	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 1 de 13

1. OBJETIVO

Establecer la metodología para la determinación del fósforo reactivo disuelto en agua, por el método colorimétrico de ácido ascórbico SM 4500-P, E, Ed. 23 de 2017.

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: 0,03 mg P-PO₄³⁻ / L – 1,00 mg P-PO₄³⁻ / L.

En la tabla 1 se puede observar los resultados obtenidos en la validación del método:

Tabla 1. Resultados Validación del Método


CÓDIGO DEL INSTRUCTIVO DE ENSAYO: M-S-LC-I020			
FECHA DE INFORME DE ESTANDARIZACIÓN: 14/09/2018			
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACIÓN
LÍMITE DE DETECCIÓN INSTRUMENTAL	0,00233	----	Absorbancia
LÍMITE DE DETECCIÓN DEL MÉTODO	0,030	mg P-PO ₄ ³⁻ /L	
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN DEL MÉTODO	0,030	mg P-PO ₄ ³⁻ /L	
PRECISIÓN EN TÉRMINOS DE % CV	3,99	%	Nivel de concentración bajo (0,06 mg P-PO ₄ ³⁻ /L)
	0,78	%	Nivel de concentración medio (0,50 mg P-PO ₄ ³⁻ /L)
	0,76	%	Nivel de concentración alto (0,90 mg P-PO ₄ ³⁻ /L)
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	6,70	%	Nivel de concentración bajo (0,06 mg P-PO ₄ ³⁻ /L)
	2,52	%	Nivel de concentración medio (0,50 mg P-PO ₄ ³⁻ /L)
	1,97	%	Nivel de concentración alto (0,90 mg P-PO ₄ ³⁻ /L)
INTERVALO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0,030 – 1,00	mg P-PO ₄ ³⁻ /L	Sin dilución de la muestra
RECUPERACIÓN EXPRESADO COMO %	101,29	%	Nivel de concentración bajo
	98,92	%	Nivel de concentración alto

3. DEFINICIONES

- **mg P-PO₄/L** = miligramos de fósforo como orto fosfato en un litro de solución.
- **g** = gramos
- **µg** = micro gramos
- **µm** = micrómetros
- **s** = Desviación estándar
- **UV - VIS** = Ultravioleta – Visible
- **RPD** = porcentaje de diferencia relativa
- **nm** = nanómetros
- **LCM** = Límite de Cuantificación del Método
- **CCV** = Control de Verificación Continua

4. ASPECTOS DE SEGURIDAD Y SALUD EN EL TRABAJO

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

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 2 de 13

Utilizar los Elementos de Protección Personal adecuados para la realización de la marcha analítica, (bata de laboratorio, zapatos antideslizantes, gafas protectoras y guantes de nitrilo).

Los residuos generados en la realización del análisis de nitratos, se vierten en canecas adecuadas y marcadas para tal fin y que luego serán tratados para su disposición final, de acuerdo al Instructivo de Disposición de Residuos.

5. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES

5.1 Equipos:

- Espectrofotómetro con fototubo infra-rojo para usar a 880 nm, con paso de luz de 2,5 cm o más.
- Balanza analítica de mínimo cuatro cifras decimales.
- Equipo de filtración al vacío.

5.1.1. Verificación de Equipos

Comprobar que los equipos se encuentran en óptimas condiciones, antes de operarlos. Diligenciar el formato M-S-LC-F007 de control diario de manejo del equipo.

- Verificar la balanza analítica con las masas antes de realizar cualquier pesaje.
- Verificar el volumen dispensado por las pipetas según el volumen requerido.

5.2 Reactivos:

Solicitar los reactivos, vidriería y material diligenciando el formato M-S-LC-F039. Etiquetar las soluciones y registrar la preparación en el formato M-S-LC-F064 Control de preparación de soluciones.

- **Agua ultra pura.** Usar agua ultra pura para preparar todas las soluciones y diluciones.
- **Ácido sulfúrico (H₂SO₄), 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 (H₂SO₄) concentrado: Como se produce una reacción exotérmica, esperar hasta la solución este fría antes de transferir cuantitativamente la solución a un balón de 500 mL y completar con agua ultra pura. Mantener en frasco de vidrio a temperatura ambiente.

5.2.1. Preparación de soluciones

- **Solución Stock de Fosfato de 50 mg P-PO₄⁻³/L:**
 - **A partir de la sal:** Disolver en agua ultra pura 0,2195 g de KH₂PO₄ anhidro y diluir a 1000 mL en balón volumétrico. Almacenar en nevera a 4°C ± 2°C en frasco de vidrio. 1,00 mL = 50,0 µg P-PO₄⁻³. Cambiar la solución cada seis meses.
 - **A partir de la Solución Estándar de Fosfatos de 1000 mg PO₄/L, trazable:** Tomar 150 mL de esta solución y diluir en 1000 mL en balón volumétrico. Almacenar en nevera a 4°C ± 2°C en frasco de vidrio. 1,00 mL = 50,0 µg P-PO₄⁻³. Verificar si esta solución se puede utilizar al menos seis meses.
- **Solución de Tartrato de Antimonio y Potasio:** Disolver 0,6858 g de K(SbO)C₄H₄O₆·½H₂O en 200 mL de agua ultra pura en un balón aforado de 250 mL y llevar a volumen. Por experiencia del laboratorio, esta solución puede durar 4 meses si se guarda en frasco de vidrio y se refrigera. No utilizar este reactivo después del tiempo recomendado ya que forma un precipitado azul en las muestras, minutos después de adicionar el reactivo combinado.

- **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. Preparación Reactivo Combinado

Número de muestras aprox.	Volumen preparado	H ₂ SO ₄ 5 N (mL)	Tartrato (mL)	Molibdato (mL)	Ácido ascórbico (mL)
7	30 mL	15	1,5	4,5	9
10	40 mL	20	2	6	12
12	50 mL	25	2,5	7,5	15
20	80 mL	40	4	12	24
25	100 mL	50	5	15	30

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.

- **Estándares de la curva de calibración**

A partir de la solución patrón de fosfato de 50 mg P-PO₄³⁻/L, preparar los estándares de las siguientes concentraciones 0,03 – 0,10 - 0,30 – 0,50 y 1,00 mg P-PO₄³⁻/L y elaborar la curva de calibración, con éstas concentraciones.

Tabla 3. Preparación de estándares de calibración

Tomar de:	Solución stock de 50 mg P-PO ₄ /L	Solución intermedia de 10 mg P-PO ₄ /L	Solución estándar de 1,0 mg P-PO ₄ /L	Volumen final
Para preparar:				
Solución intermedia de 10 mg P-PO ₄ /L	20 mL	-----	-----	100 mL
Estándar de 1,0 mg P-PO ₄ /L	-----	10 mL	-----	100 mL
Estándar de 0,50 mg P-PO ₄ /L	-----	5 mL	-----	100 mL
Estándar de 0,30 mg P-PO ₄ /L	-----	3 mL	-----	100 mL
Estándar de 0,10 mg P-PO ₄ /L	-----	-----	10 mL	100 mL
Estándar de 0,03 mg P-PO ₄ /L	-----	-----	3 mL	100 mL


Nota: Preparar una curva de calibración cada vez que cambie la solución patrón.

- **Límite de Cuantificación del Método (LCM) y estándar de Control de Verificación Continua (CCV):**

El LCM es 0,03 mg/L, este se prepara como se describió en la tabla anterior (Tabla 3) y el CCV es de 0.45 mg/L y se prepara tomando 0,9 mL del stock de 50 mg/L y llevando a 100 mL con agua ultrapura. (Tabla 4)

Tabla 4. Preparación del LCM y del CCV

Tomar de:	Solución stock de 50 mg P-PO ₄ /L	Solución estándar de 1,0 mg P-PO ₄ /L	Volumen final
Para preparar:			
LCM: 0,03 mg P-PO ₄ /L	-----	3 mL	100 mL
CCV: 0,45 mg P-PO ₄ /L	0,9	-----	100 mL

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 4 de 13

- **Fortificados sugeridos:**

Tabla 5. Preparación de fortificados

Tomar de:	Solución stock de 50 mg P-PO ₄ /L	Volumen final
Para preparar:		
0,25 mg P-PO ₄ /L	0,5 mL	100 mL
0,30 mg P-PO ₄ /L	0,6 mL	100 mL
0,35 mg P-PO ₄ /L	0,7 ml	100 mL

5.3 Materiales:


- Celda de cuarzo o vidrio, según como se haya realizado la validación. En este laboratorio se utiliza celda de cuarzo cuadrada de 1 cm.
- Balones aforados clase A de 100 mL.
- Erlenmeyer de 100 mL.
- Pipetas aforadas clase A, de 1, 2, 5, 10, 20 y 25 mL.
- Pipetas volumétricas de 5 y 10 mL.
- Transferpipeta que pueda medir 0,9 mL.
- Probetas de 25 mL y 50mL.
- Pipeta Pasteur.
- Microespátula.
- Celda de vidrio o cuarzo, de acuerdo a la que se haya utilizado para la curva de calibración.
- Papel para limpiar lentes.
- Filtros de membrana de 0,45 µm de diámetro de poro.
- Pre-filtros de fibra de vidrio (para muestras muy turbias)

6. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

- La presencia de turbidez y color en la muestra debe corregirse elaborando un blanco de muestra.
- Si la muestra tiene sólidos suspendidos o es difícil de filtrar en el filtro de membrana de 0,45 µm, debe filtrarse antes con un filtro de fibra de vidrio.
- Los arseniatos reaccionan con el reactivo de molibdato y producen un color azul similar al formado con el fosfato. Concentraciones de arseniatos tan bajas como 0,1 mg As/L interfieren en la determinación de fosfatos.
- Cromo Hexavalente y nitritos interfieren en los resultados 3% más bajo en concentraciones de 1 mg/L y de 10 a 15% más bajos en concentraciones de 10 mg/L.
- Sulfitos y silicatos no interfieren en concentraciones de 1,0 a 10 mg/L.
- No se encontró en la literatura metodología para corregir las anteriores interferencias.

6.1. Condiciones Ambientales:

Las condiciones ambientales de temperatura y humedad permanentes en el laboratorio, no interfieren en el desarrollo adecuado de la determinación de fósforo reactivo disuelto. En el área de análisis se cuenta con un termo higrómetro para registrar temperatura y humedad diariamente. M-S-LC-F021 formato condiciones ambientales.

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 5 de 13

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 6. Control Calidad Método 4500-P E

Calibración o Estandarización	Muestra Control (QCS)	Blanco del Método (MB)	Blanco Fortificado en Laboratorio (LFB)	Duplicado	Matriz fortificada en Laboratorio (LFM)	Duplicado matriz fortificada en laboratorio (LFMD)	Otro
-	-	X	X	X	X	X	3


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

- Utilizar material de vidrio al cual se le ha realizado el control de calidad.
- Efectuar el análisis de manera inmediata a la recepción de la muestra en el laboratorio, dentro de las 48 horas posteriores al muestreo.
- Analizar un blanco (BK) por cada lote de 20 muestras o menos. El análisis en blanco incluye todos los pasos y procedimientos de preparación del erlenmeyer con agua tipo I mas el reactivo combinado y confirmar que la absorbancia se encuentre en valores de cifras exponenciales de 10^{-3} y 10^{-4} .
- Procesar el LCM y un CCV de 0,45 mg P- PO_4^{3-} /L con cada lote de 20 muestras o menos.
- Procesar el fortificado de matriz y su duplicado semanalmente.
- Procesar un duplicado de muestra con cada lote de 20 muestras o menos y confirmar que cumpla con diferencia porcentual relativa (RPD) del 10%, teniendo en cuenta que los RPD pueden variar considerablemente debido a la matriz y concentración de la muestra.
- Llevar los registros de Carta control exactitud M-S-LC-F055, Carta control precisión M-S-LC-F056 y Cartas de control recuperación y duplicados M-S-LC-F057 para la determinación de fósforo reactivo disuelto.
- Registrar los resultados de cada QC en las cartas de control graficando el valor promedio diario de la concentración de los controles. Cuando los resultados se encuentren entre el límite de alarma y control, revisar todo el procedimiento para determinar que ocurre. Si cualquier dato cae fuera de los límites de control debe ser reexaminado y si es necesario, repetir el análisis de todo el grupo de muestras. No realizar más análisis hasta verificar que sucede; comunicar anomalía al líder de Físico –Química. Revisar e iniciar nuevamente la marcha analítica cuando el líder lo autorice.
- 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 del método

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 polifosfatos) y fosfatos orgánicos. El

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 6 de 13

análisis de fósforo envuelve dos pasos generales: (a) conversión de la forma de fósforo de interés a ortofosfato disuelto, y (b) determinación colorimétrica del ortofosfato disuelto.

El fósforo disuelto se determina en el filtrado de una muestra pasada a través de un filtro de 0,45 μm de diámetro de poro.

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 soluble 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 perjudican la depuración, al impedir la floculación y la eliminación de la dureza, 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 las características químicas como criterio de calidad para agua con implicaciones sobre la salud, un valor máximo admisible de 0,5 mg/L de fosfatos.

8.2. Toma y preservación de la muestra:

Colectar la muestra en envase de vidrio ámbar y no adicionar ningún preservante, refrigerar inmediatamente. 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.

Las muestras refrigeradas tienen un tiempo máximo de espera para el análisis de 48 horas. La muestra debe ser filtrada antes de realizar el análisis. Filtrar el contenido de toda la botella ya que se pueden compartir este filtrado con los análisis de nitritos y sulfatos, siempre y cuando el volumen de muestra sea suficiente.

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.


Las recomendaciones de lavado se pueden consultar en el Instructivo para el lavado de material de vidrio y plástico M-S-LC-015.

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

8.4. Ejecución de la técnica

8.4.1. Curva de Calibración. Con los estándares preparados proceder de la siguiente forma:


- Encender el espectrofotómetro UV-VIS con la lámpara de tungsteno (roja en el equipo) 50 minutos antes de iniciar las lecturas. La lectura de fósforo reactivo disuelto debe hacerse a 880 nm.

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 7 de 13

- Verificar que la celda de 1 cm esté perfectamente limpia; si esta manchada de color azul, dejarla en jabón libre de fósforo y enjuagar perfectamente con agua des-ionizada. Si continúa manchada lavarla con ácido sulfúrico 5 N y enjuagar con agua desionizada.
- Para leer una curva nueva se debe crear un método. Para el manejo detallado del equipo remitirse al documento M-S-LC-I008 Instructivo Espectrofotómetro UV-Vis con arreglo de diodos, HP 8453. Ver además el Anexo 2 de este documento.
- Transferir una alícuota de 25 mL del blanco y de cada uno de los estándares en erlenmeyer de 125 mL.
- Adicionar 4 mL del reactivo combinado a cada uno de los erlenmeyer, mezclar completamente para el desarrollo del color azul y después de mínimo 12 minutos, pero antes de 30 minutos, leer en el espectrofotómetro.
- Para iniciar las lecturas fotométricas de la curva colocar el blanco de reactivos en la celda y leer como **blanco**; verificar la observación de una línea recta horizontal en el rango de la longitud de onda de los 880 nm sin interferencias de señal. Inmediatamente leer el blanco como **estándar** y como **muestra**. La absorbancia debe registrar cifras exponenciales de 10^{-3} y 10^{-4} . Etiquetar la lectura en el software como blanco **BK**.
- Continuar la lectura de los estándares en orden creciente desde los de más baja concentración. Leer cada uno como **estándar** y enseguida como **muestra**. Etiquetar la lectura en el software con cada concentración. La gráfica de absorbancia contra concentración de fosfato da una línea recta que pasa por el origen.
- Para grabar la nueva curva se debe guardar en tres carpetas: **Método**, **Estándares** y **Muestras**. El nombre de los archivos va a ser la fecha en que se realizó la curva en formato **aaaa/mm/dd**.
- Imprimir el reporte como **método** y también como **resultados**.

8.4.2. Procesamiento de la Muestra

- Solicitar las muestras a analizar diligenciando el formato correspondiente.
- **Filtración preliminar.** Filtrar las muestras para la determinación de fósforo reactivo disuelto a través de un filtro de membrana de 0,45 μm . Las muestras de difícil filtración se deben filtrar con un prefiltro de fibra de vidrio.
- **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 25 mL de muestra, 4 mL de reactivo combinado modificado (mezclando únicamente 50 mL de H_2SO_4 5N y 15 mL 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.
- **Fortificado de matriz y su duplicado.** Escoger una muestra con suficiente volumen para realizar el fortificado, teniendo en cuenta que la adición no sobrepase en concentración, el 50% del rango de la curva. Llenar con 50 mL de muestra el balón de 100 mL, realizar la adición y completar de llenar con la muestra. El volumen de adición no puede pasar el 5% del volumen total de la muestra. El duplicado se sirve de este mismo balón.
- **Procesamiento de la muestra:**


	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 8 de 13

- i. Transferir una alícuota de 25 mL del blanco, del LCM y CCV, en un erlenmeyer de 125 ml y adicionar 4 mL del reactivo combinado a cada uno, mezclar completamente para el desarrollo del color azul y después de mínimo 12 minutos, pero antes de 30 minutos, leer en el espectrofotómetro.

Nota: Leer las muestras muy azules al final del lote ya que el color se adhiere fácilmente a la celda y podría afectar el resultado de la siguiente muestra. La alternativa es lavar la celda con jabón libre de fósforo y suficiente agua, después de la lectura de una muestra azul fuerte antes de leer una muestra clara.

- ii. Encender el espectrofotómetro UV-VIS con la lámpara de tungsteno (roja en el equipo) 50 minutos antes de iniciar las lecturas. La lectura de fósforo reactivo disuelto debe hacerse a 880 nm.
- iii. Verificar que la celda de 1 cm esté perfectamente limpia; si esta manchada de color azul, dejarla en jabón libre de fósforo y enjuagar perfectamente con agua des-ionizada. Si continúa manchada lavarla con ácido sulfúrico 5 N y enjuagar con agua desionizada.
- iv. Para leer un grupo de muestras utilizar la última curva de calibración del método. Para el manejo detallado del equipo remitirse al documento M-S-LC-I008 Instructivo Espectrofotómetro UV-Vis con arreglo de diodos, HP 8453. Ver además el Anexo 2 de este documento.
- v. Para iniciar las lecturas fotométricas de la curva colocar el blanco de reactivos en la celda y leer como **blanco**; verificar la observación de una línea recta horizontal en el rango de la longitud de onda de los 880 nm sin interferencias de señal. Inmediatamente leer el blanco como **muestra**. La absorbancia debe registrar cifras exponenciales de 10^{-3} y 10^{-4} . Etiquetar la lectura en el software como blanco **BK**.
- vi. Continuar la lectura del LCM, CCV, las muestras, el fortificado de muestra y su duplicado. Leer cada uno como **muestra**. Etiquetar la lectura en el software con el consecutivo de muestra y/o con el valor de los controles LCM o CCV.
- vii. Verificar que la lectura de la muestra no sobrepase el rango de absorbancia obtenida en la curva de calibración para el estándar de más alta concentración (1,0 mg/L). Si esto sucede realizar dilución de la muestra filtrada.
- viii. Grabar los resultados en la carpeta **Muestras**. El nombre de los archivos va a ser la fecha en que se realizó la lectura de las muestras en formato **aaaa/mm/dd**. Confirmar en el software el nombre del analito, nombre del método, archivo de la curva, ecuación de calibración, fecha y hora del análisis, nombre del operador, nombre de la muestra, factor de dilución, concentración (mg/L) y absorbancia.
- ix. Imprimir el reporte como **resultados** en el formato M-S-LC-F054 Captura de datos primarios. Realizar el redondeo de las lecturas con cuatro cifras significativas, máximo tres cifras decimales, de acuerdo con lo contenido a este respecto en el Instructivo de Aseguramiento de Calidad Analítica M-S-LC-I051.
- x. Colocar el formato en el AZ correspondiente de la técnica analítica para la revisión de los resultados del líder físico-químico y el visto bueno de la calidad del resultado.
- xi. Registrar los resultados en las cartas de control digitales, verificar que los valores se encuentren dentro de los límites de control. Escribir las observaciones del comportamiento del estándar en las cartas de control en el formato de captura de datos.
- xii. Registrar los datos obtenidos en la carpeta digital de correlación de variables FOSFORO.xls, en la columna de Fósforo Reactivo disuelto y la fecha en que se digitan estos resultados.
- xiii. Una vez los resultados estén revisados y aprobados, digitar el registro de los resultados en la base de datos del IDEAM.

- **Actividades finales:**

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 9 de 13

- i. Apagar la lámpara y el equipo, si no es requerido para otra técnica analítica.
- ii. Enjuagar el material y dejarlo en la zona de lavado; diligenciar el formato de solicitud de lavado de material M-S-LC-F003.
- iii. Diligenciar el formato de recepción de muestras y control de análisis M-S-LC-F002 con la fecha de realización de análisis y firma del analista responsable de la técnica.

8.5. Formatos

Formato entrega de muestras analistas M-S-LC-F011.
 Formato Solicitud de reactivos, vidriería y materiales M-S-LC-F039.
 Control de preparación de soluciones M-S-LC-F064.
 Formato Rótulos de reactivos M-S-LC-F014.
 Formato Control diario de manejo del equipo M-S-LC-F007.
 Formato carta control exactitud MS-LC-F055.
 Formato carta control precisión MS-LC-F056.
 Formato carta control precisión MS-LC-F056.
 Formato Cartas de control recuperación y duplicados M-S-LC-F057.
 Formato captura de datos primarios M-S-LC-F054.
 Formato Solicitud de lavado de material M-S-LC-F003.

8.6. Cálculo de Resultados

El espectrofotómetro entrega resultados en mg PO₄-P mg /L de acuerdo al factor de dilución digitado en el momento de la lectura, aplicando la siguiente fórmula:

$$mg P - PO_4 / L = 1 / Pendiente * Absorbancia * FD$$

Donde:

Pendiente = Obtenida a partir de la curva de calibración.

Absorbancia = Lectura realizada por el espectrofotómetro.

Mg P-PO₄/L = Concentración de fosfatos calculada y registrada por el espectrofotómetro UV-VIS.

FD= factor de dilución.


9. DIAGRAMA

Ver Anexo1 Diagrama de flujo – marcha analítica y Anexo 2 Diagrama Manejo del equipo.

10. DOCUMENTOS DE REFERENCIA Y BIBLIOGRAFÍA

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. 23rd Edition, Washington D.C, 2017. 4500-P A y E.

Instructivo de manejo Espectrofotómetro UV-VIS Hewlett Packard 8453, código M-S-LC-I008.

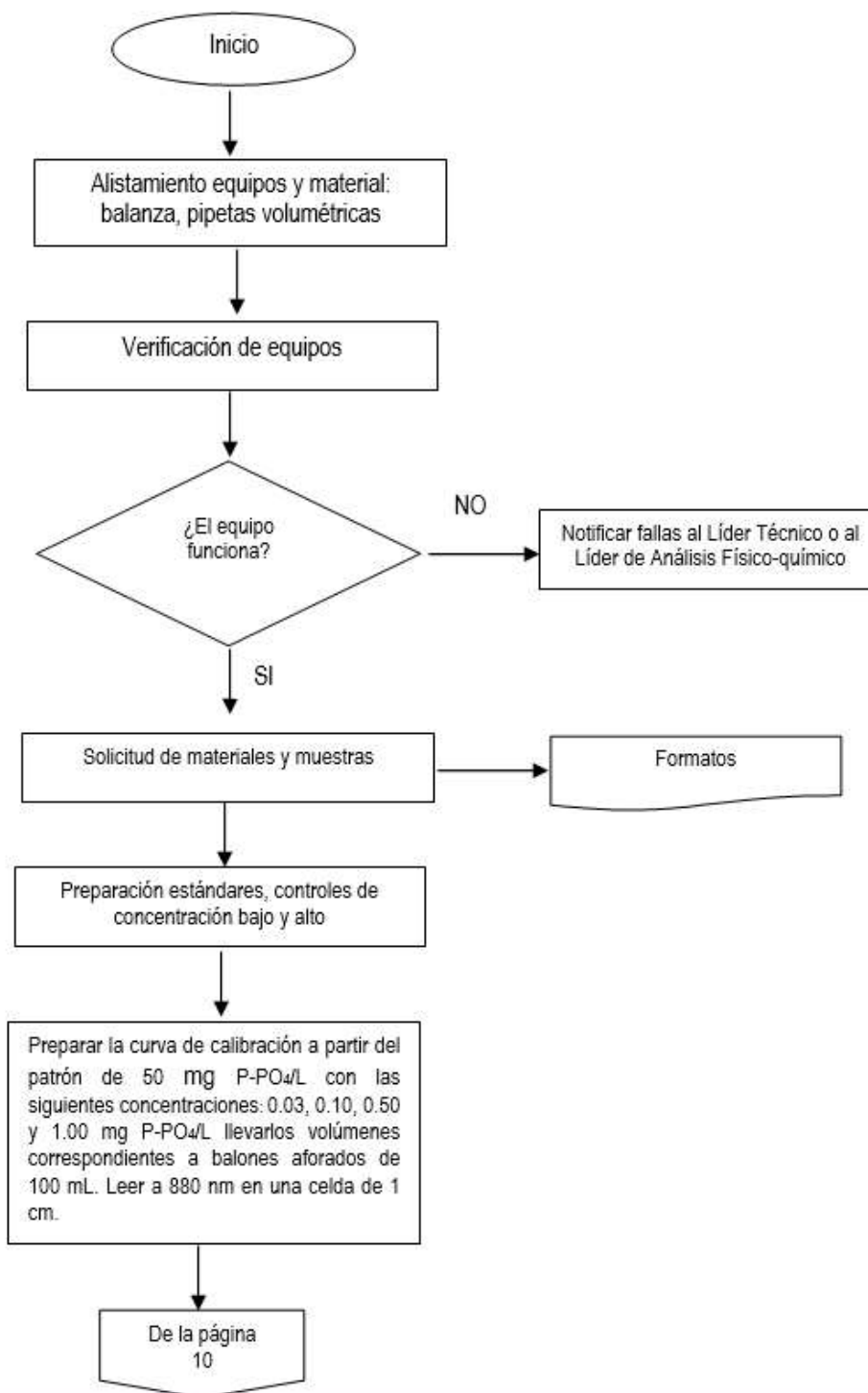
	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 10 de 13

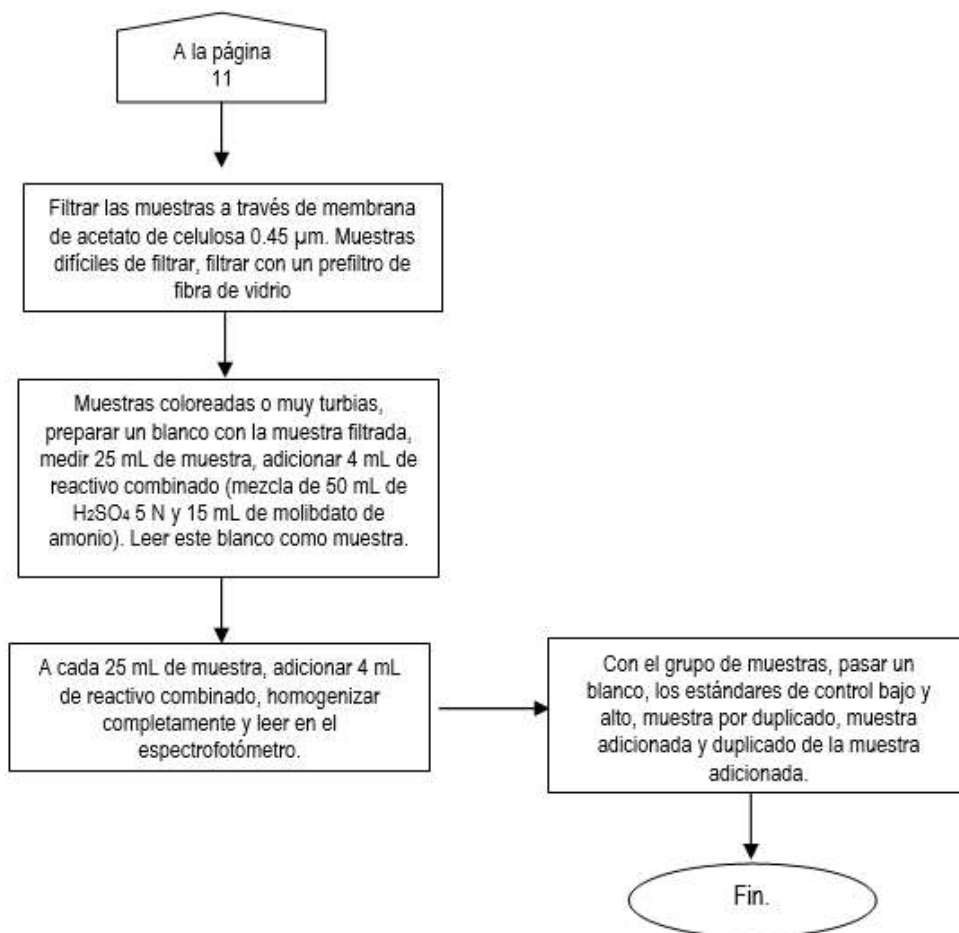
11. HISTORIAL DE CAMBIOS


VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN
01	14/12/2017	Creación del documento con base a la nueva estructura del SGI
02	18/02/2018	Actualización tabla de resultados de validación y se adicionó tabla de preparación de estándares para la curva de calibración, se adicionó diagrama anexo 2, se adicionaron documentos de referencia y bibliografía.
03	27/03/2020	Se adicionaron algunas definiciones, se adicionó nueva preparación del stock de 50 mg/L a partir de Solución Estándar de Fosfatos de 1000 mg PO ₄ /L trazable, se adicionó la tabla de preparación del CCV, se adicionó tabla de preparación de fortificados, se complementan algunos puntos de la Ejecución de la Técnica y se corrige la fórmula del cálculo de resultados
04	21/10/2020	Nueva versión producto de la actualización de la documentación del Sistema Integrado de Gestión.

ELABORÓ: Gladys Yadira Güiza Arias Química Laboratorio de Calidad Ambiental	REVISÓ: Carlos Martín Velásquez Ramírez Contratista Líder Técnico Laboratorio de Calidad Ambiental	APROBÓ: Nelson Omar Vargas Martínez Subdirector de Hidrología
---	---	---

ANEXO 1. Diagrama de flujo – Marcha analítica





	INSTRUCTIVO DE ENSAYO FÓSFORO REACTIVO DISUELTO MÉTODO DEL ÁCIDO ASCÓRBICO SM 4500-P E	Código: M-S-LC-I020
		Versión : 04
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 13 de 13

ANEXO 2. Diagrama de flujo – Manejo del equipo

