

APLICACIÓN ACADÉMICA DE HERRAMIENTAS ANALÍTICAS PARA DETECCIÓN RÁPIDA DE NITRATOS EN AGUAS DE POZO.

Romina A. Beltrán^{1,3}, Aldana A. Chesta², Benjamín M. Ventura³, María C. Bonavia³, Estefano Murialdo³

¹ Cátedra Química Analítica Aplicada, Departamento de Ing. Química.

² Cátedra Química General, Departamento de Materias Básicas.

³ Grupo de Inv. en Simulación para Ing. Qca., FRVM de la UTN. Av. Universidad 450 – XGB5900 Villa María, Cba., Argentina.
achesta@frvm.utn.edu.ar

Resumen

En la cátedra Química General los estudiantes experimentan con preparación de soluciones, medición de rendimientos de reacción y titulaciones, entre otras técnicas de laboratorio. Luego, en Química Analítica Aplicada, ensayan técnicas sobre alimentos. A efectos de ampliar experiencias en determinaciones analíticas relacionadas con la química, se propone familiarizarlos con el uso de métodos de detección rápida, particularmente, de nitratos en aguas como alternativa frente a técnicas tradicionales.

El test utilizado está diseñado para análisis rápidos y sensibles de la determinación de nitratos en cualquier muestra de agua. Comparándose el color de reacción con una escala colorimétrica se logran evaluaciones precisas. Además, las ventajas en relación a otras técnicas son su fiabilidad y sencilla aplicación debido a que no es necesaria formación especial pudiendo realizarse en el lugar de toma de muestra al ser fácilmente transportable. Por tales razones, resulta de uso frecuente en la industria.

Los estudiantes debieron interiorizarse del manejo del producto comercial, planificar la toma de muestras, realizar las mismas y luego, aplicar la nueva herramienta realizando las determinaciones con el apoyo de las docentes.

Los resultados fueron confrontados a los obtenidos por espectrofotometría de las mismas muestras, realizándose un análisis comparativo. El contenido de nitratos fue examinado en aguas de pozo teniendo en cuenta los valores límites indicados por OMS y establecidos por CAA para aguas de consumo. Debido a discrepancias entre resultados alcanzados los estudiantes debieron analizar causas, posibles interferencias del método y programar nuevas determinaciones, realizadas con soluciones de nitrato verificando la escala.

Como conclusiones se indica que la experiencia permitió el desarrollo de nuevas habilidades, un aprendizaje más significativo de conceptos asociados con la temática tratada, fortaleció el manejo de técnicas de interés industrial, potenció la autonomía de trabajo del estudiante en la preparación y ejecución del método y despertó mayor interés académico.

Palabras Clave: Detección de nitratos en agua, herramientas analíticas, aplicación académica.

Introducción

El deterioro de los recursos hídricos es uno de los problemas más importantes a nivel mundial, la vulnerabilidad del medio hídrico radica primordialmente en su alto poder para disolver y transportar una gran variedad de sustancias de desecho. Los contaminantes llegan a los cuerpos de agua a través de diversas trayectorias, las cuales incluyen la atmósfera y el suelo (Molina Guevara S. J., 2010; Valadez Martínez D., 2013).

La contaminación por nitratos en zonas urbanas es una de las principales causas del deterioro de la calidad del agua subterránea y puede impactar sobre la salud humana a través de enfermedades de origen hídrico. Los nitratos son reducidos a nitritos, y generan una disminución en el transporte de oxígeno en la sangre, especialmente en menores de 6 meses, que pueden sufrir cianosis y síntomas de hipoxia (bajo nivel de oxígeno). La presencia de nitratos en el agua subterránea puede estar asociada principalmente a causas de origen urbano, industrial y rural. Su concentración en aguas subterráneas no contaminadas raramente excede los 10 mg/L. Los efluentes domiciliarios y la actividad agrícola intensiva pueden significar una contribución al deterioro en la calidad del agua, debido a la aplicación de fertilizantes y pesticidas que son transportados al sistema fluvial como contaminantes dispersos (Perdomo y otros, 2020; De Miguel-Fernández C., 2006).

La Organización Mundial de la Salud (OMS) norma el máximo permitido en aguas de consumo en 50 mg/L para proteger a los lactantes alimentados con biberón contra la metahemoglobinemia y recomienda concentraciones menores a 10 mg/L (OMS, 2013). A nivel nacional, el máximo permitido de nitratos es de 45 mg/L, según lo indica el Código Alimentario Argentino, en su capítulo XII dedicado a aguas.

En la actualidad, existe una gran variedad de técnicas que se aplican para la determinación de nitratos en aguas naturales y residuales y se continúa experimentando para mejorar las existentes y para desarrollar nuevas metodologías y procedimientos que permitan asegurar resultados cada vez más confiables. Esto resulta de importancia para los laboratorios que prestan servicios científico técnicos en materia de agua, debido a que requieren contar con determinaciones analíticas cuyos resultados sean exactos. Con respecto a los diferentes métodos existentes, se tienen los directos, tal como Espectrofotométrico ultravioleta y de Electrodo selectivo, y por otro lado los de forma indirecta, que se realizan a través de una especie reducida del ión nitrato, como lo es el método de reducción con ión Cd (Rujaimes Cruzata M., 2016; Valadez Martínez D., 2013; Molina Guevara S. J., 2010).

Por otra parte, las técnicas estandarizadas de análisis de nitratos son muy apropiadas para analizar muestras puntuales o discretas, ya que estas se preservan y se llevan al laboratorio para su análisis. Sin embargo, no funcionan para el análisis continuo y en el sitio, pues los equipos de laboratorio son grandes, costosos y no pueden llevarse a campo (Hernández-Alpizar, L., 2015).

A efectos de ampliar la experiencia de los estudiantes en determinaciones analíticas en las cátedras relacionadas con la química, se propone familiarizarlos, además de con las técnicas utilizadas usualmente en laboratorios, con el uso de métodos de detección rápida, particularmente en este caso, de nitratos en aguas como una alternativa frente a técnicas tradicionales.

La implementación de esta actividad práctica en el contexto de la asignatura química analítica aplicada tiene como objetivo una interrelación de conocimientos que resulte significativo para el aprendizaje del alumno, considerando la necesidad de integrar saberes que adquiere a lo largo de la carrera y durante el cursado de las distintas asignaturas que debe quedar debidamente consolidado, por cuanto al aprobar esta materia habrá alcanzado la titulación intermedia de Técnico Universitario en Química.

Por otra parte, la obtención de resultados de una técnica de estas características aun cuando no obliga a contar con significativa destreza en el manejo de elementos de laboratorio de control de calidad, si le demanda, para su cabal comprensión e interpretación de resultados, una asociación de conocimientos que ha ido desarrollando durante el cursado y aprobación de las distintas cátedras de química de los niveles anteriores partiendo desde la química general.

De esta manera, el alumno entenderá claramente que, la obtención de resultados con una metodología sencilla que presenta además la ventaja de su rapidez de aplicación, resultará muy significativo para su desempeño técnico en un laboratorio de calidad de una empresa o institución, y que aun cuando la situación no lo demande puntualmente cuenta con una integralidad de

conocimientos que le permitirá interpretar fehacientemente la validez del resultado alcanzado, las limitaciones o interferencias que podrían afectar la medición y las condiciones que permitan su aplicación. Además, será capaz de discernir acerca de la conveniencia o no de aplicar otras técnicas clásicas que demandaran mayores tiempos, otro tipo de instalaciones y/o equipamiento, para alcanzar el objetivo pretendido.

El método de detección rápida aplicado consiste en una técnica colorimétrica donde los iones nitrato se reducen a iones nitrito, que en solución ácida forman con el ácido sulfanílico una sal de diazonio. Ésta reacciona con un derivado del ácido benzoico dando un azocolorante amarillo anaranjado de distinta intensidad, dependiente de la concentración. La concentración de nitratos se determina semicuantitativamente por comparación visual del color de la solución analizada con las zonas de color de una tarjeta colorimétrica, incluida en el contenido del kit. Cabe aclarar, que los colores de la tarjeta se observan a través de una muestra de la misma agua analizada sin el agregado del reactivo, con el objetivo de que factores como la coloración propia de la muestra no afecten la percepción del color. El intervalo de medida y la cantidad de determinaciones se visualiza en la Tabla 1. Para muestras con más de 150 mg/l de NO_3^- deben realizarse diluciones con agua destilada.

Tabla 1. Intervalo de medida y número de determinaciones

| Intervalo de medida/ Graduación de la escala colorimétrica | Número de determinaciones |
|--|---------------------------|
| 10 – 25 – 50 – 75- 100 – 125 – 150 mg/l de NO_3^- | 200 |
| 2,3 – 5,6 – 11 – 17 – 23 – 28 – 34 mg/l de $\text{NO}_3^- \text{ N}^2$ | |

El test utilizado está diseñado para análisis rápidos y sensibles de cualquier tipo de muestra de agua, por ejemplo: aguas subterráneas, potables, superficiales, de la acuicultura y de piscinas, industriales, entre otras. El test no es adecuado para agua de mar. Este kit es particularmente adecuado para ser utilizado en campo, por su practicidad de manejo y pequeño estuche fácilmente transportable (Figura 1).

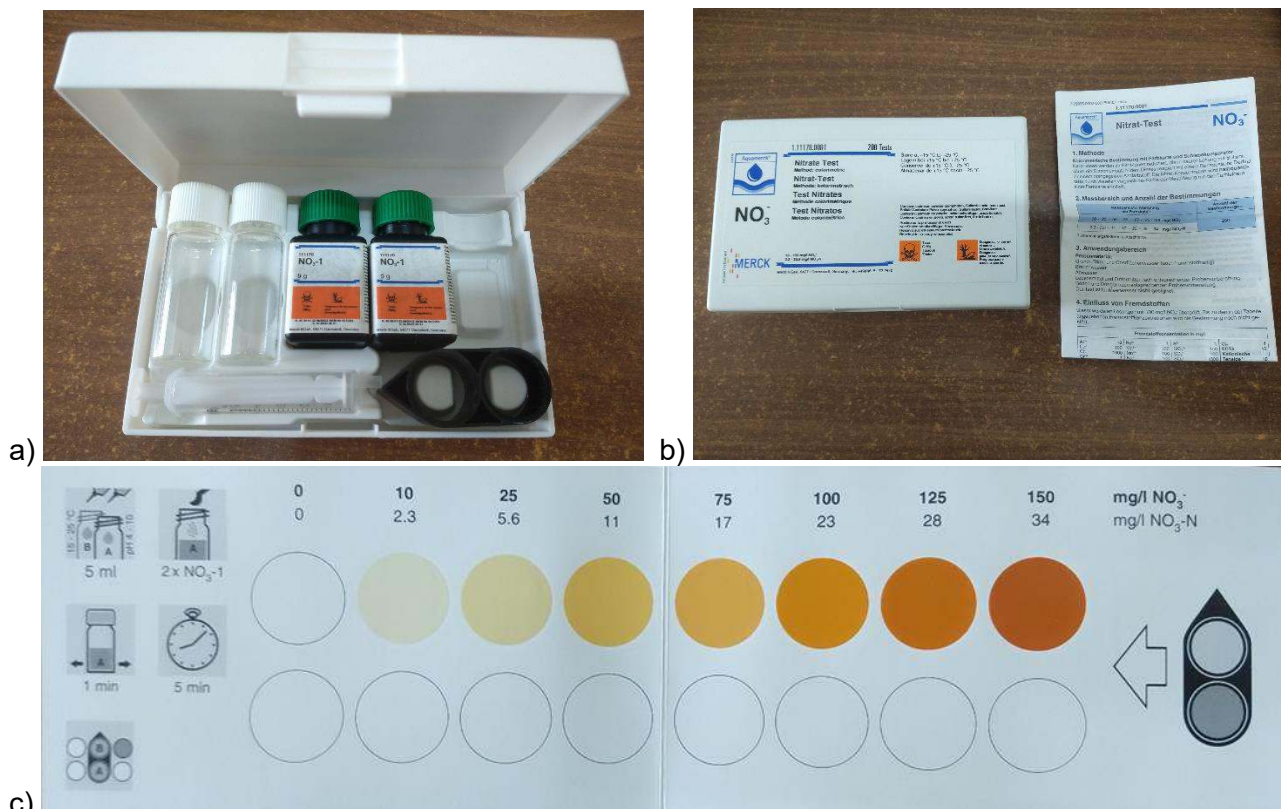


Fig. 1. a) Contenido del kit. b) Estuche cerrado e instrucciones. c) Tarjeta colorimétrica

Los resultados de las muestras de agua de pozo analizadas pudieron ser confrontados a los obtenidos por espectrofotometría de las mismas muestras en el espectrofotómetro de la Facultad Regional Villa María, en donde la determinación se realiza habitualmente para muestras de agua solicitadas por Laboratorio de Servicios a terceros. De esta manera pudo realizarse un análisis comparativo.

La técnica de monitoreo espectrofotométrico ultravioleta (UV) mide la absorbancia del nitrato a 220 nm y es adecuada en monitoreo de aguas de bajo contenido de materia orgánica, como aguas naturales sin contaminar y fuentes de agua potable. La materia orgánica disuelta, los agentes tensioactivos y el NO_2^- interfieren en tal método (Rodríguez, C.H., 2007; Vives De Andrés J.B., 2003).

Materiales y métodos

Se analizaron 13 muestras de aguas de pozo de diferentes puntos de las localidades de Villa María, Villa Nueva, Ausonia, Las Perdices y Arroyo Algodón. Las mismas se extrajeron en frascos estériles (por cuestiones de confidencialidad no se menciona en el presente trabajo exactamente los puntos de extracción). A continuación, se detallan los elementos utilizados para la realización de la actividad.

Frascos estériles para recolección de muestras
Matraces de 100 ml
Vasos de precipitado
Embudos
Cucharas
Agua destilada
Nitrato de potasio sólido 99,7%
Kit de detección rápida de nitratos

El contenido del kit utilizado:
Frasco de reactivo NO_3^-
Jeringas de plástico de 5 ml
Tubos de ensayo con tapa roscada
Comparador desplazable
Tarjeta colorimétrica

Las muestras de agua de pozo fueron recogidas en los frascos estériles de acuerdo a las indicaciones generales de recolección: se deja correr libremente el agua durante 2 a 5 minutos, seguidamente se llena completamente el recipiente, sin dejar cámaras de aire, luego se tapa e identifica la muestra. Es importante que las muestras sean tomadas menos de 24 horas antes de realizar la medición.

Seguidamente se llevó a cabo la técnica de acuerdo a las instrucciones del kit detalladas a continuación. Primero: Se enjuagan varias veces ambos tubos con agua destilada y luego con la muestra correspondiente. Luego se colocan 5 ml de muestra en cada tubo medidos con la jeringa, uno corresponde al blanco y al otro se le agregan 2 microcucharadas rasas del reactivo NO_3^- (en la tapa del frasco, ver Figura 2 a), se cierra firmemente el tubo al que se le agregó el reactivo y se agita vigorosamente durante 1 minuto (Figura 2 b).



a)



b)

Fig. 2. a) Microcucharada del reactivo b) Agitación de la muestra con el reactivo durante 1 minuto.

Una vez finalizada la agitación, se colocan los tubos de ensayo en el comparador desplazable y se sitúa el comparador sobre la tarjeta colorimétrica tal como ella lo indica (Figura 1 c). Se deja reposar 5 minutos.

A continuación, se desplaza el comparador sobre la escala colorimétrica hasta que, observando por encima de ambos tubos abiertos, los colores coincidan de la mejor manera posible con los colores de la escala.

Se lee en la tarjeta colorimétrica el valor de medición en mg/l de NO_3^- que señala el extremo puntiagudo del comparador desplazable (Figura 3). El frasco superior es el que contiene sólo la muestra (blanco) y el inferior es el que contiene la muestra con el reactivo y adquiere la coloración a comparar.

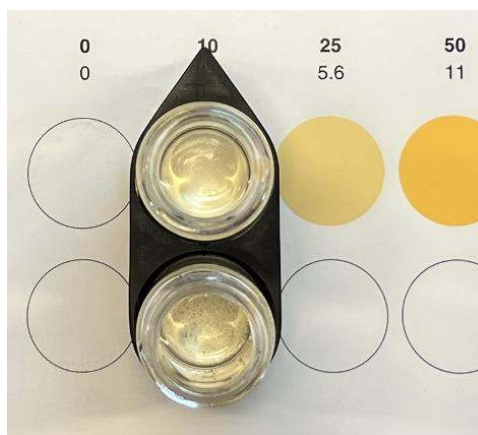


Fig. 3. Lectura en la tarjeta colorimétrica

Se prepararon seguidamente soluciones de nitrato de potasio sólido a diferentes concentraciones para luego ser medidas con el kit colorimétrico.

Resultados y discusión

De un total de 13 muestras analizadas: 8 resultaron contener nitratos dentro del límite establecido en CAA. Las restantes presentan valores por encima del valor límite establecido en CAA. Los resultados de los dos métodos se muestran en Tabla 2.

Tabla 2. Contenido de nitratos en las muestras de aguas de pozo.

| Muestras | Contenido de nitratos (mg/l) | |
|----------|------------------------------|--------------------|
| | Método colorimétrico | Espectrofotometría |
| 1 | 10 | 6,28 |
| 2 | 25 | 19,73 |
| 3 | 25 - 50 | 44,25 |
| 4 | 10 | 1,77 |
| 5 | 10 | 3,15 |
| 6 | 50 - 75 | 68 |
| 7 | 25 - 50 | 70,26 |
| 8 | 25 | 23,37 |
| 9 | 25 | 121,5 |
| 10 | 10 | 100,25 |
| 11 | 0 - 10 | 1,86 |
| 12 | 10 | 2,30 |
| 13 | 25 | 52 |

Al realizar la lectura puede que el color no coincida exactamente con uno de la tarjeta, por lo que es válido estimar un valor intermedio entre dos. Por esto es que en la columna de la Tabla 2 aparecen intervalos como en el caso de la muestra 6, interpretándose como una coloración algo mayor a 50 no alcanzando la coloración de 75.

En la Figura 4 se exponen las fotografías de algunas de las muestras medidas.

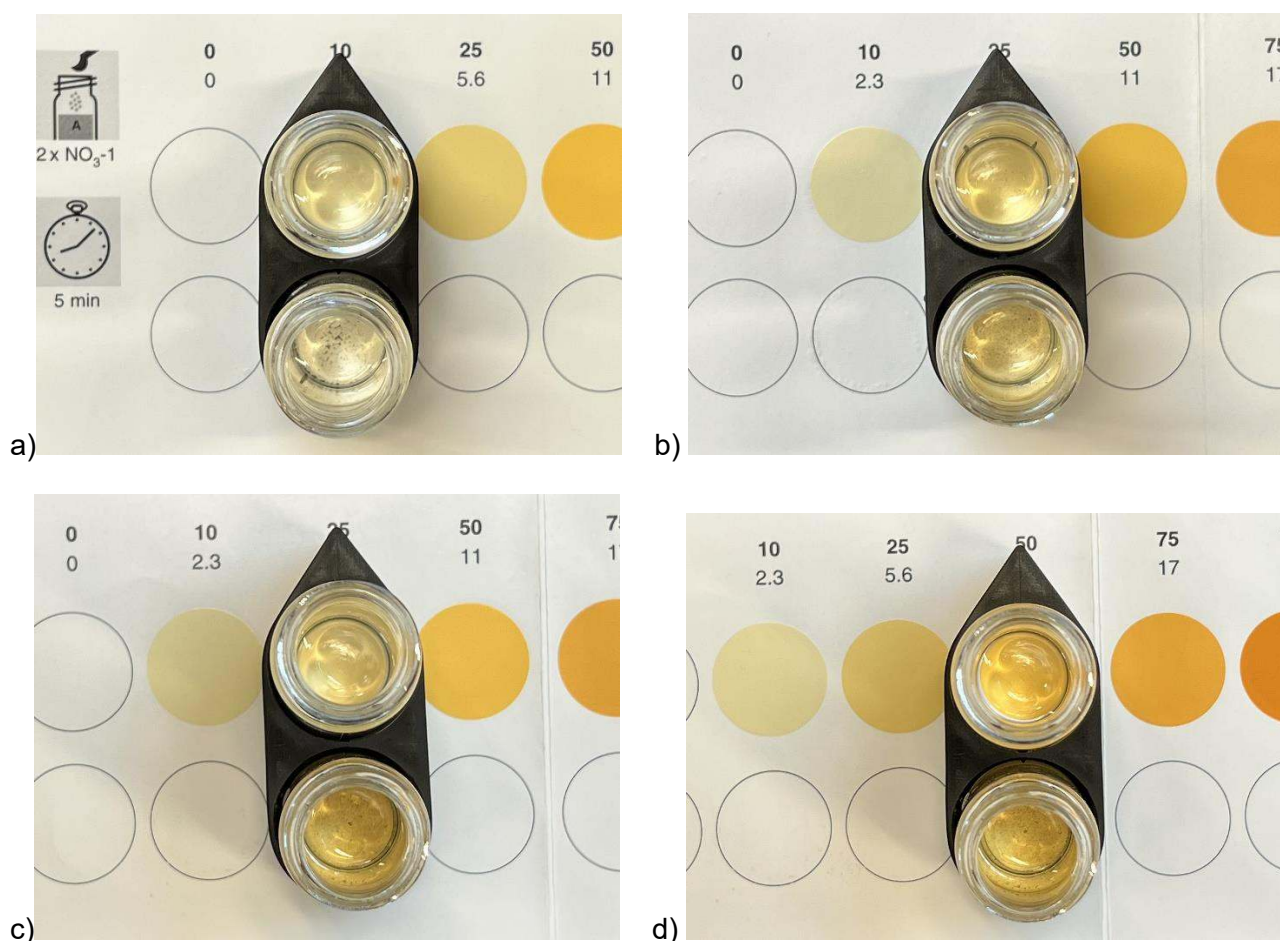


Fig. 4. Medición de a) muestra 4, b) muestra 8, c) muestra 7 ubicada sobre el 25mg/l, d) muestra 7 ubicada sobre el 50 mg/l

Como puede apreciarse en algunas de las fotografías en el frasco de la muestra con reactivo agregado hay residuos negros. El kit aclara que pueden aparecer, los mismos están condicionados por el mecanismo de reacción y no producen valores de medición falsos.

De la comparación entre los resultados del método rápido aplicado y la determinación por espectrofotometría, surgieron algunas discrepancias como puede observarse en la Tabla 2. Principalmente pueden observarse en las muestras 3, 7 y 13 y en mayor medida en la 9 y 10. A partir de éstas diferencias los alumnos debieron examinar posibles causas. La propuesta fue preparar soluciones con nitrato de potasio sólido a diferentes concentraciones y realizar las mediciones de concentración correspondientes, utilizando nuevamente el método colorimétrico.

Dicha idea surge de estudiar nuevamente las aplicaciones e instrucciones del kit, en donde se plantea la influencia de sustancias extrañas, comprobada en soluciones con 100 mg/l de NO_3^- . Hasta las concentraciones indicadas en la Tabla 3 la determinación aún no es interferida. Las sustancias extrañas de la Tabla en forma individual no generan interferencias. Sin embargo, no se han controlado los efectos acumulativos los cuales no pueden ser excluidos.

Tabla 3. Sustancias extrañas causantes de interferencias

| Concentración de sustancias extrañas en mg/l | | | | | |
|--|------|---------------------|-----|--------------------------------------|------|
| Al^{3+} | 10 | Mg^{2+} | 100 | SO_3^{2-} | 100 |
| Ca^{2+} | 100 | Mn^{2+} | 100 | SO_4^{2-} | 1000 |
| Cl^- | 1000 | Na^+ | 100 | Zn^{2+} | 100 |
| Cr^{3+} | 1 | NH_4^+ | 100 | Cl^- | 1 |
| CrO_7^{2-} | 1 | NO_2^- | 3 | EDTA | 10 |
| Cu^{2+} | 10 | PO_4^{3-} | 100 | Tensioactivos catiónicos | 10 |
| F^- | 10 | Polifosfatos | 100 | Tensioactivos aniónicos | 100 |
| Fe^{2+} | 10 | S^{2-} | 1 | Oxidantes (H_2O_2) | 10 |
| Fe^{3+} | 1 | SiO_3^{2-} | 100 | | |

Por lo tanto, se realizó la preparación de soluciones de nitrato de diferentes concentraciones, algunas de la escala indicada en el kit y otras intermedias. Dicha preparación fue realizada por el equipo docente para que los alumnos seguidamente realizaran las mediciones, no teniendo así nociones previas acerca de las concentraciones de cada una y la observación fuera objetiva. Se exponen en la Tabla 4 las diferentes concentraciones preparadas y los resultados observados mediante el test colorimétrico.

Tabla 4. Soluciones de nitrato preparadas y resultados de medición de las mismas.

| Solución | Contenido de nitratos (mg/l) | |
|----------|------------------------------|------------------------------|
| | Concentración preparada | Resultado observado del test |
| 1 | 25 | 25 - 50 |
| 2 | 50 | 50 |
| 3 | 60 | 50 - 75 |
| 4 | 75 | 75 |
| 5 | 90 | 75 - 100 |
| 6 | 100 | 100 |
| 7 | 110 | 100 - 125 |
| 8 | 125 | 125 |
| 9 | 150 | 150 |

Se exponen a continuación (Figura 5) algunas fotografías de las observaciones de la medición de las soluciones preparadas.

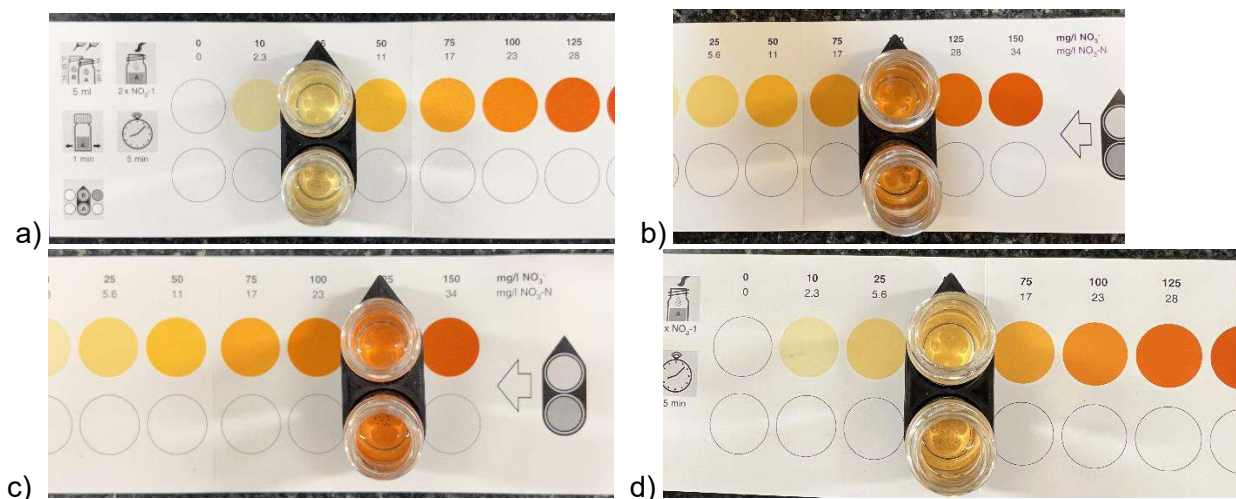


Fig. 5. Medición de soluciones a) 25 mg/l, b) 100 mg/l, c) 125 mg/l, d) 60 mg/l

Aun cuando resulta necesario incrementar la población de muestras a ser analizadas, se entiende que, las discrepancias observadas entre las técnicas utilizadas podrían deberse a la presencia simultánea de dos o más iones o alguna otra sustancia extraña no evaluada por el kit. Es decir, que algunas de las muestras de aguas de pozo contengan cantidad suficiente de sustancias extrañas que interfieran la medición colorimétrica. Ya que, como pudo observarse, en los resultados de las soluciones con nitrato no hubo interferencias aparentes en los resultados obtenidos de la observación. A modo de ejemplo la presencia de arsénico que es común en la zona evaluada podría afectar los resultados tal como lo menciona la información presentada en el manual de uso. Se prevé a futuro avanzar con nuevas determinaciones a efectos de identificar y/o encontrar la causa de la/s eventual/es interferencia/s.

Conclusiones

Como principales conclusiones se indica:

- La experiencia realizada permitió al estudiante el desarrollo de nuevas habilidades, principalmente potenciando la autonomía de trabajo.
- Alcanzó nuevos conocimientos relacionados con la interpretación del método, su preparación y posterior ejecución.
- Le demandó interiorizarse sobre su aplicación e investigar posibles causas de discrepancias con algunos de los resultados comparativos obtenidos por el método aplicado vs el de referencia, planteando hipótesis de lo ocurrido y debatiendo posibles actividades probatorias de la hipótesis.
- Se vio en la necesidad de analizar y encontrar fundamentos para entender tales situaciones problemáticas y evaluar alternativas para su resolución.
- Pudo evaluar la conveniencia de utilizar estas técnicas frente a las tradicionales y reconocer la factibilidad o no de aplicación.
- Pudo poner en práctica herramientas y técnicas trabajadas en química de años anteriores, así como también adquirir nuevas destrezas que posiblemente deba aplicar en su vida profesional.
- Se fortaleció el manejo de técnicas rápidas de interés industrial cuya aplicación resulta de uso habitual.
- Resultó un aprendizaje significativo de conceptos asociados con la temática tratada, que despertó su interés.

Referencias

De Miguel-Fernández C. y Vázquez-Taset Y. M. (2006) *Origen de los nitratos y nitritos y su influencia en la potabilidad de las aguas subterráneas*. Minería y Geología, vol. 22, núm. 3, pp. 1-9. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223517652002>

- FAO/OMS (2002) *Los nitratos y nitritos en el agua de consumo*. Disponible en <https://goo.gl/gKU1Ah>
- Hernández-Alpizar, L; Coy-Herrera, R. (2015) *Evaluación de técnicas de cuantificación de nitratos en agua potable para análisis en línea*. Tecnología en Marcha. Vol. 28, N° 4. Pág 86-93.
- Rodríguez C.H. (2007). *Nitrato en agua por Espectrofotometría UV*. Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales. Ministerio de Ambiente, Colombia.
- Ley 18.284 CÓDIGO ALIMENTARIO ARGENTINO. Capítulo XII. Disponible: https://www.argentina.gob.ar/sites/default/files/anmat_caa_capitulo_xii_aguas_actualiz_2021-08.pdf
- Molina Guevara S. J. (2010). *Estandarización de métodos de análisis para la determinación de nitratos, nitritos, compuestos fenólicos y aceites y grasas utilizados como indicadores de contaminación en aguas naturales y residuales industriales*. Universidad Industrial de Santander, Colombia.
- OMS (Organización Mundial de la Salud). (2013). *Guías para la calidad del agua potable*. 3 ed.
- Pacheco J. y Cabrera A. (2003) *Fuentes principales de nitrógeno de nitratos en aguas subterráneas*. Rev. Ingeniería, vol. 7, n.º 2, pp. 47-54.
- Perdomo S., Ainchil J.E., Ruiz M. S., Kruse E. E., Walhmann A. (2020) *Problemática de nitratos en el agua subterránea de zonas urbanas: caso de estudio Pergamino-Argentina*. Revista Latino-Americana de Hidrogeología, número especial, p. 44-52.
- Rujaimés Cruzata M. (2016) *Determinación de iones nitrato, cloruro y cianuro en aguas naturales y residuales empleando electrodos selectivos*. Facultad de Química-Farmacia Departamento de Licenciatura en Química, Cuba.
- Valadez Martínez, D. (2013) *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*. Universidad Nacional Autónoma de México, México.
- Vives De Andrés J.B. (2003) *Manual de técnicas analíticas para la determinación de parámetros fisicoquímicos y contaminantes marinos*. Instituto de Investigaciones marinas y costeras, Colombia.