

|  |   |                     |
|--|---|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|  |   | Versión : 03        |
|  |   | Fecha: 21/10/2020   |
|  |   | Página 1 de 12      |

## 1. OBJETIVO

Establecer la metodología para la determinación del fósforo total por colorimetría en agua, SM 4500-P B, E.

## 2. ALCANCE

Este método de análisis aplica a muestras de aguas residuales domésticas e industriales, aguas superficiales, lluvias y subterráneas.

Esta técnica se aplica en el GLCA para el recurso hídrico superficial; el rango de aplicación es de: 0,05mg P Total / L – 1,00mg P Total / L.

En la tabla 1 se observan los resultados obtenidos en la confirmación del método:

**Tabla 1. Resultados Confirmación del método**

| <b>CUADRO PARÁMETROS DE CONFIRMACIÓN DEL MÉTODO</b>        |              |                 |   |
|--|--------------|-----------------|---|
| <b>CÓDIGO DEL INSTRUCTIVO DE ENSAYO:</b>                   |              |                 |   |
| <b>FECHA DE INFORME DE ESTANDARIZACIÓN: 20 / 11 / 2018</b> |              |                 |   |
| <b>PARÁMETRO</b>   | <b>VALOR</b> | <b>UNIDADES</b> | <b>OBSERVACIÓN</b>                        |
| LIMITE DE DETECCION  | 0,05         | mg P total/L    | Corresponde al límite de cuantificación   |
| PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE % CV                              | 12,21        | %               | Nivel de concentración bajo               |
|  | 4,72         | %               | Nivel de concentración alto               |
| EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO               | 6,50         | %               | Nivel de concentración bajo               |
|  | 1,20         | %               | Nivel de concentración alto               |
| RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)                         | 1,0          |                 | Sin dilución de la muestra                |
| INTERVALO DE APLICACIÓN DEL MÉTODO                         | 0,05-1,00    | mg P total/L    | Con la mayor dilución posible o aceptable |
| RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %                              | 77,24        | %               | Nivel de concentración bajo               |
|  | 104,41       | %               | Nivel de concentración alto               |

## 3. DEFINICIONES

mg P Total/L = miligramos de fósforo total por litro.

g = gramos


s = Desviación estándar

UV - VIS = Ultravioleta - Visible

## 4. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Antes de iniciar el análisis revisar el Manual de Higiene, Salud Ocupacional y Seguridad en el Laboratorio y las hojas de Seguridad que se encuentran en el laboratorio.

Utilizar los implementos de seguridad de acuerdo con lo señalado en el instructivo: bata, zapatos antideslizantes, guantes, respirador para ácidos y gafas protectoras.

|   |  |                     |
|---|--|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>         DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>         DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>         ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|   |  | Versión : 03        |
|   |  | Fecha: 21/10/2020   |
|   |  | Página 2 de 12      |

Tratar los residuos producto del análisis de la determinación, de acuerdo al documento de disposición final de residuos.

Realizar la adición de los ácidos y la digestión de las muestras en la cabina extractora de vapores inorgánicos.

## 5. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES

### 5.1 Equipos

- Espectrofotómetro UV-VIS marca Hewlett Packard modelo 8453, detector de arreglo de diodos, ancho de banda de 0,1 nm, provisto de una celda de vidrio con paso de luz de 1,0 cm, y consta de lo siguiente:
  - \*Sistema óptico revertido de haz sencillo.
  - \*Fuente de radiación, lámpara de tungsteno.
  - \*Monocromador
  - \*Detectores fotodiodos y a su vez arreglo de diodos.
- Plancha de calentamiento Schott Ceran ó Thermolyne Cimarec2
- Balanza analítica electrónica con resolución de 0,0001 g.
- Cabina extractora para vapores inorgánicos.

#### 5.1.1 Verificación de Equipos

- Verificar la balanza analítica antes de realizar cualquier pesaje, de acuerdo con el Instructivo de Aseguramiento Metrológico M-S-LC-I048.
- Verificar el volumen dispensado por las pipetas y transferpipetas según el volumen requerido.

### 5.2 Reactivos

Solicitar los reactivos diligenciando el formato correspondiente.

- Agua ultra pura.
- **Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>)**, concentrado.
- **Ácido Nítrico (HNO<sub>3</sub>)**, concentrado.
- **Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>), 5N**: En un vaso de precipitado de 400 mL, agregar 200 mL de agua ultra pura, adicionar lentamente y con agitación 70 mL de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) concentrado, como se produce una reacción exotérmica, esperar hasta la solución este fría, en ese momento transferir cuantitativamente la solución a un balón de 500 mL y completar con agua ultra pura. Mantener en frasco de vidrio a temperatura ambiente.
- **Fenolftaleína en solución alcohólica**: Disuelva 1 g de fenolftaleína en 100 mL de alcohol etílico y adicione 100 mL de agua ultra pura.
- **Hidróxido de sodio, NaOH, 10 N**. Disuelva 400 g de NaOH en un vaso de precipitado de un litro, lleve a temperatura ambiente y complete a un litro con agua ultra pura, en un balón clase B.
- **Solución de Tartrato de Antimonio y Potasio**: Disolver 0,6858 g de K(SbO)C<sub>4</sub>H<sub>4</sub>O<sub>6</sub>·½H<sub>2</sub>O en 200 mL de agua ultra pura, en un balón aforado de 250 mL llevar a volumen. Almacenar a temperatura ambiente en frasco de vidrio por un período de tiempo no mayor a 3 meses. No utilizar este reactivo después del

|  |  |                     |
|--|--|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>         DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>         DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>         ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|  |  | Versión : 03        |
|  |  | Fecha: 21/10/2020   |
|  |  | Página 3 de 12      |

tiempo recomendado ya que forma un precipitado azul en las muestras, minutos después de adicionar el reactivo combinado, registrando valores más bajos en los resultados.

- **Solución de Molibdato de Amonio:** Disolver 20 g de heptamolibdato de amonio tetrahidratado,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$  en 500 mL de agua ultra pura. Almacenar refrigerado en frasco de vidrio por un periodo de tiempo no mayor a 6 meses. Este reactivo puede formar un precipitado blanco con el tiempo, que no interfiere en la calidad del análisis. Agitar muy bien antes de utilizar.
- **Ácido Ascórbico, 0,1 M:** Disolver 1,76 g de ácido ascórbico en 100 mL de agua ultra pura. Guardar en frasco de vidrio ámbar, esta solución es estable por una semana, refrigerada a 4°C.
- **Reactivo Combinado:** Dejar que todos los reactivos alcancen la temperatura ambiente antes de agregarlos. Mezclar los siguientes reactivos en estricto orden y proporciones, agitando después de la adición de cada uno de los reactivos:

**Tabla 2. Proporciones de reactivos**

| Número de muestras aprox. | Volumen preparado | H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 5 N (mL) | Tartrato (mL) | Molibdato (mL) | Ácido ascórbico (mL) |
|---------------------------|-------------------|---|---------------|----------------|----------------------|
| 25                        | 100 mL            | 50                                      | 5             | 15             | 30                   |
| 20                        | 80 mL             | 40                                      | 4             | 12             | 24                   |
| 12                        | 50 mL             | 25                                      | 2.5           | 7.5            | 15                   |
| 7                         | 30 mL             | 15                                      | 1.5           | 4.5            | 9                    |

**Nota:** Si se prepara este reactivo en un recipiente de vidrio transparente se puede observar una coloración amarilla que indica que quedó bien preparado. Si se nota algo de turbidez, agitar y dejar en reposo por unos minutos hasta que ésta desaparezca. Este reactivo es estable por 4 horas.


- **Solución Patrón de Fosfato de 50 mg (P-PO<sub>4</sub>)/L:** Colocar 0,25 g de fosfato diácido de potasio también denominado fosfato monobásico de potasio  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  grado analítico a secar a 105°C durante dos (2) horas. Disolver en agua ultra pura 0,2195 g de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  anhidro y diluir a 1000 mL en balón volumétrico. Almacenar en nevera a 4°C en frasco de vidrio. 1,00 mL = 50,0 µg  $\text{PO}_4^{-3}\text{P}$ . Esta solución es estable durante seis (6) meses.
- **Solución Mezcla Fósforo Orgánico e Inorgánico** colocar 7,0 mg de ortofosfato de fósforo  $\text{PO}_4\text{-P/L}$ , 3,0g hexametáfosfato de sodio/L, 0,23mg ácido adenílico/L, 0.20 mg  $\text{NH}_3\text{-N/L}$ , 0,05mg  $\text{NO}_3\text{-N/L}$ , y 400 mg  $\text{Cl/L}$ , todo se llevara a un volumen de 1000ml.

## 5.2.1 Procedimiento de Preparación de Estándares

### 5.2.1.1 Estándares de curva calibración

A partir de la solución patrón de fosfato de 50mg  $\text{P-PO}_4\text{/L}$ , preparar el estándar intermedio de 10mg/L para la preparación posterior de las concentraciones indicadas en la Tabla 4, con las cuales se debe elaborar la curva de calibración.

- Estándar intermedio de 10mg/L. A partir de la solución patrón de 50mg/L, tomar 20mL y llevarlos a volumen en un balón aforado de 100mL, con agua ultra pura.

|   |   |                     |
|---|---|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|   |   | Versión : 03        |
|   |   | Fecha: 21/10/2020   |
|   |   | Página 4 de 12      |

- Estándar de 1,00 mg/L. A partir de la solución intermedia de 10 mg/L, tomar 20 mL de ésta solución y llevar a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua ultra pura.
- Estándar de 0,80 mg/L. A partir de la solución patrón de 50 mg/L, tomar 4 mL de ésta solución y llevar a volumen en un balón aforado de 250 mL, con agua ultra pura
- Estándar de 0,50 mg/L. A partir de la solución intermedia de 10 mg/L, tomar 10 mL de ésta solución y llevar a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua ultra pura.
- Estándar de 0,30 mg/L. A partir de la solución intermedia de 10 mg/L, tomar 6 mL de ésta solución y llevar a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua ultra pura.
- Estándar de 0,10 mg/L. A partir de la solución intermedia de 1,00 mg/L, tome 20 mL de ésta solución y llevar a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua ultra pura.
- Estándar de 0,05 mg/L. A partir de la solución intermedia de 1,00 mg/L, tomar 10 mL de ésta solución y llevar a volumen en un balón aforado de 200 mL, con agua ultra pura.

**Tabla 3. Estándares de la curva de calibración**

| Concentración requerida (mg/L) | Concentración Patrón (mg/L) | Volumen alícuota (mL) | Volumen Final (mL) |
|--------------------------------|-----------------------------|-----------------------|--------------------|
| 0,05                           | 1,00                        | 10                    | 200                |
| 0,10                           | 1,00                        | 20                    | 200                |
| 0,30                           | 10,0                        | 6                     | 200                |
| 0,50                           | 10,0                        | 10                    | 200                |
| 0,80                           | 50,0                        | 4                     | 250                |
| 1,00                           | 10,0                        | 10                    | 100                |

**Nota:** Preparar una curva de calibración con el cambio de solución de patrón de fosfatos.


#### 5.2.1.2 Estándares de control

Cada vez que pase un lote de muestras, prepare estándares de control de 0.05, 0.10 y 1,0 mg/L, de acuerdo con la Tabla 3 de este documento.

Además de correr una mezcla de fósforo Orgánico e inorgánico.

#### 5.2.1.3 Estándares de matriz fortificada

Cada vez que pase un lote de muestras, incluya una muestra fortificada y su duplicado. Las concentraciones se indican en la Tabla 4. Antes de la preparación de la matriz, consulte en la carta de control el valor asignado de concentración a adicionar.

|   |   |                     |
|---|---|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|   |   | Versión : 03        |
|   |   | Fecha: 21/10/2020   |
|   |   | Página 5 de 12      |

**Tabla 4. Estándares para matriz fortificada**

| Solución Intermedia (mg/L) | Volumen Alicuota (ml) | Volumen Final (ml) | Concentración de la adición (mg/L) |
|----------------------------|-----------------------|--------------------|------------------------------------|
| 10                         | 6                     | 200                | 0,30                               |
| 10                         | 4                     | 200                | 0,20                               |
| 10                         | 10                    | 200                | 0,50                               |
| 10                         | 12                    | 200                | 0,60                               |

### 5.3 Materiales

- Balones aforados clase A de 100, 200, 250 mL.
- Erlenmeyer de 125 mL.
- Erlenmeyer de 250 mL
- Pipetas aforadas clase A, de 4, 6, 10, 20 mL.
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL.
- Probeta de 25 mL y 50mL.
- Pipeta Pasteur.
- Microespátula.
- Celda de vidrio.
- Papel para limpiar lentes.

### 6. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

La presencia de turbidez y color en la muestra debe corregirse elaborando un blanco. Ver numeral 8.4.3 de este instructivo.

Las muestras con bajas concentraciones de fósforo no se deben almacenar en botellas plásticas a menos que se congelen, debido a que los fosfatos se pueden adsorber en las paredes plásticas.

#### 6.1 Condiciones Ambientales


El método no exige condiciones específicas o aquellas que se encuentren por fuera de las condiciones ambientales del laboratorio.

### 7. CONTROL Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Las prácticas de control de calidad se consideran parte integrante de cada método, para este método se incluye la siguiente tabla.

**Tabla 5. Control de Calidad Método 4500-P B,E**

| Límite de Detección del Método | Blanco del Método (MB) | Blanco Fortificado en Laboratorio (LFB) | Matriz Fortificada en Laboratorio (LFM) y Duplicado Matriz Fortificada en Laboratorio (LFMD) | Otro |
|--------------------------------|------------------------|---|--|------|
| X                              | X                      | X                                       | X  | 3    |

|   |  |                     |
|---|--|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.</b>  | Código: M-S-LC-I002 |
|   | <b>DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Versión : 03        |
|   |  | Fecha: 21/10/2020   |
|   |  | Página 6 de 12      |

Tomado del SM Tabla 4020: I (3. Consulte 4020B del SM para más Requisitos de control de calidad).

- Con cada lote se correrá una mezcla de fósforo orgánico e inorgánico preparada con los reactivos Hexametafosfato e Sodio y Ácido Adenilico.
- Los blancos se analizan para determinar si la calidad del agua y de los reactivos es óptima. Estos deben registrar absorbancia con cifras exponenciales de  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ .
- Con cada lote de muestras se debe correr el LDM que para este caso es de 0,05 mg P/L.
- Los duplicados evalúan la limpieza del material de vidrio, la purga adecuada de la celda, la repetibilidad del método.
- Realizar por duplicado una muestra adicionada al azar. Incluir un duplicado para cada tipo de matriz diariamente con cada lote de 20 muestras o menos. El porcentaje de diferencia relativa (RPD) de los duplicados no debe ser mayor al 10%; si la variación excede este límite, repetir el análisis para el grupo de muestras contraladas por este duplicado.
- Llevar los registros de los estándares de control de 0,05 mg P/L, 0,10 mg P/L y 1,00 mg P/L en las cartas de control Carta de control exactitud M-S-LC-F055, Carta de control Precisión M-S-LC-F056 y Carta de control recuperación y duplicados M-S-LC-F057.
- Cuando los resultados se encuentren entre el límite de alarma y control, revisar todo el procedimiento para determinar que ocurrió. Si cualquier dato cae fuera de los límites de control debe ser reexaminado y si es necesario, se debe repetir el análisis de todo el grupo de muestras controlado por el estándar que no cumplió. No realizar más análisis hasta verificar que sucedió, comunicar la anomalía al Líder de fisicoquímica. Repetir iniciar nuevamente la marcha analítica cuando el Líder de fisicoquímica lo indique.
- Tomar las acciones respectivas en el caso que se presenten tendencias de datos en la carta de control, de acuerdo con lo definido en el M-S-LC-I051 Instructivo de Aseguramiento de Calidad Analítica.

## 8. DESARROLLO


### 8.1 Principio

El fósforo total (P) se determina en una muestra sin filtrar y en ella están presentes todas las formas de fósforo. Debido a que el fósforo puede estar presente en combinación con la materia orgánica, es necesario para determinar el fósforo total, preparar la muestra mediante un método de digestión capaz de oxidar la materia orgánica efectivamente, para liberar el fósforo como orto fosfato, para su posterior determinación por el Método del Ácido Ascórbico. La concentración de fósforo total se registra como mg P total /L.

El fósforo se encuentra en aguas naturales y residuales casi exclusivamente como fosfatos, los cuales se clasifican en ortofosfato, fosfatos condensados (piro-, meta-, y otros poli fosfatos) y fosfatos orgánicos

El Molibdato de amonio y el Tartrato de antimonio y potasio reaccionan en medio ácido con el ortofosfato para formar un heteropoliácido -ácido fosfomolibdico- que es reducido por Ácido ascórbico a un complejo azul de molibdeno intensamente coloreado; sólo las formas de ortofosfato forman dicho color azul en esta prueba.

La presencia de fósforo en los cursos de agua proviene del uso de fertilizantes, jabones, detergentes, o del suelo. A mediano plazo pueden producir en las aguas continentales proliferación de algas y otros vegetales acuáticos (eutrofización). Los polifosfatos utilizados en los detergentes o en el tratamiento de aguas

|   |   |                     |
|---|---|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|   |   | Versión : 03        |
|   |   | Fecha: 21/10/2020   |
|   |   | Página 7 de 12      |

perjudican la depuración, al impedir la floculación y el desendurecimiento, al tiempo que pueden producir gran cantidad de espuma.

Según la Resolución 2115 del 2007 del entonces Ministerio de Protección social, Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial en el artículo 7, cuadro 4, se especifica un valor máximo admisible de 0,5 mg/L, expresado como fosfatos, como criterio de calidad para agua para consumo humano con implicaciones sobre la salud.

## 8.2 Toma y preservación de muestras

Colectar las muestras en envases de plástico ó vidrio y preservarlas con ácido sulfúrico concentrado hasta un pH < 2. Las muestras así preservadas tienen un tiempo máximo de espera para el análisis de 28 días.

## 8.3 Limpieza de vidriería y material de campo

La contaminación con fosfato es común debido a su absorción en las superficies de vidrio por esta razón se debe evitar el uso de detergentes comerciales que contienen fosfato.

Lavar toda la vidriería con jabón neutro libre de fósforo, enjuagar con agua de la llave, posteriormente dejar en HCl diluido al 5% y enjuagar muy bien con agua destilada. Consultar el procedimiento Lavado material de vidrio.


Utilizar la vidriería a la que se le haya efectuado control de calidad y reservar esta vidriería únicamente para las determinaciones de Fósforo Total.

## 8.4 Ejecución de la técnica

### 8.4.1 Digestión de muestras

Para la determinación de fósforo total, realizar hidrólisis ácida preliminar a los blancos, estándares y muestras:

- Transferir al erlenmeyer de 200 ó 250 mL, 50 mL de la muestra bien mezclada; adicionar en la cabina extractora de inorgánicos 1 mL de ácido sulfúrico concentrado y 5 mL de ácido nítrico concentrado.
- Colocar las muestras sobre las planchas de calentamiento en la cabina extractora de vapores ácidos, graduarlas en un valor de calentamiento de 15, vigilar constantemente para que no se evaporen totalmente; inmediatamente salgan humos blancos es el momento de finalizar la digestión hasta un volumen final de 1,0 mL.
- En algunas muestras hasta este punto se puede formar un precipitado u observarse la presencia de sólidos finos, es decir la muestra no está bien digerida. En este caso, diluir la muestra 2 ó 5 veces y realizar nuevamente la digestión.
- Tener en cuenta de rotular el valor de las diluciones, en todos los pasos.
- Cuando finalice la digestión, dejar enfriar las muestras dentro de la cabina extractora de vapores inorgánicos y con un frasco lavador de orificio fino enjuagar las paredes del erlenmeyer con agua ultra pura, hasta un volumen que no sobrepase los 30 mL; adicionar 0,05 mL (1 gota) de solución indicadora de fenolftaleína y neutralizar hasta un color rosa profundo con NaOH 10N. Posterior neutralizar con ácido sulfúrico 5N, hasta desaparición del color.
- Llevar nuevamente a volumen de 50 ml con agua ultra pura y agitar varias veces para una perfecta homogenización.

|   |   |                     |
|---|---|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|   |   | Versión : 03        |
|   |   | Fecha: 21/10/2020   |
|   |   | Página 8 de 12      |

- La muestra ya está lista para la determinación de fósforo por el Método del ácido ascórbico.
- Cuando en una muestra observe una buena digestión, pero ésta presenta algo de color o turbidez, realizar corrección de turbidez, en el momento de la lectura en el espectrofotómetro.

#### 8.4.2 Curva de Calibración


Con los estándares preparados en el numeral 5.2.1.1 proceder de la siguiente forma:

- Transferir una alícuota de 25 mL del blanco y de los estándares, a Erlenmeyer rotulados. Adicionar 4 mL del reactivo combinado al blanco y a los estándares, mezclar completamente, y después de mínimo 10 minutos, pero antes de 30 minutos, leer en el espectrofotómetro.
- Para iniciar las lecturas fotométricas, colocar el blanco de reactivos en la celda, leer como blanco para verificar la observación de una línea recta horizontal en el rango de la longitud de onda de los 880 nm. De presentarse alguna alteración, volver a hacer la lectura como blanco, hasta que sea normal.
- Leer el blanco como estándar y como muestra y codificar como blanco. La absorbancia debe registrar cifras exponenciales de  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ . Si no se cumple, volver a leer como estándar y como muestra.
- Leer los estándares en orden creciente, como estándares y enseguida como muestras. La gráfica de absorbancia contra concentración de fosfato da una línea recta que pasa por el origen.
- El equipo solicita la rotulación de cada muestra, que debe indicar el valor nominal del estándar, con las unidades.
- Antes de aceptar los datos, hacer la verificación de Control y aseguramiento de calidad, numeral 7 de este instructivo.
- Almacenar los datos en la carpeta del año correspondiente, en la subcarpeta fósforo total. Grabar la curva, los estándares y las muestras de dicha curva de calibración con la fecha en que se realizó el análisis (dd/mm/aa), en la carpeta curvas, en la carpeta estándares y en la carpeta muestras respectivamente. Imprimir el reporte y entregar al encargado de la auditoría de verificación.
- Registrar con la fecha los datos sobre la curva de calibración aprobada por la auditoría de verificación en el seguimiento respectivo que realiza el laboratorio.

#### 8.4.3 Procesamiento de la Muestra

- Solicitar las muestras a analizar con el suficiente tiempo para permitir atemperarlas.
- **Pretratamiento de la muestra:** Realizar la digestión (numeral 8.4.1 de este instructivo).
- **Corrección por turbidez o color.** El color natural del agua generalmente no interfiere a la longitud de onda empleada. Para aguas altamente coloreadas o turbias, preparar un blanco de la muestra filtrada que presenta esta característica, adicionar a 25mL de muestra, 4mL de reactivo combinado modificado (mezclando exclusivamente 50mL de  $H_2SO_4$  5N y 15mL de molibdato de amonio). Leer este blanco como muestra, registrar el código de la muestra y la palabra blanco y a continuación leer la muestra a la que se le ha adicionado el reactivo combinado completo. Reportar el valor de concentración de esta muestra mediante cálculo adicional sustrayendo los valores de concentración de muestra y su blanco correspondiente.



|   |  |                     |
|---|--|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>         DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>         DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>         ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|   |  | Versión : 03        |
|   |  | Fecha: 21/10/2020   |
|   |  | Página 9 de 12      |

- Encender el espectrofotómetro UV-VIS con la lámpara de tungsteno (roja en el equipo) 45 minutos antes de iniciar las lecturas. La lectura de fósforo total debe hacerse a 880 nm. Cargar la curva correspondiente a la última curva de calibración.
- Verificar que la celda de vidrio de 1cm esté perfectamente limpia; si esta manchada de color azul, dejarla en jabón libre de fósforo y enjuagar perfectamente con agua desionizada. Si continúa manchada lavarla con ácido sulfúrico 5N y enjuagar con agua desionizada.
- **Procesamiento de la muestra:** Adicionar a cada muestra 4,0mL del reactivo combinado, mezclar completamente, y después de mínimo 10 minutos, pero antes de 30 minutos, leer en el espectrofotómetro.
- Al pasar un grupo de muestras, correr inicialmente un blanco de reactivos, leer como blanco y como muestra. Enseguida, pasar el estándar de baja y luego el de alta concentración.
- Utilizar el duplicado de muestra y el fortificado con su duplicado como controles de grupos de máximo veinte muestras, en cada lote.
- Identificar cada muestra con el consecutivo de radicación.
- Verificar que la absorbancia de la muestra no sobrepase el rango de absorbancia obtenida en la curva de calibración para el estándar de más alta concentración (1,00mg/L).
- Grabar los resultados primarios en el disco duro del computador del espectrofotómetro, en el que queda registrado el nombre del analito, nombre del método, archivo de la curva, ecuación de calibración, Límite de Cuantificación/detección del método, fecha y hora del análisis, nombre del operador, firma, nombre de la muestra, factor de dilución, concentración (mg/L) y absorbancia.
- Imprimir el reporte y entregar para archivar en la carpeta correspondiente, en espera de la auditoría analítica.
- Reportar la concentración redondeando el resultado hasta con cuatro (4) cifras significativas, tres (3) cifras decimales.
- Registrar en las cartas de control los resultados hasta con cuatro (4) cifras significativas, tres (3) cifras decimales.
- Realizar las observaciones que sobre Control y aseguramiento de calidad se han definido en este instructivo y en el Instructivo de Aseguramiento de Calidad Analítica M-S-LC-I051.
- Registrar los resultados en la correlación de variables (Fósforo).

### 8.5 Formatos

M-S-LC-F011 Formato entrega muestras a analistas

M-S-LC-F039 Solicitud de reactivos, vidriería y materiales

M-S-LC-F014 Rótulos de reactivos

M-S-LC-F007 Formato control diario del manejo de equipos

M-S-LC-F021 Formato de condiciones ambientales

M-S-LC-F054 Formato captura de datos primarios

|  |   |                     |
|--|---|---------------------|
|  | <b>INSTRUCTIVO DE ENSAYO.<br/>DETERMINACIÓN FÓSFORO TOTAL POR<br/>DIGESTION ACIDA, MÉTODO DEL ÁCIDO<br/>ASCÓRBICO SM 4500-P B, E.</b> | Código: M-S-LC-I002 |
|  |   | Versión : 03        |
|  |   | Fecha: 21/10/2020   |
|  |   | Página 10 de 12     |

M-S-LC-F055 Carta de control exactitud

M-S-LC-F056 Carta de control Precisión

M-S-LC-F057 Carta de control recuperación y duplicados

### 8.6 Cálculos y Resultados

El espectrofotómetro arroja resultados en mg PO<sub>4</sub>-P mg /L de acuerdo al factor de dilución digitado en el momento de la lectura, aplicando la siguiente fórmula:

$$P \text{ mg /L} = \text{Pendiente} \times \text{Absorbancia} \times \text{FD}$$

Pendiente = Obtenida a partir de la curva de calibración.

Absorbancia = Lectura realizada por el espectrofotómetro.

mg/LP-PO<sub>4</sub>= Concentración de fosfatos calculada y registrada por el espectrofotómetro UV-VIS.

FD= factor de dilución.

### 9. DIAGRAMA

Ver anexo1

### 10. DOCUMENTOS DE REFERENCIA Y BIBLIOGRAFÍA

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation.4500-P B E. 23 ed., New York, 2017.

### 11. HISTORIAL DE CAMBIOS

| VERSIÓN | FECHA      | DESCRIPCIÓN  |
|---------|------------|--|
| 01      | 14/12/2017 | Creación del documento con base a la nueva estructura del SGI  |
| 02      | 15/04/2020 | En el ítem 5.2 y 5.2.1.2 y 7, se incluye el uso de la Solución Mezcla Fosforo Orgánico e Inorgánico, de igual forma el control de calidad del límite de cuantificación el cual se debe correr con cada lote de muestras, en el 8.4.3 el redondeo y reporte de las cifras significativas, se modifica el cargo que aprueba el documento de Subdirector de hidrología por Coordinador Laboratorio de Calidad Ambiental: Realizo José Alexander Afanador. |
| 03      | 21/10/2020 | Nueva versión producto de la actualización de la documentación del Sistema Integrado de Gestión.   |

|   |  |   |
|---|--|---|
| ELABORÓ:<br><br><b>Adriana Dueñas Moreno</b><br>Contratista Grupo Laboratorio de<br>Calidad Ambiental | REVISÓ:<br><br><b>Carlos Martín Velásquez Ramírez</b><br>Contratista Líder Técnico Grupo Laboratorio de<br>Calidad Ambiental | APROBÓ:<br><br><b>Jonathan Danilo Uasapud García</b><br>Coordinador Grupo Laboratorio de Calidad<br>Ambiental |
|---|--|---|

**ANEXO 1. DIAGRAMA**

