

Comunicación Técnica

Determinación de nitratos y nitritos en agua. Comparación de costos entre un método de flujo continuo y un método estándar

Erika Cabrera Molina, Lucía Hernández Garciadiego, Humberto Gómez Ruíz,
Ma. del Pilar Cañizares Macías*

Departamento de Química Analítica, Facultad de Química, Universidad Nacional Autónoma de México. Tel: 5622-3788;
E-mail: pilarm@servidor.unam.mx

Recibido el 10 de abril del 2002; aceptado el 17 de febrero del 2003

Resumen. En este trabajo se presentan los resultados obtenidos para la cuantificación de nitratos y nitritos en aguas naturales utilizando una configuración de flujo continuo. La determinación se basa en la reducción de nitratos a nitritos, utilizando una columna de cobre, los cuales reaccionan con sulfanilamida y N-1-naftiletilendiamina para dar un compuesto azóico cuya absorbancia se mide a 540 nm. Los resultados se comparan con un método estándar en cuanto a tiempo y costo de análisis. Los resultados demuestran que la determinación por FIA disminuye los costos de análisis en un 85 % así como una ganancia del 90 % en tiempo, tanto para la determinación de nitratos como de nitritos.

Palabras clave: FIA; nitritos; nitratos; costos de análisis.

Abstract. The results obtained from the determination of nitrates and nitrites in natural waters using a continuous flow manifold are shown in this paper. The reaction is based on the reduction from nitrates to nitrites, using a copper column, which react with sulfanilamide and N-1-(naphthyl) ethylene diamine to form an azoic compound that is measured at 540 nm. The results are compared with a standard method in cost and analysis time. The study shows decrease the cost of analysis in a 85 % and the analysis time in a 90 % is possible by FIA.

Key words: FIA, nitrites, nitrates, analysis cost.

Introducción

Los niveles de nitratos y nitritos en aguas naturales son un indicador importante de la calidad del agua. Ambos se encuentran relacionados con el ciclo del nitrógeno de suelo y plantas superiores aunque los nitratos son añadidos por medio de fertilizantes que puede ocasionar que los niveles de estos aumenten. Los nitritos también se forman durante la biodegradación de nitratos, nitrógeno amoniacal u otros compuestos orgánicos nitrogenados y se utiliza como indicador de contaminación fecal en aguas naturales.

Los nitratos no se consideran en sí tóxicos, pero la ingesta de grandes cantidades produce un efecto diurético. Por otra parte, los nitritos pueden producir compuestos cancerígenos, las nitrosaminas, por su reacción con aminas secundarias o terciarias, además de interactuar con los glóbulos rojos de la sangre produciendo metahemoglobinemia que impide el transporte de oxígeno al cuerpo.

Se han desarrollado una gran cantidad de métodos para la cuantificación de estos analitos en aguas y en otro tipo de muestras como alimentos y fluidos biológicos. Muchos de los métodos están basados en cromatografía iónica [1-6], de hecho, la EPA recomienda la determinación de nitratos y nitritos por este método [7], aunque existen varios métodos enfocados a la cromatografía líquida de alta presión [8-11] o a la electroforesis capilar [12-16].

Varios métodos analíticos están basados en la reducción de nitratos a nitritos con detección colorimétrica posterior. Se han utilizado varios agentes reductores como zinc, cadmio o cadmio cuperizado que se han acoplado como columnas reductoras a configuraciones de flujo continuo no segmentado para la cuantificación simultánea de nitratos y nitritos [17-22].

En la actualidad, los laboratorios ambientales de rutina requieren métodos rápidos, precisos y económicos. Estos laboratorios realizan la determinación de nitritos en aguas de acuerdo a la Norma Mexicana [23] que se basa en la reacción de los nitritos con sulfanilamida y 1-naftiletilendiamina para formar un compuesto azo que se mide espectrofotométricamente.

La cuantificación de nitratos se basan en la reacción con sulfato de brucina la cual requiere altas temperaturas de reacción haciendo la determinación poco precisa, costosa y muy laboriosa, aunque también se contempla la determinación por medio de una columna de cadmio cuperizada [24]. Los métodos estándar de la ASTM describen la determinación de nitratos y nitritos utilizando una columna de cadmio cuperizado para la reducción de nitratos y la formación de un azo compuesto, estos métodos incluyen un método automático de flujo segmentado [25].

Las ventajas económicas que implica el utilizar un método automático de flujo continuo, aunque ha sido estudiado, no existen reportes en cuanto a la reducción de costos. En los trabajos referidos a estas metodologías se ha demostrado la gran

reproducibilidad y exactitud de estos métodos pero en muchos casos estos parámetros son equivalentes a los obtenidos por metodologías que no son de flujo continuo.

En este trabajo se presentan los resultados obtenidos en la determinación de nitratos y nitritos en aguas naturales por análisis por inyección en flujo, utilizando una columna de cadmio cuperizado. Se realizó el estudio económico para esta metodología y se comparó con su similar en donde la determinación no se realiza en un sistema de flujo.

Parte Experimental

Reactivos

Todos los reactivos utilizados fueron grado reactivo.

Para preparar la disolución cuperizante se utilizó sulfato de cobre pentahidratado (J.T. Baker, 98 %) 0.008 M y ácido etilendiamino tetracético 0.1 M (EDTA, J.T. Baker).

Se preparó una disolución amortiguadora de amonio / amoniaco 0.05 M / EDTA 0.1 M pH 8.5.

Para preparar el reactivo de color se pesó 1 g de sulfanilamida (Aldrich) y 0.5 g de 1-naftiletilendiamina (NED) (J.T. Baker) que se disolvieron en 250 mL de ácido fosfórico (Merck) al 10 %

Para preparar la columna de cadmio se utilizó cadmio granulado (Fluka) que se tamizó en una malla de 40-60 μm , para homogenizar el tamaño de gránulo, y se empacó en una columna de teflón de 10 cm \times 0.3 mm.

Se preparó una disolución madre de NO_2^- (nitrito de sodio; Sigma) de 1000 μg / mL (como nitrógeno de nitritos, N-NO_2^-) a partir de la cual se prepararon estándares entre 0.1 y 10 μg / mL. Para la curva de calibración de nitratos se utilizó nitrato de sodio (Sigma) a partir del cual se preparó una disolución madre de 1000 μg / mL (como nitrógeno de nitratos, N-NO_3^-) y estándares en el mismo intervalo que para nitritos. De igual forma se prepararon mezclas de NaNO_2 / NaNO_3 en diferentes proporciones.

Instrumentos

Todas las determinaciones se realizaron en un equipo automatizado de Análisis por Inyección en Flujo OI-Analytical 3000, Alpkem. El equipo consta de dos canales con bomba peristáltica, válvula de inyección y un filtro de 540 nm, por lo que es posible realizar la determinación simultánea de nitratos y nitritos. El automuestreador y cada uno de los canales están controlados por un programa de computadora, así como el procesamiento de datos.

Fundamento de la reacción

Los nitratos se reducen cuantitativamente a nitritos de acuerdo al siguiente equilibrio químico:

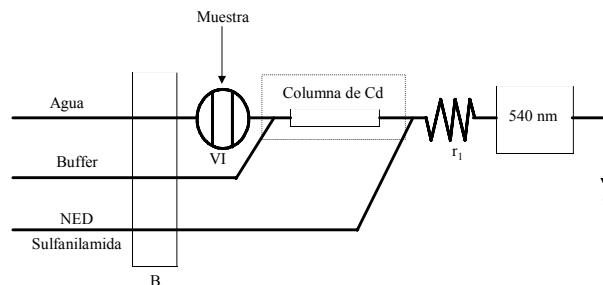
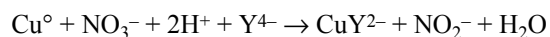


Fig. 1. Configuración utilizada para determinar NO_3^- . Cuando se determina solo NO_2^- se quita la columna de cadmio de la configuración de flujo continuo. V.I., válvula de inyección; r_1 , reactor; d, desecho; B, bomba peristáltica.

El cobre se encuentra en su forma reducida en la columna de cadmio. El nitrito formado reacciona con la sulfanilamida para formar la sal de diazonio que reacciona con el clorhidrato de N-1- naftiletilendiamina para formar el azo compuesto cuya absorbancia se mide a 540 nm.

Procedimiento

Preparación de la columna de reducción

El procedimiento de cuperización del cadmio se realizó de acuerdo a lo establecido por la American Society for Testing and Materials (ASTM) [25].

Se pesaron aproximadamente 20 g de gránulos de cadmio metálico y se tamizaron en una malla de 40-60 μm para homogenizar el tamaño del gránulo. Se pesaron 10 g de los gránulos de cadmio tamizado y se lavaron varias veces con HCl 1:1. Finalmente, se lavaron con agua destilada hasta eliminar completamente el exceso del ácido. A continuación se adicionó la disolución cuperizante y se mantuvo en agitación suave hasta la desaparición del color azul de la disolución. Posteriormente se eliminó esta disolución y se adicionó otra porción (aproximadamente 20 mL) de la disolución cuperizante. Este procedimiento se realizó varias veces hasta que se hubieron adicionado 250 mL de disolución.

Una vez cuperizado el cadmio se lavaron varias veces los gránulos con agua destilada y se empacaron en una columna de teflón de 10 cm de largo y 0.3 mm de diámetro interno.

Determinación de nitratos y nitritos por flujo continuo

La configuración FIA utilizada para determinar NO_2^- y $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ se muestra en la figura 1.

Se inyectan 100 μL de muestra en un portador de agua destilada que confluye con una disolución amortiguadora de pH 8.5. Posteriormente reacciona con el reactivo de color (sulfanilamida y NED) a lo largo del reactor r_1 donde se forma el compuesto azoico cuya absorbancia se mide a 540 nm. Al tener dos canales el equipo automatizado se utilizan dos configuraciones iguales con la diferencia que para la determinación de $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ se coloca la columna de cadmio cuperizado después de la válvula de inyección.

Tabla 1. Características de las curvas de calibración.

Analito	Intervalo lineal ($\mu\text{g} / \text{mL}$)	Pendiente ($\text{uA}^* / \mu\text{g} / \text{mL}$)	Coefficiente de correlación (r)	Ordenada al origen (uA)
NO_2^-	0.05-10	0.080	0.9999	0.0029
$\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$	0.05-7.0	0.107	0.9999	0.0012

*uA: unidades de absorbancia

Resultados y discusión

Para cuperizar el cadmio que se empacó en la columna se siguió el método que propone la ASTM, pero se realizó una modificación en la preparación del sulfato de cobre. De acuerdo a la ASTM, este reactivo se prepara disolviendo 20 g de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ por litro de agua, que es suficiente para cuperizar el cadmio. Al utilizar ésta disolución el cadmio se disolvía por completo y el cobre se precipitaba en la disolución, por lo que se decidió adicionar EDTA 0.1 M que ocasiona que el cobre se reduzca recubriendo al cadmio sin que este se disuelva debido a que disminuye el potencial de reducción. Por esta misma razón la disolución amortiguadora que se utiliza en la configuración contiene EDTA.

Las condiciones óptimas de análisis que se utilizaron son las especificadas por el manual del equipo automatizado: caudal del portador, 0.4 mL / min; volumen de inyección, 100 μL ; longitud de la columna de cadmio, 10 cm (aunque es posible utilizar columnas más pequeñas de 7 cm) y concentración de la disolución amortiguadora de amonio / amoniaco 0.5 M pH 8.5 y EDTA 0.0003 M. La concentración del reactivo de color según el manual es de 0.23 M para la sulfanilamida y de 0.008 M para el NED, en este caso hicimos una modificación en la concentración de la sulfanilamida, por lo que se hicieron algunos ensayos cambiando la concentración y comprobándose que es posible disminuir diez veces la molaridad sin que se modifique la altura de la señal FIA. Concentraciones menores a 0.023 M disminuía la señal en un 25 % por lo que se eligió esta concentración como óptima manteniendo el NED a 0.008 M.

Una vez que se optimizó la reacción para la formación del azo compuesto se realizó un estudio para comprobar la eficiencia de reducción de la columna de cadmio. Se hizo pasar a

través de la columna disoluciones estándares de concentraciones diferentes de NO_2^- (0.1-15 $\mu\text{g} / \text{mL}$) para que la muestra tuviera la misma dispersión que cuando se determina NO_3^- con las mismas concentraciones. La eficiencia de la columna se calcula a partir de la altura de las señales obtenidas para nitratos y para nitritos con las mismas concentraciones: $h_{\text{NO}_3^-} / h_{\text{NO}_2^-} \times 100$ (donde h es la altura, en absorbancia, de la señal analítica). La eficiencia de la columna utilizada fue aproximadamente del 99 % para concentraciones bajas y del 80 % para concentraciones mayores a 8 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Para medir la reproducibilidad de la columna se inyectaron nueve mezclas de nitratos y nitritos en diferentes proporciones cuya concentración final de nitrógeno fue de 1 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y de 5 $\mu\text{g} / \text{mL}$; la precisión, expresada como desviación estándar relativa, fue de 1.82 % y 1.76 %, respectivamente.

Las características de las curvas de calibración para NO_2^- y $\text{NO}_2^- + \text{NO}_3^-$ se muestran en la Tabla 1. El intervalo lineal de nitratos más nitritos es superior al indicado en la Tabla 1 pero se eligió trabajar en ese intervalo debido a que la eficiencia de la columna disminuye a concentraciones mayores.

En cualquier laboratorio ambiental se requiere realizar una prueba inicial de desempeño que involucra el cálculo de límite de detección y de cuantificación y la elaboración de cartas control. El límite de detección que se calculó fue para la determinación de NO_2^- ya que la reacción de derivatización es para este analito, el límite de detección de NO_3^- depende también de la eficiencia de la columna la cual a concentraciones bajas es prácticamente del 100 %. El límite de detección fue de 0.017 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y de cuantificación de 0.057 $\mu\text{g} / \text{mL}$. Las cartas control se elaboraron inyectando al sistema la misma concentración de nitratos y de nitritos por separado (5 $\mu\text{g} / \text{mL}$) durante doce días consecutivos. La desviación estándar (s) encontrada para nitritos fue de 0.15 $\mu\text{g} / \text{mL}$ y para nitratos de 0.33 $\mu\text{g} / \text{mL}$, los límites de confianza se establecieron como la media de las concentraciones durante los doce días más dos veces la desviación estándar. Para hacer un seguimiento de las cartas control cada vez que se analizaba una muestra se analizaban los estándares de nitratos y de nitritos. El valor encontrado supera los límites establecidos se considera un error en la determinación de las muestras que se analizan ese día por lo que se debe realizar otra determinación y buscar las causas que originaron ese dato.

Tabla 2. Determinación de nitratos y nitritos en agua por el método de flujo continuo.

Analito	Agua Potable*					Agua residual	Agua tratada	Agua del río Texcaliacac ^c				
	Xochimilco	Xochimilco	Cuauhtémoc	Tlalpan	Coyoacán							
NO ₂ ⁻ (µg / mL)	0.1 ^a ; 0.24 ^b	0.11 ^a ; 0.085 ^b	0.058 ^a ; 0.11 ^b	0.14 ^a ; 0.15 ^b	0.16 ^a ; 0.14 ^b	0.52	0.24	0.10	< L.D	0.16	0.13	0.63
NO ₃ ⁻ (µg / mL)	2.6 ^a ; 2.87 ^b	1.70 ^a ; 1.82 ^b	0.32 ^a ; 0.29 ^b	1.00 ^a ; 1.00 ^b	1.30 ^a ; 1.52 ^b	1.56	0.16	0.57	0.40	0.23	0.23	0.28

*Muestras tomadas en diferentes zonas delegacionales de la Ciudad de México

^a Agua de la red^b Agua de tinaco^c Muestras de diferentes puntos del río

Tabla 3. Análisis de costos. Comparación entre la metodología propuesta y el método estándar.

Reactivo	Concentración, g / L		mL gastados por determinación		Costo por determinación (dólares)		Costo por muestra* (dólares)	
	FIA	Estándar	FIA	Estándar	FIA	Estándar	FIA	Estándar
<i>Color:</i>			0.8	2	0.021	0.053	0.065	0.159
Sulfanilamida	4	10						
NED	2	1						
H ₃ PO ₄	168.5	168.5						
<i>Buffer:</i>			0.9	75	0.003	0.11	0.009	0.318
EDTA	1	1.7						
NH ₄ Cl	85	13						
			Total		0.0024	0.163	0.074	0.477

*Considerando tres determinaciones

Aplicación en muestras reales

El método se utilizó para analizar diferentes tipos de agua: residual, potable y de río, de diferentes zonas de la Ciudad de México.

Los resultados de las concentraciones calculadas para nitratos y nitritos se muestran en la Tabla 2. La concentración de nitritos se calculó directamente de la curva de calibración obtenida para este analito. La concentración de nitratos se calculó por diferencia entre la concentración obtenida de la curva de calibración de nitratos más nitritos menos la concentración de nitritos calculada para la misma muestra. Los resultados que se muestran corresponden al promedio de tres determinaciones.

Análisis de costos

En la Tabla 3 se muestra los costos que se requieren para realizar la determinación de N-NO₂⁻ por el método propuesto y el método estándar de la Norma Mexicana.

En la Tabla se muestra que para el reactivo de color se requieren 4.0 g / L de sulfanilamida para la determinación por el método FIA y 10 g / L para el método de la Norma Mexicana; sin embargo por FIA se necesitan 2.0 g / L de NED mientras que el método oficial sólo requiere 1 g / L. Aun así, el volumen requerido de este reactivo por FIA es sólo de 0.8 mL y para el método oficial 2.0 mL lo que implica que el costo por determinación es de 0.021 y 0.053 dólares respectivamente. Si se considera que el análisis debe realizarse por triplicado el costo por muestra es de 0.065 dólares por FIA y de 0.16 dólares por el método de la norma.

Por lo que respecta a la concentración de la disolución amortiguadora, se observa que la diferencia en la concentración de EDTA es poco significativa, pero la concentración de cloruro de amonio es bastante superior por FIA (85.0 g / L) con respecto al método de comparación donde sólo se requiere 13.0 g / L. Sin embargo, a pesar de esta diferencia la metodología propuesta sólo necesita 0.9 mL por muestra mientras que el método estándar 75 mL lo que ocasiona que el gasto por muestra sea de 0.318 dólares contra 0.009 dólares por FIA.

Tomando en cuenta los reactivos utilizados y los volúmenes gastados el costo por muestra es de 0.074 dólares por FIA y de 0.48 dólares por el método estándar lo que conlleva a un ahorro del 85 % si la determinación se realiza por FIA. Aunque con estas cifras parece que el ahorro no es significativo es importante considerar que en un laboratorio de rutina no se analiza una sola muestra sino una gran cantidad lo que ocasiona mayor gasto de reactivos. Si además se calcula el tiempo de análisis por muestra, el método estándar requiere de 12 min para llevar a cabo la determinación mientras que el método FIA solo necesita de 1.4 minutos por lo que es posible analizar un mayor número de muestras por día. La determinación de NO₃⁻ implica un paso adicional de reducción por medio de una columna de cadmio, que en las dos metodologías implica prácticamente el mismo gasto, pero el tiempo de análisis es de 1.42 minutos por el método propuesto contra 19 minutos cuando la determinación se realiza por el método estándar.

Conclusiones

Las metodologías de flujo continuo aportan grandes ventajas a los análisis de rutina ya que además de ser metodologías precisas y rápidas, el ahorro de reactivos, así como de muestras, es siempre superior debido a que se utiliza menos cantidad de estos, lo que también implica que la producción de desechos sea menor siendo éste un factor indispensable en un laboratorio ambiental o de análisis. Una gran ventaja de los métodos FIA es que la posibilidad de automatización es superior a la de cualquier otra metodología, ocasionando que se pueda analizar mayor cantidad de muestras sin demasiada manipulación humana aumentando la precisión y disminuyendo la exposición de los analistas a las muestras y a los reactivos.

Referencias

- Butt, S.; Riaz, M.; Iqbal M.Z. *Talanta*, **2001**, 55, 789-797.
- Everett, S.A.; Dennis, M.F.; Toser, G.M.; Pise, V.E.; Wardman, P.; Stratford, M.R.L. *J. Chromatogr. A*. **1995**, 706, 437-442.

3. Novic, M.; Divjat, B.; Pihlar, B.; *J. Chromatogr. A.* **1998**, 827, 83-89.
4. Siu, D.C.; Henshall, A.; *J. Chromatogr. A.* **1998**, 804, 157-160.
5. Helaleh, M.I.H.; Korenaga, T.; *J. Chromatogr. B.* **2000**, 744, 433-437.
6. Siu, D.; Henshall, A. *J. Chromatogr. A.* **1998**, 804, 157-160.
7. EPA Method 300.0 Determination on inorganic ions by ion chromatography, United States Environmental Protection Agency, Cincinnati, OH, **1993**.
8. Tsikas, D.; Rossa, S.; Sandman, J.; Frolich, J.; *J. Chromatogr. B.* **1999**, 724, 199-201.
9. Menyawi, I.; Looareesuwan, S.; Knapp, S.; Thalhammer, F.; Stoiser, B.; Burgmann, H. *J. Chromatogr. B.* **1998**, 706, 347-351.
10. Li H.; Mininger, C.J.; Wu G. *J. Chromatogr. B.* **2000**, 746, 199-207.
11. Connolly, D.; Paull, B. *Anal. Chim. Acta*, **2001**, 441, 53-62.
12. Guan, F.; Wu, H.; Luo, Y. *J. Chromatogr. A.* **1996**, 719, 427-433.
13. Marshall P.A.; Trenerry, V.C.; *Food Chem.* **1996**, 57, 339-345.
14. Fukushi, K.; Tada, K.; Takeda, S.; Wakida, M.; Yamane, M.; Higashi, K.; Hiroy, K. *J. Chromatogr. A.* **1999**, 838, 303-311.
15. Melanson, J.E.; Lucy, C.A. *J. Chromatogr. A.* **2000**, 884, 311-316.
16. Oztekin, N.; Nutku, M.S.; Erim F.B. *Food Chem.* **2002**, 76, 103-106.
17. Kojlo, A.; Gorogkiewicz, E. *Anal. Chim. Acta* **1995**, 302, 2-3.
18. Leif, A. *Anal. Chim. Acta* **1979**, 110, 123-128.
19. Giné M.F.; Bergamin H.; Zagatto E.A.G.; Reis B.F. *Anal. Chim. Acta* **1980**, 114, 191-197.
20. Segarra Guerrero, R.; Gómez, C.; Martínez Calatayud J.; *Talanta*, **1996**, 43, 239-246.
21. Cerda, A.; Oms, M. T.; Forteza, R.; Cerda, V. *Anal. Chim. Acta*, **1998**, 371, 63-71.
22. Pinho, O.; Ferreira, I.M.P.; Beatriz, M.; Oliveira, P.; Ferreira, M. A. *Food Chem.* **1998**, 62, 359-362.
23. NMX-AA-099-1987. Protección al ambiente. Calidad del agua. Determinación de nitrógeno de nitritos en agua.
24. NMX-AA-079-SCFI-2001, Análisis de aguas. Determinación de Nitratos en aguas naturales, potables, residuales y residuales tratadas. Método de prueba.
25. ASTM, D 3867-90, Standard Test Methods for Nitrite-Nitrate in Water, Vol. 14.01, 508-515, Philadelphia, PA. 1991.