

UNIVERSIDAD: Universidad Nacional de La Plata.

NÚCLO DISCIPLINARIO/COMITÉ ACADEMICO/OTROS TEMAS: Aguas. "Calidad del agua para distintos usos"

TÍTULO DEL TRABAJO: **DESARROLLO DE UNA METODOLOGÍA RÁPIDA, SENCILLA Y REPRODUCIBLE PARA LA DETERMINACIÓN DE NITRATOS Y NITRITOS EN AGUA**

AUTOR(ES): María A. Jaworski

CORREOS ELECTRÓNICOS DE LOS AUTORES: majaworski@quimica.unlp.edu.ar

PALABRAS CLAVES: contaminación de aguas, determinación de nitratos y nitritos, remediación catalítica.

INTRODUCCIÓN

Es sabido que tan sólo un 4.9% del agua de la superficie terrestre está disponible para consumo humano. De este mínimo porcentaje, un 68% se halla como agua subterránea siendo uno de los principales suministros para uso doméstico y riego para el 50% de la población mundial [1]. Sin embargo, en la actualidad, los altos niveles de nitratos encontrados en este suministro de agua (superiores a 44.26mg/l que son los niveles máximos permitidos por la *US Environmental Protection Agency*) en algunas zonas son motivo de preocupación tanto para la comunidad médica como científica. El uso excesivo de fertilizantes artificiales, la disposición de desechos orgánicos, particularmente de animales y plantas y cambios en el uso de las tierras destinadas al cultivo y la ganadería han sido uno de los factores responsables del progresivo aumento de los niveles de nitratos en las aguas subterráneas [2]. La ingesta de aguas con exceso de nitratos ocasiona graves problemas en la salud de las personas, en especial en los niños que padecen “el síndrome del bebe azul” que deriva en muchos casos en la muerte. Esto se debe a que un 25% del nitrato ingerido es rápidamente convertido en nitrito por la microflora oral y el tracto gastrointestinal. El nitrito en la sangre está implicado en la oxidación de la hemoglobina (Hb) a metaHb ya que se une firmemente al Fe^{2+} del grupo hemo oxidándolo a Fe^{3+} , incapaz de transportar oxígeno hacia los tejidos. Esta condición, denominada metahemoglobinemia, causa cianosis y, en altas concentraciones asfixia [3]. Además, se ha sugerido que los nitritos podrían aumentar el riesgo de contraer cáncer debido a su reacción en el estómago con aminos y amidas para formar N-nitrosaminas, muchas de las cuales actúan como potentes carcinogénicos en animales [4].

La investigación y desarrollo de tecnologías para remediar las aguas contaminadas con nitratos han ido en constante aumento en los últimos 20 años [5]. Entre las tecnologías propuestas se pueden citar las físico-químicas como intercambio iónico (actualmente empleada), ósmosis inversa y reducción catalítica, y las biológicas que emplean microorganismos [6]. Las desventajas que presentan el intercambio iónico y la ósmosis inversa radican en la necesidad de regenerar las membranas, utilizan cantidades considerables de energía y poseen un alto costo operacional, lo que las hace menos atractivas desde un punto de vista económico. Los procesos biológicos, por su parte, requieren una correcta elección de los microorganismos y un agudo control de las condiciones de crecimiento de los mismos y su desventaja reside en la generación de abundante biomasa y desechos y la contaminación bacteriana exógena [6]. Por ese motivo, la reducción de nitratos de soluciones acuosas en sistemas tipo batch utilizando hidrógeno molecular sobre un metal noble soportado sobre un sólido, ofrece una alternativa económica y potencialmente muy efectiva [7].

Actualmente son numerosas las publicaciones al respecto, sin embargo la reducción catalítica de nitratos es un tema de constante investigación debido a la necesidad de optimizar las condiciones operacionales, entre las que se puede citar: elección del reactor, elección del metal noble y del proceso de impregnación sobre el soporte, temperatura y pH adecuados, presencia de inhibidores competitivos y otras cuestiones más que aún quedan por resolver para obtener una alta actividad y selectividad en el proceso [8].

Una de las cuestiones que más inquieta al respecto, es la determinación de los intermediarios formados en las reacciones de desnitrificación, principalmente nitritos ya que resulta complejo determinar su concentración en presencia de nitrato. En la actualidad, para determinar ambos aniones se emplean varias técnicas, como cromatografía de intercambio iónico, HPLC, métodos fluorométricos, potenciométricos, de quimioluminiscencia y electroforesis capilar [9]. Sin embargo, todos ellos presentan algunas complicaciones como su alto costo y mantenimiento del equipo. Se han desarrollado varias técnicas espectrofotométricas que permiten cuantificar ambos iones, muchas de las cuales emplean reactivos tóxicos, fácilmente degradables y costosos. A su vez, los procedimientos para determinar nitritos son complejos ya que se precisa diazocopular este anión, con por ejemplo, sulfanilamida [10]. Este método, pese a presentar una alta sensibilidad, carece de selectividad y requiere demasiado tiempo lo que dificulta su uso rutinario o como control de proceso. Por lo tanto, es necesario el desarrollo de una técnica analítica que permita cuantificar diferencialmente ambos aniones y que resulte rápida, sencilla, económica, que no emplee reactivos tóxicos y que sea fácilmente reproducible.

Por tal motivo, en el presente trabajo se presentan dos técnicas espectrofotométricas fáciles de proceder para cuantificar ambos iones y corregir las interferencias que ambos se ejercen. Para la determinación de nitratos, el método se basa en usar como único reactivo HCl [11] y realizar las medidas en la zona del UV. Para la determinación de nitritos se tomó como base la técnica recientemente publicada por Galil y colab. [12].

OBJETIVO

Desarrollar un método espectrofotométrico sencillo, rápido y reproducible, que permita cuantificar nitratos y nitritos en aguas, analizando las interferencias que cada anión produce sobre el otro, con el objeto de aplicar la técnica a la determinación de ambos iones en reacciones catalíticas de reducción de nitratos en aguas de consumo humano.

METODOLOGÍA EXPERIMENTAL

PARTE 1- Curvas de calibración

Determinación de nitratos

Se preparó una **solución patrón 1000ppm** del anión nitrato a partir de KNO_3 , previamente secado en estufa a 120°C durante 24 h. Se pesó 0.8152g de la sal, se disolvió y se llevó a un volumen de 500ml con agua destilada libre de NO_3^- y NO_2^- . La solución fue conservada con 0.5ml de CHCl_3 .

A partir de la solución patrón, se prepararon 250ml de **solución intermedia de NO_3^- 50ppm**, partiendo de 12.5ml de solución patrón 1000ppm y llevando a volumen en matraz 250ml con agua destilada.

Para hacer la curva de calibración se emplearon matraces de 50ml a los cuales se les adicionó 1, 2, 5, 10, 25ml de la solución intermedia 50ppm, se les adicionó 1ml de HCl 1N y se llevó a volumen con agua destilada. Las muestras se midieron en un espectrofotómetro a 220nm contra un blanco preparado con 1ml de HCl y llevando a 50ml con agua destilada.

Determinación de nitritos

Para realizar la curva de calibración se debieron preparar las siguientes soluciones:

Solución NO_2^- 667ppm

Se partió de la sal KNO_2 secada en estufa a 120°C durante 24hs, se pesó 0.2008g de la sal, se disolvió y se llevó a volumen con agua destilada en matraz de 250ml.

Solución H_2SO_4 2M

Se prepararon 500ml de solución a partir de H_2SO_4 concentrado (98%).

Solución NH_4VO_3 0.01M

Se pesó 0.585g de la sal, se disolvió en agua destilada, se calentó la muestra sobre agitador magnético para favorecer la disolución de la misma. Una vez fría, se transfirió a un matraz de 50ml y se llevó a volumen.

Solución H_2O_2 0.025%

0.5ml de solución de H_2O_2 100% se llevó a volumen en matraz de 50ml con agua destilada (concentración final 1%) y 12.5ml de la solución se diluyeron con agua destilada en matraz de 500ml.

Para valorar el H_2O_2 , se empleó KMnO_4 0.016M (previamente valorada con $\text{Na}_2\text{C}_2\text{O}_4$).

Para preparar los patrones de NO_2^- , en matraces de 10ml se colocaron 0, 0,1; 0,2; 0,3 y 0,4ml de la solución 667ppm de NO_2^- , 2ml de H_2O_2 0.025%, 3ml de NH_4VO_3 0.01M y 3ml de H_2SO_4 2M llevándose a volumen con agua destilada. Las muestras se midieron en espectrofotómetro a 470nm contra agua destilada libre de nitratos y nitritos.

PARTE 2-Interferencias

Interferencia de NO_3^- sobre NO_2^-

Se midieron 30ppm de solución de NO_3^- a 470nm empleando la misma metodología usada para determinar NO_2^- , incluyendo un blanco de agua destilada.

Interferencia de NO_2^- sobre NO_3^-

Se midieron cantidades conocidas de ambos aniones por separado y luego juntos a 220nm, ya que el NO_2^- absorbe a 220nm, con el objeto de determinar si cada especie química absorbe independientemente en la región del UV y así poder sumar o restar sus absorbancias.

PARTE 3-Método analítico

Determinación espectrofotométrica de una mezcla de NO_3^- y NO_2^-

Habiendo comprobado previamente la aditividad de las absorbancias de NO_3^- y NO_2^- a 220nm, y la no interferencia del NO_3^- sobre la absorbancia del NO_2^- a 470nm, se plantean las siguientes expresiones de la ley de Beer:

$$1. A_{220} = \epsilon_{\text{NO}_2^-, 220} * b * [\text{NO}_2^-] + \epsilon_{\text{NO}_3^-, 220} * b * [\text{NO}_3^-]$$

$$2. A_{470} = \epsilon_{\text{NO}_2^-, 470} * b * [\text{NO}_2^-]$$

En ambos casos, $b = 1\text{cm}$. Combinando ambas ecuaciones:

$$3. [\text{NO}_3^-] = [A_{220} - \epsilon_{\text{NO}_2^-, 220} (A_{470} / \epsilon_{\text{NO}_2^-, 470})] / \epsilon_{\text{NO}_3^- 220}$$

Para hallar el ϵ_{220} del anión NO_2^- se realizó una curva de calibración a 220nm empleando distintas concentraciones del anión.

Con el objeto de estudiar si las técnicas empleadas hasta el momento permiten cuantificar eficientemente ambos aniones, se prepararon soluciones conteniendo cantidades conocidas de ambos en matraces de 50ml, se les agregó 1ml de HCl 1N y se llevó a volumen con agua destilada, midiéndose las absorbancias de las soluciones a 220nm contra agua destilada. Las mismas cantidades se colocaron en matraces de 10ml y se determinó su absorbancia a 470nm, empleando la metodología para determinar NO_2^- . El objeto de la experiencia fue determinar si la presencia de NO_3^- interfiere en la determinación de NO_2^- midiendo a 470nm y si la aditividad de las absorbancias de ambos aniones a 220nm, se mantiene para diferentes concentraciones de los mismos.

RESULTADOS

PARTE 1- Curvas de calibración

A continuación se muestran las curvas de calibración correspondientes a NO_3^- y NO_2^-

Determinación de nitratos

Absorbancia 220nm	ppm NO ₃ ⁻
0,071	1
0,131	2
0,311	5
0,608	10
1,523	25

Tabla 1A

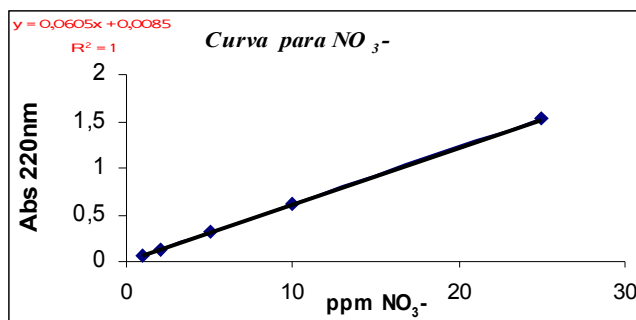


Figura 1A

Determinación de nitritos

Absorbancia 470nm	ppm NO ₃ ⁻
0,128	0
0,111	7
0,095	13
0,079	20
0,059	27

Tabla 2A

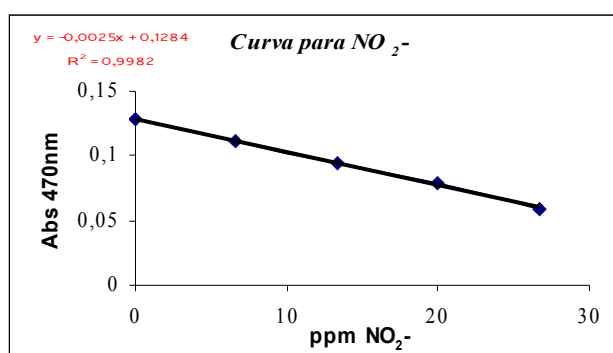


Figura 2B

El ϵ NO₂⁻ a 470nm fue de 1150 l mol⁻¹ cm⁻¹ y el de NO₃⁻ a 220nm dio 3750 l mol⁻¹ cm⁻¹

PARTE 2-Interferencias

Interferencia del anión NO₃⁻ sobre NO₂⁻

Los siguientes resultados corresponden a la interferencia de NO₃⁻ sobre la determinación de NO₂⁻.

ppm NO ₃ ⁻	Absorbancia 470nm
0	0.119
30	0.114

Tabla 3

Se obtuvo idéntico valor para las soluciones con y sin nitrato, por lo tanto se puede deducir que este anión no decolora el peroxavanato formado y por lo tanto no interferirá en las determinaciones de NO₂⁻.

Interferencia del anión NO₂⁻ sobre NO₃⁻

Tanto el anión NO₃⁻ y NO₂⁻ absorben a 220nm, por lo tanto fue necesario determinar si ambos aniones colocados en la misma solución absorben independientemente en la región del UV, para ello se comprobó la aditividad de sus absorbancias.

Para determinar si la presencia del ión NO₂⁻ afecta la absorbancia del NO₃⁻, se determinó la absorbancia de una cantidad de NO₂⁻ conocida (50ppm) y luego se restó esta absorbancia a las del NO₃⁻, obteniéndose los resultados detallados debajo.

ppm NO ₂ ⁻	ppm NO ₃ ⁻	Absorbancia total 220nm	Absorbancia NO ₃ ⁻ (A _{NO₂⁻} - A _{NO₃⁻})
50	0	0,621	
50	1	0,703	0,082
50	2	0,774	0,153
50	5	0,93	0,309
50	10	1,18	0,559
50	25	1,96	1,339

Tabla 4

Las absorbancias de NO₃⁻ halladas al restar la absorbancia a 220nm de las 50ppm de NO₂⁻ fueron similares a las expresadas en la **Tabla 1A** para el anión NO₃⁻ en ausencia de NO₂⁻.

En la tabla anterior se aprecia claramente que ambos iones absorben en 220nm independientemente uno del otro, por lo tanto, es posible sumar sus absorbancias y utilizar la ecuación (1) sin error.

PARTE 3-Método analítico

Determinación simultánea de de NO₃⁻ y NO₂⁻

Para desarrollar un método analítico que me permita cuantificar por separado ambos aniones y emplear la **ecuación 3** fue necesario realizar la curva para el NO₂⁻ a 220nm para hallar el ε a esa longitud de onda.

Absorbancia 220nm	ppm NO ₂ ⁻
0,021	1
0,041	3
0,082	7
0,172	13
0,431	33

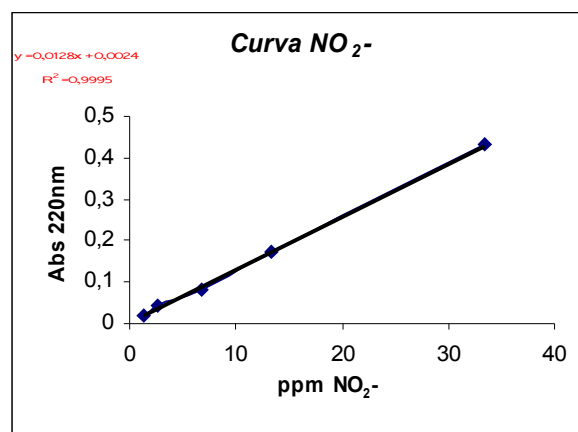


Tabla 5

Figura 3

El ε a 220nm fue 590 l mol⁻¹ cm⁻¹.

Posteriormente se cuantificaron ambos aniones presentes en la misma muestra. Una vez determinada la concentración de NO₂⁻ a 470nm y aplicando la **ecuación 3**, se determinó la cantidad de NO₃⁻ presente en la solución.

ppm NO ₃ ⁻	ppm NO ₂ ⁻	Absorbancia 220nm	Absorbancia 470nm	ppm NO ₂ ⁻ halladas	ppm NO ₃ ⁻ halladas
25	5	1.550	0,14	5	25
10	13	0.833	0,091	15	11
5	40	0.826	0,027	41	5
10	27	1.020	0,06	27	11
3	5	0.281	0,141	5	4
1.5	40	0.649	0,029	40	2

Tabla 6

CONCLUSIONES

Las curvas de calibración para NO_3^- (**Fig 1A**) y NO_2^- (**Fig 1B**) tuvieron buena reproducibilidad, fueron lineales, fáciles y rápidas de realizar, se obtuvo un coeficiente de correlación (R^2) cercano a 1 y permitió determinar ambos aniones en un amplio rango de concentraciones. Solo se consideró que para la primera se cumple la Ley de Beer hasta **45ppm** y para la segunda en el rango de **6.67ppm a 66.7ppm**, por lo tanto debe tenerse en cuenta si es necesario realizar diluciones antes de cada medida.

No obstante, el objetivo fundamental de este trabajo además de ser hallar un método sencillo y reproducible para la determinación de ambos aniones, era la de encontrar la interferencia que cada anión ejerce sobre el otro cuando se los determina en muestras de agua en la que ambos están presentes. Por tal motivo se analizó si el NO_3^- absorbe a 470nm (**Tabla 3**). Debido a que no se encontró absorción alguna del NO_3^- en esta región del espectro, fue posible determinar NO_2^- a 470nm mediante la técnica descrita sin interferencia alguna del NO_3^- ya que no se compleja y decolora el peroxavanadato formado en la reacción. Sin embargo, se halló que distintas concentraciones de NO_2^- absorben en la región ultravioleta del espectro, pero que se cumple la aditividad de las absorbancias, de modo que es posible utilizar esa longitud de onda para la determinación de NO_3^- .

Finalmente, se logró desarrollar un método analítico que permita conocer la concentración tanto del ión NO_3^- como NO_2^- cuando ambos están presentes en solución. Para ello se seleccionaron como longitudes de onda de trabajo 220nm (ambos absorben) y 470nm (sólo se determina el NO_2^-) y, mediante la **ecuación 3**, se halló la concentración del anión NO_3^- . El método se comprobó para diversas soluciones conteniendo diferentes concentraciones de ambos aniones y, en todos los casos, se hallaron concentraciones de ambos aniones acordes a las que se habían colocado (**Tabla 7**).

En este trabajo se desarrolló un método analítico para la determinación diferencial de nitratos y nitritos en aguas. El objetivo fundamental de estas determinaciones fue poder emplear los datos obtenidos para la cuantificación de ambos aniones en las aguas subterráneas que se presume están contaminadas. También se espera aplicar estas técnicas y las ecuaciones derivadas, en las reacciones de eliminación de nitratos empleando catálisis heterogénea en sistemas tipo batch (próximo proyecto del grupo de trabajo) para determinar la desaparición de nitrato y su reducción a intermediarios principalmente nitritos.

El monitoreo de nitratos y nitritos en forma rápida y económica en aguas sin el uso ni la generación de sustancias tóxicas hacen al método analítico realizado en el presente informe excelente para tales fines.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bachmat Y (1994) Groundwater as part of the water system. In ground water contamination and control, ed. U Zoller. Marcel Dekker, Inc, New York
2. D.R. Keeney, R.F Follet (1991) In managing nitrogen for groundwater quality and farm profitability, eds R F Follet, D R Keeney and R M Cruse. Soil science society of America, Inc, Madison, WI
3. Jaffé ER (1981) Methemoglobinemia. Clinical Hematology, 10: 99-122
4. WHO. Guidelines for drinking-water quality, 2nd ed Vol2. Health criteria and other supporting information. World health organization, Geneva, 1998
5. H. Bouwer H. Wat Environ and Technol 10(1989) 292
6. G Centi, S Perathoner, Applied Catalysis B: Environmental 41 (2003)15-29
7. K D Vorlop, T Tacke, Chem Ing Tech 61(1989) 836
8. A J Lecloux. Catalysis Today 53(1999) 23-34
9. A Aydin, Ö Ercan and S Tascioglu- Talanta 66 (2005) 1181-1186
10. G F Wang, M Satake, K Horita, Talanta 46 (1998) 671
11. Standard method for the examination of water and wastewater 20th edition, año 1998
12. M. S. Abdul Galil, M. M. S. Yogendra Kumar, G. Ndrappa, Spectrochimia Acta Part A 67 (2007) 76-82