Fornsglio, J.L., Ceryak, S. and Patierno, S.R. (2003). Complexities of chromium carcinogenesis: role of cellular response, repair and recovery mechanisms. *Mutation Res.* 533; pp. 3-36

- 26.OMS (2006). Guías para la calidad del agua potable. Tercera edición. Volumen 1. Recomendaciones. Ginebra (Suiza), Organización Mundial de la Salud. pp. 270, 330-332.
- 27.Perkin Elmer (2002). Techniques for Flow Injection Analysis in UV/VIS Spectroscopy. USA.
- 28.Norseth, T. (1981). The Carcinogenicity of Chromium; Environmental Health Perspectives. Vol. 40 .pp. 121-130.
- 29.Ruzicka, J. and Hansen, E.H. (1988). Flow Injection Analysis. John Wiley and Sons. 2nd Edition.
- 30.Ruzicka, J.; Hansen E. H. (1975). Flow injection analyses: Part I. A new concept of fast continuous flow analysis. Analytica Chimica Acta 78. pp. 145-157.
- 31.Shrivastava, R; Upreti, RK.; Seth, PK; Chaturvedi, UC. (2002). Effects of Chromium on the Immune System. FEMS Immunol. Med. Microbiol. pp. 1-7.
- 32.Sheldrick, B.H. (1984). Analytical Methods Manual. Research Branch. Agriculture Canada.
- 33.Rice, Eugene W., Baird, Rodger B., Eaton, Andrew D. y Clesceri, Lenore S. (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd Edition. American Public Health Association, American Water Works Association y Water Environment Federation.
- 34.<http://mie.esab.upc.es/ms/formacio/Control%20%20Contaminacio%20Agric%20ultura/biblio/nitratos%20y%20nitrosaminas.pdf>

Fecha de consulta: 20/07/2011

35. <http://redalyc.uaemex.mx/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=47546215>
Fecha de consulta: 20/07/2011
36. <http://www.worldscibooks.com/chemistry/3145.html>
Fecha de consulta: 23/06/2011
37. <http://www.lemona.biz/CROMO-2/cromo%20hex>
Fecha de consulta: 23/06/2011
38. http://water.epa.gov/scitech/methods/cwa/bioindicators/upload/2007_07_10_methods_method_353_2.pdf
Fecha de consulta: 20/07/2011
39. http://www.sma.df.gob.mx/sma/links/download/noticias/direccion_ejecutiva_de_vigilancia_ambiental/normatividadagua.pdf
Fecha de consulta: 25/11/2011
40. www.semarnat.gob.mx
Fecha de consulta: 03/01/2013
41. www.gobiernofederal.gob.mx
Fecha de consulta: 03/01/2013
42. <http://www.lenntech.es/periodica/elementos/cr.htm>
Fecha de consulta: 04/01/2013
43. <http://www.vidaecologica.info/ciclo-del-nitrogeno-en-la-naturaleza/>
Fecha de consulta: (9/01/2013
44. http://www.uam.es/personal_pdi/ciencias/lhh345a/InstrumentalLecc1.pdf
Fecha de consulta: 09/01/2013
45. <http://www.bvsde.ops-oms.org/bvsacd/scan/030351/030351-04.pdf>
Fecha de consulta: 09/01/2013

46. <http://www.tecnun.es/asignaturas/Ecologia/Hipertexto/04Ecosis/137CicP.htm#POBLACION>
Fecha de consulta: 17/01/2013
47. <http://www.inecc.gob.mx/descargas/publicaciones/191.pdf>
Fecha de consulta: 06/06/2013
48. <http://www.lenntech.es/aplicaciones/potable/normas/estandares-europeos-calidad-agua-potable.htm>
Fecha de consulta: 06/06/2013
49. <http://water.epa.gov/drink/contaminants/index.cfm>
Fecha de consulta: 06/06/2013
50. http://www.imta.gob.mx/cotennser/images/docs/NOI/Normas_oficiales_para_la_calidad_del_agua_colombia.pdf
Fecha de consulta: 06/06/2013
51. http://www.imta.gob.mx/cotennser/images/docs/NOI/Normas_oficiales_para_la_calidad_del_agua_guatemala.pdf
Fecha de consulta: 06/06/2013
52. http://usam.salud.gob.sv/archivos/pdf/normas/NORMA_AGUA_POTABLE_2_a.pdf
Fecha de consulta: 06/06/2013
53. <http://www.whsrn.org/es/perfil-de-sitio/lago-texcoco>
Fecha de consulta: 18/06/2013
54. http://www.dumac.org/dumac/habitat/esp/pdf/Sintesis_Texcoco.pdf
Fecha de consulta: 18/06/2013
55. <http://www.conagua.gob.mx/CONAGUA07/Noticias/IVAM.pdf>
Fecha de consulta: 18/07/2013

ANEXO 1. Ecuaciones empleadas para hacer el análisis estadístico de los métodos analíticos

1. Coeficiente de correlación:

$$r = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\left\{ \left[\sum_i (x_i - \bar{x})^2 \right] \left[\sum_i (y_i - \bar{y})^2 \right] \right\}^{1/2}}$$

2. Coeficiente de variación:

$$CV = \left(\frac{DE}{\bar{x}} \right) * 100$$

3. Desviación estándar:

$$s = \sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2 / (n - 1)}$$

4. Desviación estándar de la ordenada al origen:

$$s_a = s_{y/x} \sqrt{\frac{\sum_i x_i^2}{n \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

5. Desviación estándar de la pendiente:

$$s_b = \frac{s_{y/x}}{\sqrt{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

6. Desviación estándar de los residuos de y:

$$s_{y/x} = \sqrt{\frac{\sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2}}$$

7. Desviación estándar de los residuos de y de la recta de regresión ponderada:

$$s_{(y/x)w} = \left\{ \frac{\sum_i w_i (y_i - \hat{y}_i)^2}{n - 2} \right\}^{1/2}$$

8. Desviación estándar del valor de x estimado utilizando la recta de regresión:

$$s_{x_0} = \frac{s_{y/x}}{b} \sqrt{\frac{1}{m} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y})^2}{b^2 \sum_i (x_i - \bar{x})^2}}$$

9. Desviación estándar del valor de x estimado utilizando la recta de regresión ponderada:

$$s_{x_{0w}} = \frac{s_{(y/x)w}}{b} \left\{ \frac{1}{w_0} + \frac{1}{n} + \frac{(y_0 - \bar{y}_w)^2}{b^2 \left(\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2 \right)} \right\}^{1/2}$$

10. Límites de confianza

$$x_0 \pm t_{(n-2)} s_{x_0}, \text{ con } (n-2)$$

11. Límite de cuantificación:

$$LC = \frac{10 S_{y/x}}{b}$$

12. Límite de detección:

$$LC = \frac{3 S_{y/x}}{b}$$

13. Media:

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

14. Ordenada al origen de la recta:

$$a = \bar{y} - b\bar{x}$$

15. Ordenada en el origen ponderada:

$$a_w = \bar{y}_w - b\bar{x}_w$$

16. Pendiente de la recta:

$$b = \frac{\sum_i \{(x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})\}}{\sum_i (x_i - \bar{x})^2}$$

17. Pendiente ponderada:

$$b_w = \frac{\sum_i w_i x_i y_i - n \bar{x}_w \bar{y}_w}{\sum_i w_i x_i^2 - n \bar{x}_w^2}$$

18. Ponderación:

$$w_i = \frac{s_i^{-2}}{\sum_i s_i^{-2}/n}$$

19. Recuperación o recobro:

$$\%R = \left(\frac{\text{Concentración experimental}}{\text{Concentración teórica}} \right) * 100$$

20. Sumas de cuadrados aditivas

$$\sum_i (y_i - \bar{y})^2 = \sum_i (\hat{y}_i - \bar{y})^2 + \sum_i (y_i - \hat{y}_i)^2$$

21. Valor de t

$$t = \frac{|r| \sqrt{n-2}}{\sqrt{1-r^2}}$$



ANTEPROYECTO DE NORMA MEXICANA

**CALIDAD DEL AGUA - MEDICIÓN DE NITRITOS, NITRATOS Y LA
SUMA DE AMBOS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y
RESIDUALES TRATADAS MEDIANTE ANÁLISIS POR INYECCIÓN
EN FLUJO (FIA) CON DETECCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA**

**WATER QUALITY - MEASUREMENT OF NITRATE, NITRITE AND
THE SUM OF BOTH IN NATURAL, WASTE AND TREATED
WASTEWATERS BY FLOW INJECTION ANALYSIS (FIA) WITH
SPECTROMETRIC DETECTION**



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

ÍNDICE DEL CONTENIDO

0 INTRODUCCIÓN.....	1
1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN.....	1
2 REFERENCIAS NORMATIVAS.....	2
3 PRINCIPIO DEL MÉTODO.....	2
4 REACTIVOS.....	2
5 EQUIPOS Y MATERIALES.....	5
6 VERIFICACIÓN DEL SISTEMA DE FLUJO.....	6
7 MUESTREO Y PREPARACION DE LA MUESTRA.....	7
8 INTERFERENCIAS.....	7
9 PROCEDIMIENTO.....	8
10 EVALUACIÓN.....	10
10 EXPRESIÓN DE RESULTADOS.....	11
11 INFORME DE PRUEBA.....	11
12 BIBLIOGRAFÍA.....	11

ANTEPROYECTO DE NORMA MEXICANA

CALIDAD DEL AGUA - MEDICIÓN DE NITRITOS, NITRATOS Y LA SUMA DE AMBOS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS MEDIANTE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO (FIA) CON DETECCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA

WATER QUALITY - MEASUREMENT OF NITRATE, NITRITE AND THE SUM OF BOTH IN NATURAL, WASTE AND TREATED WASTEWATERS BY FLOW INJECTION ANALYSIS (FIA) WITH SPECTROMETRIC DETECTION

0 INTRODUCCIÓN

El nitrato es una de las formas de nitrógeno de mayor interés en las aguas naturales, residuales y residuales tratadas, se presenta generalmente a nivel de trazas en aguas superficiales, pero puede alcanzar niveles elevados en aguas subterráneas. Se encuentra sólo en pequeñas cantidades en aguas residuales domésticas, pero puede encontrarse en concentraciones de hasta 30 mg de nitrato como N/L. El nitrato es un nutriente esencial para muchos autótrofos fotosintéticos y en algunos casos ha sido identificado como el determinante del crecimiento de éstos. Una concentración alta de nitratos es indicio de una etapa mayor de mineralización de los compuestos nitrogenados. En las aguas de algunos pozos suele encontrarse cantidades apreciables de nitratos, lo que es objetable desde el punto de vista sanitario.

Por otro lado el nitrito considerado como una etapa intermedia en el ciclo del nitrógeno puede estar presente en el agua como resultado de la descomposición biológica de materiales proteicos. En aguas superficiales crudas, las huellas de nitritos indican contaminación. También se puede producir el nitrito en las plantas de tratamiento o en los sistemas de distribución de agua, como resultado de la acción de bacterias sobre el nitrógeno amoniacal.

El nitrito puede entrar en un sistema de abastecimiento a través de su uso como inhibidor de corrosión en agua de proceso industrial. Se trata de un agente etiológico potencial de metahemoglobinemia. El ácido nitroso, que se forma de nitritos en solución ácida, puede reaccionar con aminas secundarias (RR'-NH) para formar nitrosaminas (RR'-N-N=O) muchas de las cuales son conocidas por ser potentes agentes carcinogénicos.

El nitrógeno de nitritos rara vez aparece en concentraciones mayores a 1mg/L aún en efluentes de plantas de tratamiento municipales. Su concentración en aguas superficiales y subterráneas es normalmente más baja de 0.1mg/L; debido a que el nitrógeno es un nutriente esencial para organismos fotosintéticos.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma internacional especifica el método para la medición de nitrito, nitrato o la suma de ambos [nitrato/nitrito], en varios tipos de agua tales como: subterránea, potable, superficial, natural y residual para un intervalo de concentración de 0,01 mg/L a 1 mg/L de nitrito y de 0,2 mg/L a 20 mg/L para nitrato/nitrito. El intervalo de aplicación puede ser modificado por variación de las condiciones de operación.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Notas

- 1 El agua de mar puede ser analizada con cambios en la sensibilidad y adaptación de las disoluciones acarreadoras y disoluciones de calibración a la salinidad de las muestras.
- 2 Nitrito: concentración de nitrito, expresado como nitrógeno.
Nitrito/nitrato: concentración de nitrito y nitrato, expresado como la suma de nitrógeno.

2 REFERENCIAS NORMATIVAS

Este anteproyecto de norma mexicana se basa en la siguiente ISO vigente.

ISO 13395:1996, Water quality- Determination of nitrite nitrogen and nitrate nitrogen and the sum of both by flow analysis (CFA and FIA) and spectrometric detection.

3 PRINCIPIO DEL MÉTODO

3.1 Suma de nitrito y nitrato, nitrito/ nitrato

De acuerdo con el análisis por inyección en flujo (FIA), la muestra es introducida en una disolución buffer de flujo continuo por medio de una válvula de inyección. El nitrato en la muestra es reducido con cadmio metálico a nitrito, el cual se mezcla con la disolución reactivo de ácido fosfórico que se encuentra fluyendo constantemente. El nitrito inicialmente presente y el nitrito de la reducción de nitrato se diazotiza con la sulfanilamida en una disolución ácida a una sal de diazonio acoplado con N-(1-naftil) etilendiamina diclorhidrato para formar un color rojo.

Los residuos que contengan cadmio en forma líquida o sólida deben ser eliminados adecuadamente.

3.2 Nitrito

El nitrito es determinado omitiendo la reducción de cadmio. Se determina directamente por la diazotización antes mencionada y la reacción de acoplamiento. La reacción química del nitrito es identificada como se menciona en el procedimiento convencional (ver ISO 6777).

3.3 Nitrato

La concentración de nitrato está dada por la diferencia de: nitrito/ nitrato - nitrito.

4 REACTIVOS

Si no se indica lo contrario, sólo se emplearán reactivos grado analítico y agua grado II establecida en la ISO 3696. El valor del blanco de los reactivos deberá ser revisado periódicamente (ver 9.3).

4.1 Ácido fosfórico, (H_3PO_4), $\rho = 1,71$ g/mL

4.2 Sulfanilamida, $C_6H_8N_2O_2S$

4.3 N-(1-naftil) etilendiamina diclorhidrato, $C_{12}H_{16}Cl_2N_2$

4.4 Nitrito de sodio ($NaNO_2$), secado a peso constante, por ejemplo $150^\circ C$



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

4.5 Nitrato de potasio (KNO_3), secado a peso constante, por ejemplo $150\text{ }^\circ\text{C}$

4.6 Imidazol ($\text{C}_3\text{H}_4\text{N}_2$), para la síntesis, o alternatively se puede emplear **cloruro de amonio** (NH_4Cl), secado a peso constante, por ejemplo $105\text{ }^\circ\text{C}$ (ver nota 3)

4.7 Ácido clorhídrico I (HCl) concentrado, $w=37\%$

4.8 Ácido clorhídrico II, $c(\text{HCl}) = 1\text{ mol/L}$

4.9 Disolución de sulfato de cobre I, $\rho(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 2,5\text{ g/L}$; esta disolución es estable

4.10 Disolución de sulfato de cobre II, $\rho(\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}) = 20\text{ g/L}$, esta disolución es estable

4.11 Dodecilpolietilenglicol éter [$\text{HO} - (\text{CH}_2\text{CH}_2 - \text{O})_n - \text{C}_{12}\text{H}_{21}$], surfactante, $\theta = 33\text{ }^\circ\text{C}$ a $41\text{ }^\circ\text{C}$, solución, $w = 30\%$

La disolución es estable por aproximadamente 4 semanas.

4.12 Cadmio granular (Cd), número de malla 0,3 mm a 1.5 mm (con una capacidad mínima de reducción del 90%; ver punto 5.1 y 5.2)

4.13 Disolución stock de imidazol, $c=0,25\text{ mol/L}$

Disolver en un vaso de precipitados de 1L 17,0 g de imidazol (4.6) en aproximadamente 900 mL de agua.

Agregar mientras se agita, ácido clorhídrico I (4.7) y ajustar el pH a 7,5 con ayuda de un electrodo de pH.

Transferir a un matraz volumétrico de 1L y llevar al volumen con agua.

La disolución es estable por 4 semanas si se almacena a un frasco ámbar a temperatura ambiente.

4.14 Disolución buffer

Mezclar 100 mL de disolución stock de imidazol (4.13) con 100 μL de disolución de sulfato de cobre I (4.9). Prepararla esta disolución el día de uso.

Nota 3. Alternatively se puede usar una disolución buffer de amonio, para ello disolver 85 g de cloruro de amonio (NH_4Cl) en agua y aforarlo a 1 L; ajustar el pH a 7,5 aproximadamente.

4.15 Disoluciones acarreadoras, C y B en figuras A.1, B.1 y C.1.

La tabla 1 muestra algunas de las opciones conocidas para la preparación de estas disoluciones.

Preparar las disoluciones, que contiene el surfactante (4.11), justo antes de su uso.

Las disoluciones C y B para FIA tienen que desgasificarse antes de su uso, por ejemplo a través de filtración por membrana (al vacío).

Tabla 1. Opciones para la preparación de las disoluciones C y B en figuras A.1, B.1 y C.1

Método	Parámetro	Contenido de disolución C (ver figuras A.1, B.1 y C.1)	Contenido de disolución B (ver figuras A.1, B.1 y C.1)
FIA	Nitrito	Agua	Agua ¹⁾ Buffer (4.14) ¹⁾ No solución B ¹⁾
	Nitrito/nitrato	Buffer (4.14)	Buffer (4.14) ¹⁾
1) Tres diferentes alternativas			



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

4.16 Disolución buffer de sulfato de cobre

Mezclar 20 mL de sulfato de cobre II (4.10) y 20 mL de disolución stock (4.13) en un vaso de precipitados de 50 mL. Prepararla la disolución el día de uso.

4.17 Disolución reactivo, R_1 (en figuras A.1, B.1 y C.1)

Disolver en un matraz aforado de 500 mL, 5g de sulfanilamida (4.2), 0,5 g de N-(1-naftil) etilendiamina diclorhidrato (4.3) en agua y agregar 50 mL de ácido fosfórico (4.1) y llevar a volumen con agua. Almacenar en un frasco ámbar, esta disolución es estable por una semana.

Nota 4. Para la preparación de esta disolución reactivo, puede usarse ácido clorhídrico (4.7, 4.8) en lugar de ácido fosfórico, siempre y cuando las características de rendimiento sean equivalentes. La disolución de sulfanilamida (4.2) y N-(1-naftil) etilendiamina diclorhidrato (4.3) pueden hacerse por separado y dosificarse en líneas diferentes. Antes de su uso, la disolución R_1 para FIA se tiene que desgasificar por ejemplo mediante filtración por membrana (al vacío).

4.18 Disolución stock de nitrito, $\rho_N = 100$ mg/L

Disolver 492,6 mg de nitrito de sodio (4.4) en agua y llevarlo al aforo en un matraz volumétrico de 1000 mL. La disolución es estable por lo menos dos semanas si se mantiene en un frasco de vidrio a 4 °C.

4.19 Disolución I de nitrito, $\rho_N = 20$ mg/L

Tomar una alícuota de 20 mL de la disolución stock (4.18) y llevarla al aforo en un matraz volumétrico de 100 mL con agua. Preparar la disolución el día de uso.

4.20 Disolución II de nitrito, $\rho_N = 1$ mg/L

Tomar una alícuota de 1 mL de la disolución stock (4.18) y llevarlo al aforo en un matraz volumétrico de 100 mL con agua. Preparar la disolución el día de uso.

4.21 Disolución I de nitrato, $\rho_N = 200$ mg/L

Disolver 144,4 mg de nitrato de potasio (4.5) en agua y posteriormente llevarlo al aforo de 100 mL. Preparar la disolución el día de uso.

4.22 Disolución II de nitrato, $\rho_N = 20$ mg/L

Tomar una alícuota de 10 mL de la disolución I de nitrato (4.21) y llevarla al aforo en un matraz volumétrico de 100 mL. Preparar la disolución el día de uso.

4.23 Disoluciones de calibración

Las disoluciones de calibración tienen que ser preparadas por dilución de las disoluciones anteriormente descritas en los puntos 4.19 a 4.22. Se recomienda tener cinco disoluciones de calibración por cada intervalo de trabajo.

Para nitrito:

Intervalo de trabajo II: 0,01 mg/L a 0,1 mg/L
Intervalo de trabajo I: 0,1 mg/L a 1,0 mg/L



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Para nitrito/nitrato:

Intervalo de trabajo II: 0,2 mg/L a 2 mg/L

Intervalo de trabajo I: 2 mg/L a 20 mg/L

Todas las disoluciones de calibración tienen que ser preparadas inmediatamente antes de su medición.

A continuación se presentan dos tablas para preparar diferentes estándares de calibración.

TABLA 2 - Preparación de disoluciones de calibración para nitrito

Concentración de nitrito (mg/L)	Volumen de la disolución II de nitrito (4.20) diluido con 100 mL de agua (mL)	Concentración de nitrito (mg/L)	Volumen de la disolución I de nitrito (4.19) diluido con 100 mL de agua (mL)
0,01	1	0,1	1
0,02	2	0,2	2
0,03	3	0,3	3
0,04	4	0,4	4
0,05	5	0,5	5
0,06	6	0,6	6
0,07	7	0,7	7
0,08	8	0,8	8
0,09	9	0,9	9
0,10	10	1,0	10

TABLA 3 - Preparación de disoluciones de calibración para nitrito/nitrato

Concentración de nitrato (mg/L)	Volumen de la disolución II de nitrato (4.22) diluido con 100 mL de agua (mL)	Concentración de nitrato (mg/L)	Volumen de la disolución I de nitrato (4.21) diluido con 100 mL de agua (mL)
0,2	1	2,0	1
0,4	2	4,0	2
0,6	3	6,0	3
0,8	4	8,0	4
1,0	5	10,0	5
1,2	6	12,0	6
1,4	7	14,0	7
1,6	8	16,0	8
1,8	9	18,0	9
2,0	10	20,0	10

5 EQUIPOS Y MATERIALES

Aparatos de laboratorio habituales y en particular los siguientes.

5.1 Sistema de análisis por inyección en flujo (FIA)

El sistema en general comprende de los siguientes componentes (ver figura A.1):



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

- Contenedores de reactivos.
- Bomba de baja pulsación.
- Tubería de bomba adecuada, si se requiere.
- Inyector de muestra con un volumen de inyección de 10 μ L a 300 μ L.
- Cadmio reductor con una eficacia mínima del 90%, por ejemplo una columna empacada con los gránulos de cadmio (4.12), de 4,0 mm de diámetro interno y una longitud mínima de 5 cm.
- Tubos de transporte y loops de reacción con diámetro interno de 0,5 mm a 0,8 mm con conexiones de tubería y conectores T de plástico químicamente inertes.
- Celda de diálisis, si es requerida, por ejemplo una membrana de celulosa; adecuada para la predilución de la muestra o la eliminación de interferencias.

Nota 5. La celda de diálisis debe ser después de la inyección (ver figura A.1). La disolución acarreadora C puede servir como un donante y también como una solución destinataria. Las velocidades de flujo de estas dos corrientes deben ser iguales

- Detector fotométrico con celda de flujo, longitud de onda de 520 nm a 560 nm.
- Unidad de grabación (por ejemplo: registro gráfico, integrador o impresora/plotter). En general que evalúen la señal de altura del pico.
- Automuestreador, si se requiere

5.2. Matraces aforados con capacidad nominal de 100 mL, 500 mL y 1000 mL

5.3 Pipetas volumétricas con capacidad nominal de 100 μ L, 1mL a 10mL, 20 mL, 50 mL y 100 mL

5.4 Vasos de precipitados con capacidad nominal de 25 mL, 50 mL y 1 L

5.5 Jeringa con capacidad nominal de 25 mL

5.6 Juego de filtro de membrana, poro 0,45 μ m

5.7 Electrodo de pH

6 VERIFICACIÓN DEL SISTEMA DE FLUJO

Una disolución de calibración (4.23) con una concentración de 0,05 mg/L de nitrito, o 1 mg/L para nitrato, medida en el sistema FIA que se ajustada al intervalo de trabajo más bajo, debe de dar una absorbancia de al menos 0,04 por 10 mm de longitud de paso.

NOTA 7: Si el detector fotométrico no da ninguna lectura de absorbancia, la absorbancia puede ser entonces determinada por comparación con un espectrofotómetro externo.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

7 MUESTREO Y PREPARACION DE LAS MUESTRAS

Todo el material que esté en contacto con la muestra deberá ser enjuagado arduamente con agua antes de usarse y enjuagado varias veces (Ver ISO 5667-3.)

Si sólo se va a determinar el nitrito, usar una botella de vidrio o de polietileno. Proceder de la misma forma si el nitrato va a ser determinado, y si la concentración de nitrito está al menos en el mismo intervalo de trabajo que la concentración del nitrato.

Si se determinará sólo nitrito/nitrato o nitrato en muestras con concentraciones de nitrito menores al intervalo de trabajo respectivo de nitrito/nitrato, se recomienda material de polialquileno y politetrafluoroetileno (PTFE) para las muestras. Acidificar las muestras con ácido clorhídrico (4.7 y 4.8) a pH 2 aproximadamente y almacenarlas de 2 °C a 5 °C y analizarlas dentro de 24 horas.

Como una excepción, las muestras pueden ser almacenadas en un congelador a -20 °C aproximadamente por 8 días, siempre y cuando la aplicabilidad de esta preservación ha sido previamente verificada.

Si una pérdida de nitrato/nitrito es excluida, filtrar las muestras si contienen partículas con un tamaño > 0,1 mm debido al riesgo de atascar los tubos transportadores.

8 INTERFERENCIAS

8.1 Interferencias de carácter general

El nitrito no puede ser estabilizado por lo tanto debe ser analizado inmediatamente (ver cláusula 7).

Las partículas de materia presentes en la muestra pueden llevar a la obstrucción de los tubos de transporte e interferir con la medición fotométrica. Las partículas > 0,1 mm puede ser removidas por filtración en membrana y las partículas más pequeñas se pueden eliminar adecuadamente mediante diálisis.

Con el fin de eliminar una matriz orgánica interferente (compuestos con una masa molar superior), la muestra puede ser dializada si es necesario en un proceso en línea. Como una alternativa, la muestra puede ser filtrada a través carbón activado, los cambios previstos de concentración de nitrito o nitrato en la muestra se pueden descartar.

La auto-absorción de la muestra puede ser compensada por medición, en adición a la señal de la muestra (9,5), la señal de la muestra sin el aditivo de los reactivos. En este caso, la diferencia de las dos respuestas se utiliza para la evaluación (de acuerdo con la cláusula 10).

Antes de la medición, diluir las muestras con una concentración total de sal > 30 g/L.

8.2 Interferencias con la reducción del nitrato a nitrito

Las interferencias pueden ocurrir si la muestra después de ser mezclada con la disolución buffer, no llega a un pH de 6,5 a 7,5. Esto sucede con muestras fuertemente ácidas, básicas o tampón. En este caso, la muestra deberá ser tratada adecuadamente antes de ser medida, mediante bases o ácidos a fin de llegar al pH antes mencionado (ver 5.1 y 5.2).

8.3. Interferencias con la formación del colorante azo

Concentraciones de surfactante > 10 mg/L pueden interferir con la determinación; esta interferencia puede prevenirse a través de la diálisis de la muestra, si es necesario hacer el proceso en línea.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

9 PROCEDIMIENTO

9.1 Preparación, activación y verificación del cadmio reductor

9.1.1 Columna de cadmio con granulado

Colocar una cantidad suficiente del cadmio granular (4.12) para llenar la columna (ver 5.1) en un vaso de precipitados con capacidad nominal de 25 mL. Agitar con ácido clorhídrico II (4.8) hasta que la superficie de los granulos muestre un brillo metálico.

Remover el ácido por lavado con agua.

Decantar el agua y agitar dos veces el granulado por aproximadamente dos minutos con ayuda de la disolución de sulfato de cobre II (4.10). La superficie de los granulos se torna negra.

Decantar y con cuidado lavar con agua.

Llenar la columna con el granulo, evitando la formación de burbujas de aire y cavidades grandes, tapar los extremos de la columna con fibra de vidrio.

Montar la columna en el sistema de flujo y activar la reducción por aplicación de la disolución I de nitrato (4.21) o II (4.22) tres veces.

Repetidamente medir la disolución de calibración (4.23) más alta permisible que se tiene para el intervalo de trabajo deseado de nitrito/nitrato (2mg/L o 20 mg/L), hasta obtener resultados estables.

NOTA 8. La columna de cadmio puede ser almacenada, libre de burbujas de aire, en la disolución stock de imidazol (4.13). La columna antes de la reutilización debe ser estabilizada y activada como se describe anteriormente.

9.1.2 Tubo de cadmio

Usar la jeringa (5.5) y aspirar aproximadamente 5 mL de la disolución buffer de sulfato de cobre (4.16) en el tubo de cadmio y dejarla actuar por 5 min.

Repetir el procedimiento, evitando la formación y entrada de burbujas de aire.

Usar la jeringa, aspirar aproximadamente 20 mL de solución stock de imadazol (4.13) a través del tubo y permitir que reaccione, evitando la formación de burbujas de aire.

Ensamblar la columna en el sistema de flujo, activar y estabilizar como se describe en el punto 9.1.1

NOTA 9. El tubo de cadmio puede ser almacenado, libre de burbujas de aire, en una disolución stock de imidazol (4.13). Antes de la medición, estabilizar o tratar (ver 9.1.3) con disolución buffer de sulfato de cobre (4.16), si es requerido.

9.1.3 Checar la capacidad de reducción

Aplica únicamente para la determinación de nitratos o nitrito/nitrato.

Secuencialmente analizar una disolución de nitrato y nitrito para una concentración de nitrógeno de 2 mg/L del intervalo de trabajo II o 20 mg/L nitrato/nitrito para el intervalo de trabajo I, y comparar los valores de medición obtenidos.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Transporte la disolución reactivo (4.17) a través del flujo del sistema con el cadmio reductor incorporado y permitir que la línea base se estabilice.

Por ejemplo comprobar el intervalo de trabajo I para nitritos/nitratos, usando la disolución I de nitrito (4.19) y la disolución de nitrato II (4.22).

Si el valor medido para nitrato es inferior al 90% del valor medido de nitrito, se tomarán medidas adecuadas para obtener una capacidad de reducción de al menos 90% de acuerdo a 9.1.1 y 9.1.2.

Verificar la capacidad de reducción cada que se analice una serie de muestras.

9.2 Preparación de la medición

Ensamblar el sistema de flujo de acuerdo al analito (nitrito/nitrato o nitrito) a determinar; ver anexo A.

Anterior a la medición de nitrito, continuamente correr las disoluciones reactivo por aproximadamente 10 min a través del sistema de flujo. Para la determinación de nitrito/nitrato, correr las disoluciones reactivo a través del sistema por aproximadamente 10 min sin el Cd reductor y después 10 min aproximadamente con el Cd reductor. Estabilizar la línea base.

El sistema está listo cuando la línea base ya no muestra ninguna tendencia. A continuación, realizar los pasos 9.3 a 9.5.

9.3 Monitoreo del blanco de reactivos

Permitir que se estabilice la línea base.

En lugar de la disolución de buffer y disolución reactivo R1 transportar agua por dos minutos y registrar los cambios en la señal de medida.

Si la absorbancia cambia por más de 0,015 por 10 mm del paso de longitud esto puede ser debido a que el agua o las disoluciones reactivo empleadas están contaminadas. Tomar las medidas adecuadas para eliminar las interferencias.

Transportar las disoluciones reactivo nuevamente.

9.4 Calibración

Seleccionar el respectivo intervalo de trabajo para nitrito o nitrito/nitrato y preparar las disoluciones de calibración (4.23) para el intervalo de trabajo seleccionado. Cada intervalo de trabajo requiere su propia calibración.

Calibrar por adición secuencial las disoluciones de calibración y un blanco.

Anterior a la calibración, el instrumento tiene que estar en cero, si es necesario seguir las instrucciones del fabricante.

Determinar los valores de medida para las disoluciones de calibración usando las instrucciones del fabricante, siempre y cuando no contradigan las especificaciones de la norma internacional.

Las condiciones de prueba para la calibración y la medición de muestras son las mismas. La magnitud de la señal de medida es proporcional a la concentración de nitrito o nitrito/nitrato. Establecer la regresión lineal para la serie de medidas obtenidas.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Ecuación general.

$$y = b \cdot \rho_N + a \quad (1)$$

Donde:

y es el valor medido, en términos de unidades relacionadas con el instrumento (por ejemplo, la altura del pico en milímetros o milivoltios);

b es la pendiente de la curva de calibración en términos de unidades relacionadas con el instrumento, unidades de litro por miligramo;

ρ_N es la concentración, en miligramos por litro de nitrito o nitrito/nitrato;

a es la ordenada al origen de la curva de calibración, en términos de unidades relacionadas con el instrumento.

9.5 Medición de la muestra

Analizar las muestras, de acuerdo a la cláusula 7; de la misma manera que las disoluciones de calibración (4.23), ver anexo A.

Si las concentraciones de las muestras que se determinan superan el intervalo de trabajo seleccionado diluirlas o emplear otro intervalo de trabajo.

Después de por lo menos 20 muestras medidas, comprobar la calibración del sistema, leyendo nuevamente la disolución de calibración inferior y superior del intervalo de trabajo respectivo. Si los resultados de estas dos disoluciones se encuentran fuera del intervalo de confianza de la curva de calibración volver a calibrar el sistema. Comprobar la capacidad de reducción (9.1.3) de nuevo o hacer una nueva calibración (9.4), si es necesario.

Después de la medición, guardar el cadmio reductor en una disolución de imidazol que esté libre de oxígeno (ver notas 8 o 9).

10 EVALUACIÓN

Determinar la concentración de la disolución de medida usando el valor de medida como se describe en el punto 9.5 de la función de calibración [ecuación (1), 9.4]

Para la evaluación usar la función apropiada. No se extrapole más allá del intervalo de trabajo seleccionado.

Calcular la ρ_N usando la siguiente ecuación (2):

$$\rho_N = \frac{y-a}{b} \quad (2)$$

Donde

ρ_N es la concentración, en miligramos por litro, de nitrito o nitrito/nitrato en la muestra.

y , a y b están definidos en la ecuación (1).



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

11 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Reportar los resultados a un máximo de dos cifras significativas.

Ejemplos

Nitrito: $2,9 \times 10^{-1}$ mg/L

Nitrato: 3,0 mg/L

Nitrito/nitrato: 4,1 mg/L

12 INFORME DE PRUEBA

El informe deberá contener la siguiente información:

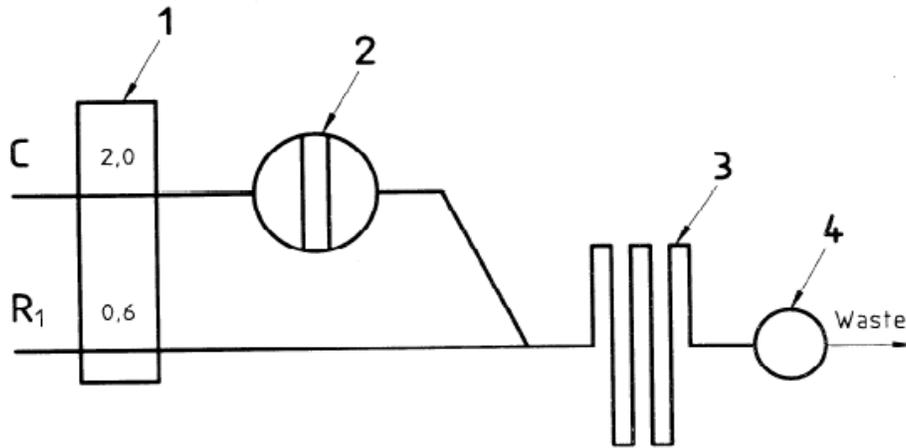
- a) una referencia a esta norma internacional;
- b) la identidad de la muestra de agua;
- c) especificación del procedimiento empleado;
- d) descripción del pretratamiento de la muestra;
- e) descripción del tipo de instrumento o de las condiciones de flujo;
- f) expresión de los resultados de acuerdo a la cláusula 11;
- g) precisión y exactitud de los resultados, si está disponible;
- h) cualquier desviación de este método y todos los acontecimientos que pueden haber influido en el resultado.

13 BIBLIOGRAFÍA

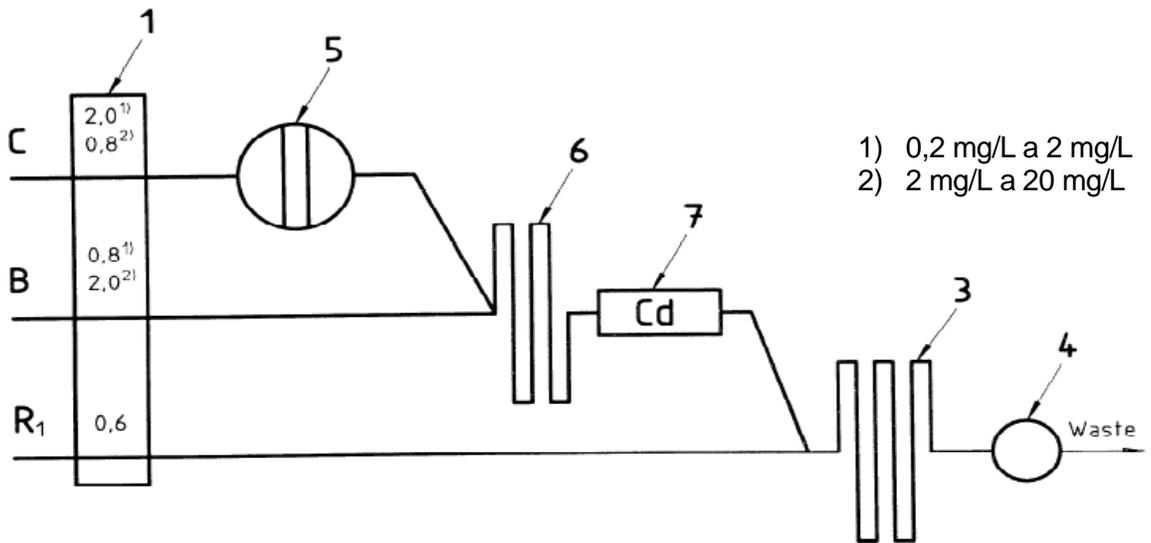
- [1] RUZICKA J. and HANSEN E. H., *Flow Injection Analysis*, Wiley & Sons, (2nd Edition). (1988)
- [2] MÖLLER J., *Flow Injection Analysis*, Analytiker Taschenbuch, Bd.7, Springer Verlag (1988), pp. 199-275
- [3] SKEGGS L. T., *Anal.Chem.* 38(6) (1966) p. 31 A
- [4] NYDAHL, F. *Talanfa* 23 (1976), pp. 349-357.
- [5] GINE, M.F., BERGAMIN, H., ZAGATTO, E.A.G. and REIS, B.F. *Anal. Chimica Acta*, 114 (1980), pp. 191-197.
- [6] VAN STADEN, J.F., JOUBERT, A.E. and VAN VLIET, H.R. *fresen. Z. Anal. Chem.* 325 (1986), pp. 150-152.
- [7] L'Association française de normalisation (AFNOR), NF T 90-012 Essais des eaux - Dosage des nitrates et des nitrites – Méthode automatique par spectrométrie d'absorption moléculaire, décembre 1987.
- [8] SHINN, M.B. *Industr. Eng. Chem., Anal. Ed.* 13 (1941), p. 33.
- [9] NORWITZ, G. and KELIHER, P.N. *Analyst* 90 (1985), p. 689 and *Analyst* 91 (1986), p. 1033.
- [10] FOX, J.B. *Anal. Chem.* 51 (1979), p. 1493.
- [11] WINTER, B. and PAPKE, G. *Laborpraxis* 16 (1992), p. 804.

Anexo A
(Informativo)

Ejemplos del sistema FIA (5.1) para la determinación de nitritos y nitritos/nitratos



a) Determinación de nitrito.



b) Determinación de nitrito/nitrato.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Significado de las claves:

- B** Disolución buffer (4.14, 4.15)
- C** Disolución acarreadora (4.15)
- R1** Disolución reactivo (4.17)
- 1** Bomba (velocidad de flujo en mL/min)
- 2** Inyector
100 μ L para el intervalo de trabajo de 0,1 mg/L a 1,0 mg/L de nitrito
300 μ L para el intervalo de trabajo de 0,01 mg/L a 0,1 mg/L de nitrito
- 3** Loop de reacción.
Longitud 90 cm, diámetro interno 0,5 mm
- 4** Detector.
Longitud de onda de 520 nm a 560 nm y celda de flujo de 1 cm.
- 5** Inyector
10 μ L a 40 μ L para el intervalo de trabajo de 2 mg/L a 20 mg/L de nitrito/nitrato
100 μ L para el intervalo de trabajo de 0,2 mg/L a 2 mg/L de nitrito/nitrito
- 6** Loop de reacción
Longitud 30 cm, diámetro interno 0,5 mm
- 7** Columna de cadmio.
Longitud 5 cm, diámetro interno 4 mm

México D.F.



ANTEPROYECTO DE NORMA MEXICANA

**CALIDAD DEL AGUA - MEDICIÓN DE CROMO (VI) EN AGUAS
NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS
MEDIANTE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO (FIA) CON
DETECCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA**

**WATER QUALITY - MEASUREMENT OF CHROMIUM (VI) IN
NATURAL, WASTE AND TREATED WASTEWATERS BY FLOW
INJECTION ANALYSIS (FIA) WITH SPECTROMETRIC DETECTION**



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

ÍNDICE DEL CONTENIDO

0 INTRODUCCIÓN.....	1
1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN.....	1
2 REFERENCIAS NORMATIVAS.....	1
3 PRINCIPIO.....	1
4 INTERFERENCIAS.....	2
5 REACTIVOS.....	2
6 EQUIPOS Y MATERIALES.....	5
7 MUESTREO Y PREPARACION DE LA MUESTRA.....	5
8 PROCEDIMIENTO.....	5
9 EVALUACIÓN.....	7
10 EXPRESIÓN DE RESULTADOS.....	7
11 INFORME DE PRUEBA.....	7
12 BIBLIOGRAFÍA.....	8

ANTEPROYECTO DE NORMA MEXICANA

CALIDAD DEL AGUA - MEDICIÓN DE CROMO (VI) EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS MEDIANTE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO (FIA) CON DETECCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA

WATER QUALITY - MEASUREMENT OF CHROMIUM (VI) IN NATURAL, WASTE AND TREATED WASTEWATERS BY FLOW INJECTION ANALYSIS (FIA) WITH SPECTROMETRIC DETECTION

0 INTRODUCCIÓN

Las sales de cromo hexavalente Cr (VI) se utilizan ampliamente en procesos industriales del acero, pinturas, colorantes y cerámicas. Las sales de cromo trivalente se utilizan en la industria textil para colorantes, en la industria de la cerámica y el vidrio, en la industria curtidora y en fotografía. El cromo en sus dos estados de oxidación se utiliza en diversos procesos industriales por tanto puede estar presente en las aguas residuales de dichas empresas.

El estado hexavalente es tóxico para los humanos, los animales y la vida acuática. Puede producir cáncer de pulmón cuando se inhala y fácilmente produce sensibilización en la piel. Sin embargo no se conoce si se produce cáncer por la ingestión de cromo en cualquiera de sus estados de oxidación.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método especifica el análisis por inyección en flujo (FIA) para la medición de cromo (VI) en aguas naturales, residuales y residuales tratadas. El método se aplica a los siguientes intervalos de trabajo.

FIA: 0,02 mg/L a 0,2 mg/L y de 0,2 mg/L a 2 mg/L para aguas naturales y residuales.

El intervalo puede cambiar al variar las condiciones de operación.

El agua de mar puede ser analizada por este método, pero con ciertos cambios en la sensibilidad y después de la adaptación de los reactivos y de las disoluciones de calibración a la salinidad de las muestras.

2 REFERENCIAS NORMATIVAS

ISO 23913:2006, Determination of chromium (VI) — Method using flow analysis (FIA and CFA) and spectrometric detection.

3 PRINCIPIO

El cromo (VI) reacciona con el 1,5-difenilcarbazida (DPC) formando el complejo cromo-1,5-difenilcarbazona de color rojo-purpura. La absorbancia de este complejo es medida a 544 ± 10 nm (absorbancia máxima a 544nm).



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

4 INTERFERENCIAS

Los agentes reductores en la muestra pueden conducir a una concentración negativa de cromo (VI).

El nitrito no hace interferencia con el método bajo las condiciones de reacción.

Las concentraciones de sulfuro que exceden 0,2 mg/L interfieren con el método.

Los agentes oxidantes para la desinfección en la producción de agua potable como el cloro, dióxido de cloro, ozono y peróxido de hidrogeno no interfieren con el método siempre y cuando su concentración no exceda la concentración presentada en la tabla 1.

Tabla 1. Concentraciones de los agentes desinfectantes que no producen una interferencia significativa en las condiciones de medición dadas

Desinfectante	Concentración mg/L
Cloro	0,6
Dióxido de cloro	0,4
Peróxido de hidrogeno	0,2
Ozono	0,1

Otros agentes oxidantes como el ácido peroxoacético, o permanganato pueden interferir en la determinación de cromo (VI). Esto se considerará en los resultados.

Las muestras fuertemente alcalinas o buffer pueden provocar un sesgo negativo. Este efecto puede ser probado por la adición de una parte de la mezcla ácida a 3 partes de la muestra. Esta mezcla deberá tener un pH <1. De lo contrario, tratar previamente la muestra con ácido (HCl, H₂SO₄) hasta que la prueba mencionada conduzca a resultados satisfactorios.

Los iones de hierro (III) que exceden 10 mg/L interfieren con los métodos. En el intervalo de 10 mg/L a 100 mg/L, los iones de hierro (III) pueden dar lugar a un sesgo negativo de hasta el 8%.

Las muestras coloreadas o turbias pueden causar un sesgo. Para evitar el sesgo, medir la muestra otra vez usando la solución 5.17 en lugar de la disolución 5.10 para la alimentación de la línea R2 en la figura A.1 a A.3. Restar el resultado de esta medición y_s del término y en la ecuación (2).

5 REACTIVOS

Los reactivos empleados deben ser grado reactivo analítico a no ser que se especifique otra cosa.

5.1 Agua destilada, que cumpla con el grado II definido en la ISO 3696

5.2 Ácido sulfúrico $\rho(\text{H}_2\text{SO}_4) = 1,84 \text{ g/mL}$

5.3 Ácido ortofosfórico $\rho(\text{H}_3\text{PO}_4) = 1,71 \text{ g/mL}$

5.4 Disolución surfactante, dodecilpolietilenglicol éter acuoso $[\text{HO}-(\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{O})_n\text{C}_{12}\text{H}_{21}]$ al 30 %

5.5 Mezcla ácida para FIA. (R1 en figura A.1)

Agregar a un matraz aforado de 250 mL, aproximadamente 125 mL de agua (5.1). Agregar 29 mL de H₂SO₄ (5.2) y 31 mL H₃PO₄ (5.3), mezclar y llevar al aforo con agua (5.1). La disolución es estable por un año si se almacena a temperatura ambiente.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

5.6 1,5-Difenilcarbazona, $C_{13}H_{14}N_4O$

5.7 Acetona, C_3H_6O

5.8 1-propanol, C_3H_8O

5.9 Dicromato de potasio, $K_2Cr_2O_7$

5.10 Disolución de difenilcarbazona (R2 en figuras A.1)

Disolver en un vaso de precipitados de 250 mL 0,43g de 1,5-difenilcarbazona (5.6) en 9 mL de acetona (5.7) y 9 mL de 1-propanol (5.8) y añadir 125 mL de 1-propanolol (5.8). Transferir la mezcla a un matraz aforado de 250 mL y llevar al aforo con agua (5.1).

La disolución es estable por una semana si se almacena en un frasco de cristal ámbar a una temperatura de 2°C a 6°C. Si ocurre precipitación filtrar la disolución.

Desgasifique cuidadosamente todas las disoluciones reactivos antes de su uso; por ejemplo a través de filtración al vacío.

5.11 Disolución acarreadora para el sistema FIA (C en figura A.1)

Usar agua (5.1).

El acarreador y las muestras deberán tener la misma acidez. Para muestras sin preservadores; el agua deberá emplearse como el acarreador. De acuerdo a las referencias 5 y 6 de la bibliografía.

5.12 Disolución stock de cromo (VI), $\rho [Cr(VI)] = 1\ 000\ mg/L$

Peligro – El dicromato de potasio es cancerígeno.

Disolver 2,829 g de $K_2Cr_2O_7$ (5.9) en agua (5.1) en un matraz volumétrico de 1000 mL y llevar al aforo. La disolución es estable por un año si se almacena a temperatura ambiente.

1 mL de esta disolución contiene 1mg de Cr (VI).

5.13 Disolución estándar I de cromo (VI), $\rho [Cr(VI)] = 10\ mg/L$

Con una pipeta volumétrica tomar una alícuota de 1 mL de la disolución stock de cromo (VI) (5.12) y llevar al aforo con agua (5.1) en un matraz volumétrico de 100 mL.

Preparar la disolución el día de uso. La disolución se puede almacenar durante el día de uso a temperatura ambiente.

1 mL de esta disolución contiene 10 μg de Cr.

5.14 Disolución estándar II de cromo (VI), $\rho [Cr(VI)] = 1\ mg/L$

Con una pipeta volumétrica tomar una alícuota de 10 mL de la disolución estándar I de cromo (VI) (5.13) y llevar al aforo con agua (5.1) en un matraz volumétrico de 100 mL.

Preparar la disolución el día de uso. La disolución se puede almacenar durante el día de uso a temperatura ambiente.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

1 mL de esta disolución contiene 1 µg de Cr.

5.15 Disolución estándar III de cromo (VI), $\rho[\text{Cr(VI)}] = 0,1 \text{ mg/L}$

Con una pipeta volumétrica tomar una alícuota de 10 mL de la disolución estándar II de cromo (VI) (5.14) y llevar al aforo con agua (5.1) en un matraz volumétrico de 100 mL.

Preparar la disolución el día de uso. La disolución se puede almacenar durante el día de uso a temperatura ambiente.

1 mL de esta disolución contiene 0,1 µg de Cr.

5.16 Disoluciones de calibración

Preparar las disoluciones de calibración mediante la dilución de las disoluciones 5.13 a 5.15 de acuerdo con el intervalo requerido. Por ejemplo ver las tablas 2, 3 y 4. Se recomiendan por lo menos cinco estándares de calibración por intervalo de trabajo.

Tabla 2. Ejemplo para la preparación de 10 disoluciones de calibración para el intervalo de trabajo de 2 µg/L a 20 µg/L de Cr

Mililitros de la disolución estándar III de cromo (VI) (5.15) diluidos a 100 mL	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Concentración en µg/L	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20

Tabla 3. Ejemplo para la preparación de 10 disoluciones de calibración para el intervalo de trabajo de 20 µg/L a 200 µg/L de Cr

Mililitros de la disolución estándar II de cromo (VI) (5.14) diluidos a 100 mL	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Concentración en µg/L	20	40	60	80	100	120	140	160	180	200

Tabla 4. Ejemplo para la preparación de 10 disoluciones de calibración para el intervalo de trabajo de 200 µg/L a 2000 µg/L de Cr

Mililitros de la disolución estándar I de cromo (VI) (5.13) diluidos a 100 mL	2	4	6	8	10	12	14	16	18	20
Concentración en µg/L	200	400	600	800	1000	1200	1400	1600	1800	2000

Preparar las disoluciones de calibración el día de uso. Las disoluciones se pueden almacenar durante el día de uso a temperatura ambiente.

5.17 Disolución para la medición de las absorbancias de las muestras (opcional para las muestras coloridas o turbias)

En un matraz aforado de 250 mL mezclar 9 mL de acetona (5.7), 9 mL de 1-propanol (5.8) y 125 mL de 1-propanol (5.8). Llevar al aforo con agua (5.1)

La mezcla es estable por un mes si se almacena de 2°C a 6°C.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

6 EQUIPOS Y MATERIALES

Aparatos habituales de laboratorio y en particular lo siguientes.

6.1 Equipo de análisis por inyección en flujo (FIA).

El sistema en general consiste de los siguientes componentes (ver figura A.1).

6.1.1 Contenedores para las disoluciones reactivo.

6.1.2 Bomba de baja pulsación.

6.1.3 Manifold con tubería de transmisión con diámetro interno de 0,5 mm a 0,8 mm, conectores y piezas en T de materiales químicamente inertes.

6.1.4 Detector fotométrico de flujo, longitud de onda (544 ± 10) nm; máxima 544 nm.

6.1.5 Unidad de visualización, tal como una PC, impresora o plotter; en general que evalúen las señales de altura del pico.

6.1.6 Automuestreador, si es requerido.

6.2 Materiales adicionales.

6.2.1 Matraces volumétricos con capacidad nominal de 100 mL, 200 mL y 1000 mL.

6.2.2 Pipetas volumétricas con capacidad nominal de 1mL, 2mL, 5 mL y 10mL.

6.2.3 Filtros de membrana de 0,45 μ m.

6.2.4 Balanza analítica.

7 MUESTREO Y PREPARACION DE MUESTRAS

Preservar las muestras como lo especifica la ISO 5667-3. Las muestras para la determinación de Cr (VI) pueden ser almacenadas por un máximo de 24 h de 2°C a 5°C. Directamente antes del análisis acidificar las muestras añadiendo 10 mL de ácido sulfúrico 0,5 mol/L por litro de muestra. El pH deberá estar aproximado a 3. Si es necesario filtrar la muestra acidificada.

No tratar las muestras para la determinación de cromo (VI) mediante la adición de reactivos (por ejemplo, formaldehído) con el fin de evitar el cambio de las especies de cromo por reducción.

8 PROCEDIMIENTO

8.1 General

Utilizar el procedimiento especificado por el fabricante del analizador, siempre y cuando no esté en contradicción con esta norma internacional.

8.2 Preparación para el análisis

Configurar el analizador de flujo para el procedimiento FIA (ver figura A.1).



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Bombear el agua como la muestra (línea S en la fig. A.1) y los reactivos por un máximo de 10 min.

El pH de la mezcla de reacción (ver la línea W en la fig. A.1) debe ser menor a 1.

El analizador estará listo para medir las muestras cuando la línea base esté estable y se prosigue con los pasos 8.3 a 8.5.

8.3 Requisitos de calidad para el sistema de medición, comprobar el rendimiento del instrumento

8.3.1 Comprobar el blanco de reactivos

Esperar a que se estabilice la línea base.

Reemplazar los reactivos R₁ y R₂ con agua (5.1).

Si la absorbancia por centímetro es reducida por más de 0,01 cm⁻¹ los reactivos o el agua pueden estar contaminados. Tomar las medidas adecuadas para eliminar la interferencia antes de iniciar el análisis.

Bombear de nuevo las disoluciones reactivo.

Si el detector fotométrico FIA no permite ninguna de las lecturas de absorbancia, la absorbancia puede determinarse por comparación con un espectrofotómetro de medición externo.

8.4 Calibración.

Seleccionar el intervalo de trabajo deseado y las disoluciones de calibración adecuadas. Utilizar por lo menos 5 disoluciones de calibración por cada intervalo de trabajo. Antes de empezar el análisis ajustar la señal a cero.

Calibrar de forma secuencial la aplicación de las disoluciones de calibración y los blancos reactivo.

Obtener los valores de medida correspondientes a las disoluciones de calibración aplicadas. La señal de salida es proporcional a la concentración cromo (VI).

Asegurarse de que las condiciones de análisis para las disoluciones de calibración y las muestras son idénticas.

La siguiente ecuación (1) se aplica para la calibración lineal.

$$y = a + b \cdot p$$

Donde

y es el valor medido, en las unidades relacionadas con el sistema;

b es la pendiente de la curva de calibración, en las unidades relacionadas con el sistema, litros por microgramos (L/μg) o litros por miligramos (L/mg);

p es la concentración de cromo (VI), en microgramos por litro (μg/L) o en miligramos por litro (mg/L);

a es la ordenada al origen de la curva de calibración, en las unidades relacionadas con el sistema.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

8.5 Medición

Analizar las muestras, preparadas de acuerdo a la cláusula 7, en la misma forma que las disoluciones de calibración (5.16).

Si la concentración de la muestra es mayor al intervalo de trabajo seleccionado, analizarla en un intervalo diferente o diluir la muestra.

Después de por lo menos 20 muestras medidas, comprobar la calibración del sistema, leyendo nuevamente la disolución de calibración inferior y superior del intervalo de trabajo respectivo. Si los resultados de estas dos disoluciones se encuentran fuera del intervalo de confianza de la curva de calibración volver a calibrar el sistema.

9 EVALUACIÓN

Calcular las concentraciones de cromo (VI) en las muestras usando la ecuación (2):

$$p = (y - a)/b$$

En el caso de muestras coloridas o turbias, usar la ecuación (3):

$$p = (y - y_s - a)/b$$

Donde

y_s es el valor de la medición con la disolución 5.17 en lugar de la disolución 5.10, en unidades relacionadas con el sistema.

Para la explicación de los otros símbolos, ver la ecuación (1).

No extrapolar una curva de calibración más allá del intervalo de trabajo seleccionado.

10 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Reportar los resultados en $\mu\text{g/L}$ o mg/L a no más de 2 cifras significativas.

Ejemplos:

Cr (VI) : 8,9 $\mu\text{g/L}$

Cr (VI) : 1,5 mg/L

11 INFORME DE PRUEBA

En el informe de la prueba se deberá especificar lo siguiente:

- a) Referencia de esta norma internacional (ISO 23913:2006)
- b) Identidad de la muestra.
- c) Esquema del procedimiento realizado.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

- d) Procedimiento del análisis utilizado (FIA).
- e) Preparación de muestras, en su caso.
- f) Descripción de los equipos usados.
- g) Resultados de acuerdo con la cláusula 10.
- h) Cualquier desviación de esta norma internacional o cualquier otra circunstancia que pudiera afectar al resultado.

12 BIBLIOGRAFÍA

- [1] RUZICKA, J. and HANSEN, E.H. *Flow Injection Analysis*, Wiley & Sons, 2nd edition, 1988.
- [2] MÖLLER, J. *Flow Injection Analysis*, Analytiker Taschenbuch, Bd.7, Springer Verlag, 1988, pp. 199-275.
- [3] DE ANDRADE, J.C., ROCHA, J.C. and BACCAN, N. On-line oxidation of Cr(III) to Cr(VI) for use with the flow injection analysis technique. *Analyst*, 109, 1984, pp. 645-647.
- [4] DE ANDRADE, J.C., ROCHA, J.C. and BACCAN, N. Sequential spectrophotometric determination of chromium (III) and chromium (VI) using flow injection analysis. *Analyst*, 110, 1985, pp. 197-199.
- [5] SPERLING, M., YIN, X. and WELZ, B. Differential determination of chromium(VI) and total chromium in natural waters using flow injection on-line separation and preconcentration electrothermal atomic absorption spectrometry. *Analyst*, 117, 1992, pp. 629-635.
- [6] PAVEL, J., KLIMENT, J., STOERK, S. and SUTER, O. Preservation of traces of chromium (VI) in water and waste water samples. *Fresenius Z. Anal. Chem.*, 321, 1985, pp. 587-591.

Anexo A.
Sistema de análisis por inyección en flujo para la determinación de cromo (VI).

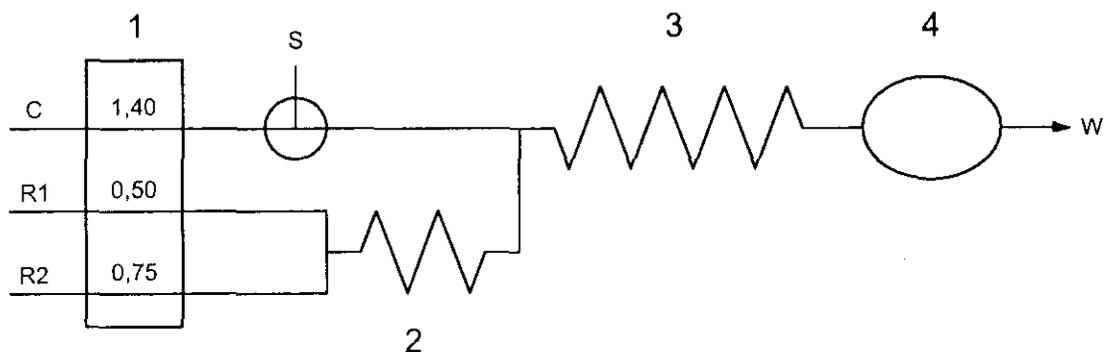


FIGURA A.1 Sistema FIA para la determinación de cromo (VI) en los intervalos de concentración de 0,02 mg/L a 0,2 mg/L y 0,2 mg/L a 2mg/L.

Significado de las claves:

- 1 Bomba, velocidad de flujo en mililitros por minuto, mL/min
- S Inyector de muestra; volúmenes de inyección:
200 μ L para el intervalo de trabajo de 20 μ g/L a 200 μ g/L de Cr (VI)
30 μ L para el intervalo de trabajo de 0,2 mg/L a 2 mg/L de Cr (VI)
- 2 Loop de reacción, longitud: 100 cm, diámetro interno: 0,5 mm
- 3 Loop de reacción, longitud: 150 cm, diámetro interno: 0,5 mm
- 4 Detector, longitud de onda: 544 nm \pm 10 nm, paso de luz óptico: 10 mm
- C Acarreador (5.11), velocidad de flujo 1,4 mL/min
- R1 Mezcla ácida para FIA (5.5.1), velocidad de flujo 0,5 mL/min
- R2 Disolución de difenilcarbazida (5.10), o si la absorbancia de la muestra y_s se debe medir, disolución 5.17, velocidad de flujo 0,75 mL/min
- W Mezcla de reacción después de la medición; pH<1



ANTEPROYECTO DE NORMA MEXICANA

**CALIDAD DEL AGUA - MEDICIÓN DE ORTOFOSFATOS EN
AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS
MEDIANTE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO (FIA) CON
DETECCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA**

**WATER QUALITY - MEASUREMENT OF ORTHOPHOSPHATE IN
NATURAL, WASTE AND TREATED WASTEWATERS BY FLOW
INJECTION ANALYSIS (FIA) WITH SPECTROMETRIC DETECTION**



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

ÍNDICE DEL CONTENIDO

0 INTRODUCCIÓN.....	1
1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN.....	1
2 REFERENCIAS NORMATIVAS.....	1
3 INTERFERENCIAS.....	1
4 PRINCIPIO.....	2
5 REACTIVOS.....	2
6 EQUIPOS Y MATERIALES.....	4
7 MUESTREO Y PREPARACION DE LA MUESTRA.....	4
8 PROCEDIMIENTO.....	4
9 EVALUACIÓN.....	6
10 EXPRESIÓN DE RESULTADOS.....	6
11 INFORME DE PRUEBA.....	7
12 BIBLIOGRAFÍA.....	7

ANTEPROYECTO DE NORMA MEXICANA

CALIDAD DEL AGUA - MEDICIÓN DE ORTOFOSFATOS EN AGUAS NATURALES, RESIDUALES Y RESIDUALES TRATADAS MEDIANTE ANÁLISIS POR INYECCIÓN EN FLUJO (FIA) CON DETECCIÓN ESPECTROFOTOMÉTRICA

WATER QUALITY - MEASUREMENT OF ORTHOPHOSPHATE IN NATURAL, WASTE AND TREATED WASTEWATERS BY FLOW INJECTION ANALYSIS (FIA) WITH SPECTROMETRIC DETECTION

0 INTRODUCCIÓN

El fósforo generalmente se encuentra en aguas naturales, residuales y residuales tratadas como fosfatos. Éstos se clasifican como ortofosfatos, fosfatos condensados y compuestos organofosfatados. Estas formas de fosfatos provienen de una gran cantidad de fuentes, tales como productos de limpieza, fertilizantes, procesos biológicos, etc.

El fósforo es un nutriente esencial para el crecimiento de organismos, por lo que la descarga de fosfatos en cuerpos de aguas puede estimular el crecimiento de macro y microorganismos fotosintéticos en cantidades nocivas.

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método es aplicable para el siguiente intervalo de trabajo: 0,01 mg/L a 1,0 mg/L.; el cual puede cambiar al variar las condiciones de operación.

Esta parte de la ISO 15681 es aplicable a diversos tipos de agua tales como: superficiales, subterráneas, potables, residuales y residuales tratadas.

El método también se puede aplicar para el análisis de agua marina; pero con cambios en la sensibilidad, adaptación de los acarreadores y disoluciones de calibración a la salinidad de las muestras.

2 REFERENCIAS NORMATIVAS

ISO 15681-1, Water quality — Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) — Part 1: Method by flow injection analysis (FIA).

3 INTERFERENCIAS

3.1 Interferencias generales

ISO 6878: en el anexo B se da una lista de interferencias en general. Por otra parte, o contrario a la norma citada, las siguientes directrices se aplican.

a) El arsenato causa serias interferencias. 100 µg/L As, presente como arsenato, resulta en una respuesta comparable a aproximadamente 30 µg/L P.

b) Si la concentración de silicato en las muestras no es superior a 60 veces la concentración de fósforo, las interferencias de silicato se pueden despreciar.

c) La interferencia de fluoruro es importantes por arriba de 50 mg/L.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

d) La interferencia de nitrito es significativa por arriba de 5 mg/L; ésta puede ser eliminada por la acidificación de las muestras después de la recolección.

e) Para muestras que contienen altas concentraciones de agentes oxidantes, la cantidad de reactivo añadido para la reducción puede ser insuficiente. En este caso se recomienda retirar el material de oxidación antes de la digestión.

f) La auto-absorción de la muestra puede ser compensada mediante la medición de la señal de la muestra con los reactivos (8.6), y la señal de la muestra sin la adición de los reactivos. En este caso, la diferencia de las dos respuestas es utilizada para la evaluación (véase la cláusula 9).

4 PRINCIPIO

La muestra es inyectada en la corriente portadora, en donde se combina con la disolución de molibdato de amonio. El ácido molibdofosforico resultante es reducido por el cloruro estanoso a azul de molibdeno.

5 REACTIVOS

Usar químicos grado analítico a menos que se especifique lo contrario.

Desgasificar cuidadosamente todas las disoluciones acarreadoras y los reactivos para las mediciones FIA por al menos 10 min antes de su uso; por ejemplo, mediante filtración al vacío.

5.1 Agua destilada, que cumpla el grado II descrito en la ISO 3696

5.2 Ácido sulfúrico, H_2SO_4

5.2.1 Ácido sulfúrico (I), $\rho = 1,84$ g/mL; 98 %

5.2.2 Ácido sulfúrico (II), $c(H_2SO_4) = 2,45$ mol/L

A aproximadamente 800 mL de agua (5.1) agregar cuidadosamente 136 mL de ácido sulfúrico (I) (5.2.1). Dejar enfriar a temperatura ambiente y diluir a 1000 mL con agua (5.1)

5.3 Heptamolibdato de amonio tetrahidratado, $(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$

5.4 Sulfato de hidrazina, $N_2H_6SO_4$

5.5 Cloruro estanoso dihidratado, $SnCl_2 \cdot 2 H_2O$

5.7 Fosfato de potasio monobásico, KH_2PO_4 , secado a peso constante a $105 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$

5.8 Disolución de molibdato (R1 en Figura A.1)

Disolver 35 mL de ácido sulfúrico (I) (5.2.1) y 10 g de heptamolibdato de amonio tetrahidratado (5.3) en aproximadamente 800 mL de agua (5.1), enfriar y aforar a 1000 mL con agua (5.1).

La disolución es estable durante 3 meses si se almacena a temperatura ambiente.

5.9 Disolución de cloruro estanoso (R2 en Figura A.1)

Disolver 28 mL de ácido sulfúrico (I) (5.2.1), 200 mg de cloruro estañoso (5.5) y 2 g sulfato de hidrazina (5.4) en aproximadamente 800 mL de agua (5.1), enfriar y aforar a 1000 mL.

La disolución es estable durante 1 semana, si se almacena a $4 \text{ }^\circ\text{C} \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$.



5.10 Disolución acarreadora I, (C1 in Figure A.1).

Agua (5.1).

5.11 Disolución stock de ortofosfatos I, $\rho = 50,0$ mg/L P

Disolver 220 mg \pm 1 mg de fosfato de potasio monobásico (5.7) en agua (5.1) y aforar a 1000 mL. Guardar en un frasco de vidrio bien cerrado. La disolución es estable por dos meses si se almacena a 4 °C \pm 2 °C.

5.12 Disolución stock de ortofosfatos II, $\rho = 10,0$ mg/L P

Diluir 20 mL de disolución stock de ortofosfatos I (5.11) en 100 mL de agua (5.1). Preparar la disolución el día de uso.

5.13 Disolución stock de ortofosfatos III, $\rho = 1,0$ mg/L P

Diluir 2 mL disolución stock de ortofosfatos I (5.11) en 100 mL de agua (5.1). Preparar la disolución el día de uso.

5.14 Disoluciones de calibración

Preparar por lo menos cinco disoluciones de calibración, distribuidas uniformemente sobre el intervalo de trabajo a partir de las disoluciones 5.11 a la 5.13, según el intervalo que se requiera.

Intervalo de trabajo:

II: 0,01 mg/L a 0,10 mg/L P

I: 0,10 mg/L a 1,00 mg/L P

Las tablas 1 y 2 dan ejemplos para la preparación de 10 disoluciones de calibración para los intervalos de trabajo anteriormente mencionados.

Tabla 1. Ejemplo para la preparación de 10 disoluciones de calibración para el intervalo de trabajo II de ortofosfato (0,01 mg /L a 0,10 mg /L P)

Mililitros de la disolución stock III de ortofosfatos (5,13) diluidos a 100 mL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentración en mg/L	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,06	0,07	0,08	0,09	0,10

Tabla 2. Ejemplo para la preparación de 10 disoluciones de calibración para el intervalo de trabajo I de ortofosfatos (0,10 mg/L a 1,00 mg/L P)

Mililitros de la disolución stock II de ortofosfatos (5,12) diluidos a 100 mL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Concentración en mg/L	0,10	0,20	0,30	0,40	0,50	0,60	0,70	0,80	0,90	1,00

Preparar las disoluciones de calibración el día de uso.

5.15 Disolución de enjuague

Disolver 65g de hidróxido de sodio (NaOH) y 6g (Na₄-EDTA, C₁₀H₁₂O₈N₂Na₄) en 1000 mL de agua (5.1). La disolución es estable por 1 mes, si se almacena 4 °C \pm 2 °C.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

6 EQUIPOS Y MATERIALES

6.1 Equipo de análisis por inyección en flujo (FIA).

El sistema en general, consiste de los siguientes componentes (ver figura A.1).

6.1.1 Contenedores de reactivos.

6.1.2 Bomba de baja pulsación.

6.1.3 Tubos de bomba, sólo si es necesario.

6.1.4 Inyector con volúmenes de inyección; por ejemplo de 40 μ L a 640 μ L.

6.1.5 Manifold con tubería de transmisión de 0,5 mm a 0,8 mm de diámetro interno, conectores y piezas en T de materiales químicamente inertes.

6.1.6 Un dializador si es necesario, con una membrana de celulosa para diluir la muestra y eliminar interferencias

6.1.7 Detector fotométrico de flujo, con longitud de onda de 700 nm \pm 20nm

6.1.8 Unidad de visualización de datos, tal como un registrador, impresora o plotter.

6.1.9 Automuestreador, si es necesario.

6.2 Aparatos adicionales.

6.3.1 Matraces aforados con capacidad nominal de 100 mL, 200 mL y 1000 mL.

6.3.2 Pipetas volumétricas con capacidad nominal de 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL, 20 mL y 25 mL.

6.3.3 Vasos de precipitados con capacidad nominal de 25 mL, 100 mL y 1000 mL.

6.3.4 pHmetro

7 MUESTREO Y PREPARACION DE MUESTRAS

Enjuagar con agua destilada todos los contenedores que entraran en contacto con la muestra.

Para muestras con bajas concentraciones (p.ej. \leq 0,1 mg/L ortofosfato-P), usar contenedores de vidrio; mientras que para muestras con mayores concentración se pueden emplear botellas de plástico.

Si se requiere de filtración (en el caso de partículas de diámetro $>$ 0,1 mm), las muestras se deben filtrar inmediatamente después del muestreo a través un filtro de membrana (0,45 μ m) y almacenar a 4 ° C \pm 2 ° C. La filtración reduce las reacciones biológicas, evita las interferencias por el sulfuro y la obstrucción de los tubos analizadores (en el caso de sólidos mayores a 100 μ m de diámetro). El tiempo máximo de conservación es de 24 h.

8 PROCEDIMIENTO

8.1 Preparación del análisis

Configurar el analizador de flujo para el procedimiento deseado (ver figura A.1).



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Bombear los reactivos por 10 minutos y ajustar a cero la línea base.

El analizador está listo para su uso cuando la línea base esté estable. Proceder con los pasos 8.2 a 8.5.

8.2 Verificación del funcionamiento del equipo

Medir una disolución de calibración (5.14) de una concentración de 0,05 mg/L de fosfato-p y ésta tendrá que presentar una absorbancia de por lo menos $0,015 \text{ cm}^{-1}$ por centímetro para el intervalo de trabajo II (0,01 mg/L a 0,10 mg/L); de lo contrario el sistema de flujo no es adecuado, y se tendrá que sustituir por un sistema que si cumpla con estos requerimientos.

Si el detector fotométrico no permite leer ninguna absorbancia, la absorción puede ser determinada por comparación con una medida de absorbancia de un fotómetro externo. En este caso, una cantidad suficiente de la mezcla de reacción deberá estar preparada manualmente y medida en el fotómetro externo.

Una disolución de calibración (5.14) con una concentración de 0,01 mg/L de fosfato-p presentara una señal de ruido de al menos 3:1.

8.3 Verificación del blanco de reactivos

Esperar a que se establezca la línea base.

Bombear agua (5.1) a través de todos los tubos. Registrar los cambios en la absorbancia.

Si la absorbancia por centímetro es reducida por más de $0,01 \text{ cm}^{-1}$ los reactivos o el agua posiblemente pueden estar contaminados; así que tomar las medidas adecuadas para eliminar la interferencia antes de iniciar el análisis.

Bombear todos los reactivos, y disoluciones nuevamente (8.1).

Se puede inyectar agua destilada libre de fosfatos como alternativa.

8.4 Calibración

Seleccionar el intervalo de trabajo deseado y por lo menos cinco disoluciones de calibración apropiadas distribuidas a lo largo del intervalo de trabajo. Llevar a cabo una calibración diferente para cada intervalo de trabajo.

Antes de empezar el análisis, establecer la línea base según lo recomendado por el fabricante del instrumento.

Obtener los valores correspondientes a las disoluciones de calibración.

Calibrar aplicación de forma secuencial las disoluciones de calibración y el blanco reactivo.

Determinar la curva de calibración de acorde con la ISO 8466-1.

Las condiciones de análisis de los estándares y las muestras deberán ser idénticas (8.6). La señal de salida es proporcional a la concentración de fosfato-p. Utilizar la siguiente ecuación (1).

$$y = b * p + a$$



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

Donde:

- y es el valor medido, en unidades relacionadas con el sistema;
- b es la pendiente de la curva de calibración, en unidades relacionadas con el sistema L/mg;
- p es la concentración de ortofosfato-p, en mg/L;
- a es la ordenada al origen de la curva de calibración, en unidades relacionadas con el sistema.

8.5 Medición

Analizar las muestras, preparadas de acuerdo a la cláusula 7, en la misma forma que las disoluciones de calibración.

Si la concentración de la muestra es mayor que el intervalo de trabajo seleccionado, analizar la muestra en un intervalo diferente o diluirlas antes del análisis.

Después de por lo menos una serie de 20 muestras medidas, comprobar la calibración de sistema utilizando disoluciones de calibración de la parte inferior y el tercio superior del intervalo de trabajado. Si es necesario recalibrar el sistema.

8.6 Cierre del sistema

Para eliminar cualquier precipitación cerrar el flujo del sistema de la siguiente manera.

Al final de una corrida, enjuagar el sistema durante 5 minutos con la disolución de enjuague (5.15) y después 5 minutos con agua (5.1).

9 CÁLCULO DE RESULTADOS

Calcular la concentración de la muestra usando la ecuación (2):

$$\rho = (y - a)/b$$

Cuyos símbolos están definidos en el punto 8.4.

Calcular las concentraciones de la muestra según el intervalo de calibración, no extrapolar a la curva de calibración.

10 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Reportar los resultados a no más de dos cifras significativas.

EJEMPLOS

Ortofosfato-P: $2,7 \times 10^{-2}$ mg/L

Ortofosfato-P: 0,42 mg/L



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

11 INFORME DE PRUEBA

El informe debe referirse a la ISO 15681y contar con la siguiente información:

- a) Identidad de la muestra;
- b) Procedimiento aplicado (FIA);
- c) Preparación de la muestra, si la hay;
- d) Descripción del analizador o condiciones de análisis;
- e) Resultados, de acuerdo con la cláusula 10
- f) Cualquier desviación de esta parte de la ISO 15681 o cualquier circunstancia que pueda afectar el resultado.

12 BIBLIOGRAFÍA

- [1] RUZICKA J. and HANSEN E. H., *Flow Injection Analysis*, Wiley & Sons, 2nd edn. (1988)
- [2] MÖLLER J., *Flow Injection Analysis*, Analytiker Taschenbuch, Bd.7, Springer Verlag (1988), pp. 199-275
- [3] SKEGGS L. T., *Anal.Chem*, **38**(6) (1966) p. 31 A
- [4] MURPHY J. and RILEY J. P., *Anal. Chim.Acta*, **27** (1962), p. 31
- [5] EBERLEIN K. and KATTNER G., *Z. Anal. Chem.*, **326** (1987), pp. 354-357
- [6] KOROLEFF F., in GRASSHOFF K., EHRHARD M., KREMLING K., *Methods of Seawater Analysis*, VerlagChemie, Weinheim, 3rd edn., pp. 159 – 228
- [7] APHA/AWWA/WEF, *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*, 20th edn. (1998), Method 4500-P G, H, I.
- [8] ISO 5725-2, *Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results — Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method*
- [9] ISO 15681-2, *Water quality — Determination of orthophosphate and total phosphorus contents by flow analysis (FIA and CFA) — Part 2: Method by continuous flow analysis (CFA)*

Anexo A
(Informativo)

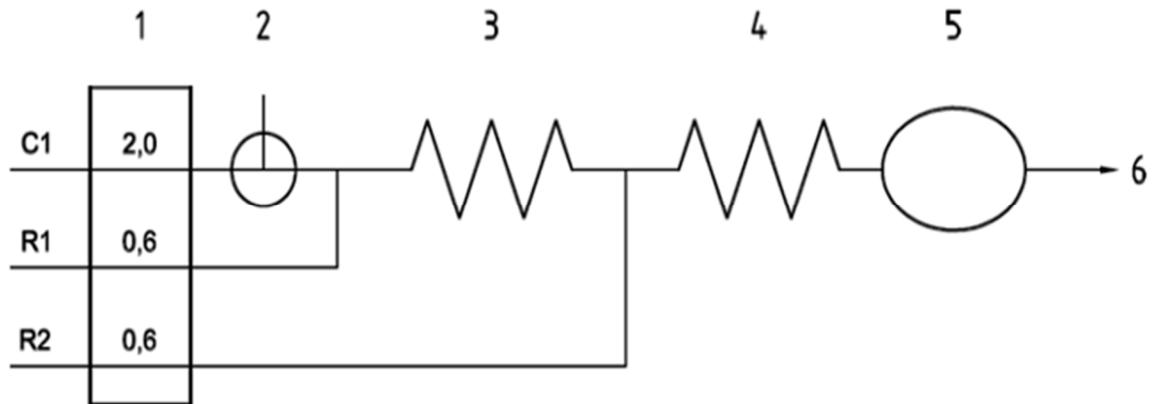


Figura A.1 - Esquema FIA para la determinación de ortofosfato-P.

Significado de las claves:

- 1 Bomba, velocidad de flujo en mL/min
 - 2 Inyector
300 μ L a 400 μ L para el intervalo de trabajo II (0,01 mg/L a 0,10 mg/L)
40 μ L para el intervalo de trabajo I (0,10 mg/L a 1,00 mg/L)
 - 3 Loop de reacción, $l = 30$ cm, $\phi = 0,5$ mm
 - 4 Loop de reacción, $l = 60$ cm, $\phi = 0,5$ mm
 - 5 Detector, longitud de onda: 700 nm \pm 20 nm
 - 6 Desechos
- C1** Disolución acarreadora (5.10): velocidad de flujo 2,0 mL/min
- R1** Disolución de molibdato (5.9): velocidad de flujo 0,6 mL/min
- R2** Disolución de cloruro de tin (II) (5.9): velocidad de flujo 0,6 mL/min

México D.F.