

Tesis de Posgrado

Determinación de nitratos por el método de la brucina : su aplicación a la determinación de nitratos en aguas de consumo

Romiti, Noemí Amelia

1951

Tesis presentada para obtener el grado de Doctor en Química de la Universidad de Buenos Aires

Este documento forma parte de la colección de tesis doctorales y de maestría de la Biblioteca Central Dr. Luis Federico Leloir, disponible en digital.bl.fcen.uba.ar. Su utilización debe ser acompañada por la cita bibliográfica con reconocimiento de la fuente.

This document is part of the doctoral theses collection of the Central Library Dr. Luis Federico Leloir, available in digital.bl.fcen.uba.ar. It should be used accompanied by the corresponding citation acknowledging the source.

Cita tipo APA:

Romiti, Noemí Amelia. (1951). Determinación de nitratos por el método de la brucina : su aplicación a la determinación de nitratos en aguas de consumo. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0670_Romiti.pdf

Cita tipo Chicago:

Romiti, Noemí Amelia. "Determinación de nitratos por el método de la brucina : su aplicación a la determinación de nitratos en aguas de consumo". Tesis de Doctor. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Buenos Aires. 1951.

http://digital.bl.fcen.uba.ar/Download/Tesis/Tesis_0670_Romiti.pdf

EXACTAS UBA

Facultad de Ciencias Exactas y Naturales



UBA

Universidad de Buenos Aires

UNIVERSIDAD NACIONAL DE BUENOS AIRES

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS FÍSICAS Y NATURALES

DETERMINACION DE NITRATOS POR EL METODO DE LA BRUCINA

SU APLICACION A LA DETERMINACION DE

NITRATOS EN AGUAS DE CONSUMO

Tesis para optar al título de Doctora en Quí-
-mica presentada por Noemí A. Romiti.-

Tesis: 670

Buenos Aires, Agosto de 1951.-

Trabajo de Tesis dirigido por la

Dra. SUBANA M. de SALAS

**A quién expreso sincero agradecimiento por
la dirección y asesoramiento de este traba-
-je.**

Debo manifestar mi agradecimiento
al Dr. Rogelio A. Trelles quien me facilitó el
material necesario para realizar este trabajo
y a los Dres. José Bach y Daniel J. Bengolea por
la atención que en todo momento me dispensaron.

1111111111

REVISION BIBLIOGRAPHICA

IMPORTANCIA HIGIENICA DE NITRATOS EN AGUAS DE CONSUMO

Actualmente en los laboratorios de control de suministros de agua de consumo dependiente de O.S.N. se determina el contenido de nitratos con el objeto de conocer la salinidad del agua; la importancia de su determinación reside hasta el día de hoy en la obtención de un dato más que complementa el análisis químico del agua.

Es así como, en las especificaciones de Obras Sanitarias de la Nación para aguas de consumo humano no se hace mención al contenido en nitratos; lo mismo puede decirse con respecto a las últimas normas norteamericanas conocidas para aguas de bebida (Public Health Service Water Standards 1946). No obstante, en estos últimos cinco años, se han descrito en publicaciones norteamericanas, numerosos casos de cianosis en lactantes de pocas semanas de edad, alimentados artificialmente, que se presume son causados por un elevado contenido de nitratos de las aguas de bebida utilizadas en la preparación de sus dietas. Es evidente que si se comprobaran estas observaciones, el conocimiento del contenido en nitratos de las aguas de bebida adquiriría un gran interés higiénico. En la actualidad, se trabaja sobre éste asunto en los EE.UU. de Norteamérica, con el objeto de determinar si es necesario fijar límite de seguridad para la concentración del NO_3^- como existe para algunos cationes tóxicos.

La primera noticia fué aportada por Comly (1) quién denunció que en dos niños de Iowa de un mes de edad a los que se había diagnosticado cianosis idiopática (es decir no causada por agente externo), el verdadero factor etiológico era el alto contenido de nitratos del agua de pozo empleada en la dieta artificial del niño. Más tarde Francett y Miller (2) citaron tres casos de metahemoglobinemia en lactantes de Kansas, de menos

de cuatro semanas de edad que atribuyeron también al contenido de NO_3^- en el agua con que diluían la leche. Chapin (3) informó que una marcada metahemoglobinemia se produjo en lactantes de cuatro semanas veinte horas después de ingerir agua de bebida que contenía 243 ppm de nitratos (expresado en N).

J.K. Wilson (4) sugirió que los nitratos en vegetales y otros alimentos pueden contribuir a la metahemoglobinemia encontrada en lactantes; también F. Holman Waring (5) encontró que de 10 a 20 ppm de N de nitratos en aguas parece ser la causa de la metahemoglobinemia en lactantes; H. Borts (6) mostró la relación del contenido de nitratos en aguas rurales con 69 casos de cianosis infantil. Posteriormente se informó la aparición de casos de cianosis infantil en Manitoba, Ontario, Illinois, Nebraska, Michigan, Indiana y otros estados, todos relacionados en la misma forma. En el estado de Minnesota donde en los últimos años se registraron ciento treinta y nueve casos de metahemoglobinemia (7) atribuidos al contenido de nitratos en aguas, se ha efectuado una activa investigación, en la que se han organizado médicos, madres e instituciones de salud del estado

Se efectuaron determinaciones de metahemoglobinemia en sangre de lactantes y análisis de las aguas utilizadas en la preparación de su dieta artificial para determinar su contenido en nitratos; entre otras se efectuó la siguiente experiencia: a 21 niños de los que se alimentó a pecho entre 1 y 4 semanas y luego se cambió la dieta en la cual se incluyó agua de pozo; estos niños desarrollaron síntomas de metahemoglobinemia de una a cuatro semanas más tarde que otro grupo de niños que no fueron alimentados en ningún momento a pecho. Se vio que el número de días que el lactante tardaba en desarrollar síntomas dependía:

- a) Del contenido de N de nitratos en el agua.
- b) de la cantidad de agua ingerida en el día.
- c) Del tiempo que el agua es hervida.
- d) se anotó también algún factor desconocido.

Se observó además que en niños afectados se obtenía una pronta recuperación al sustituir en la dieta el agua de pozo por agua del suministro municipal.

En Minnessota entre 1947 y 1948 se denunciaron 15 muertes de lactantes debido a hipertrofia de tíme, 4 de los cuales fallecieron por Metahemoglobinemia.-

También llamó la atención que la cianosis se desarrollara en niños de menos de 2 meses de edad y no en miembros adultos de la misma familia, ni aún aquellos que tenían hermanos que los superaban en uno ó dos años de edad y que eran alimentados en la misma forma, Conly explicó esta anomalía diciendo que los factores que hacen al lactante susceptible de cianosis son: a) los lactantes tienen menos hemoglobina oxidable que los adultos, b) que la flora intestinal puede contener más bacterias que reducen los nitratos a nitritos y que puede ser mayor la cantidad de éstos que es absorbida c) que el limitado poder excretorio del riñon del niño puede favorecer la retención de N y que los iones nitratos pueden ser más fácilmente fijados por la hemoglobina debido a la inmadurez de ciertos enzimas.

M. Conbeathy y Hartmann (8) dicen que solamente los lactantes desarrollan metahemoglobinemia por ingestión de agua conteniendo nitratos, debido a la característica de baja acidez gástrica; ellos dicen que si el pH del jugo gástrico es mayor de 4,0 los organismos productores de nitritos pueden existir en la parte superior del tracto

gastro-intestinal en suficiente número para reducir nitratos a nitritos, los que pueden ser completamente absorbidos.

M. Ferraut (9) dice que de acuerdo con los casos presentados se originó metahemoglobinemia en lactantes con meses de 2 meses de edad que se alimentaban con leche en polvo diluida con agua de pozo de elevado contenido de NO_3^- (ciento ochenta a seiscientos diez ppm.); supone este autor que los nitratos son reducidos a nitritos y que cuando éstos no son reducidos rápidamente a NH_3 , pueden llegar al torrente circulatorio; en un caso fatal se constató que la sangre contenía 1 ppm de nitritos.

Muchos de los trabajos relacionados con éste problema plantearon el interrogante de si los lactantes enfermos habían hecho uso de aguas bacteriológicamente puras, es decir no contaminadas; se observó que los adultos que usaron la misma agua sufrieron diarreas que indicarían que las aguas no eran del todo puras.

Lo que antecede se concluye que aún no se ha definido bien el mecanismo de producción de metahemoglobinemia causada por ingestión de nitratos en lactantes, aunque parece disiparse toda duda de que los mismos sean causantes de la cianosis provocada por metahemoglobinemia.

En Minnesota se ha informado que no se encuentran casos de metahemoglobinemia allí donde las aguas contienen menos de 30 ppm. de N de nitratos, pero no obstante se ha fijado 10 ppm de N de NO_3^- como límite arriba del cual el agua debe ser vista con suspicacia, debido a la posibilidad de alcanzar el nivel peligroso en estroiones salubres o bien al hervir (y concentrar) el agua. En nuestro país Rogelio Trelles (10) ha tomado la iniciativa de comprobar si las observaciones efectuadas en EE.UU. son valederas para las aguas rurales iniciando con este fin una encuesta entre los médicos rurales.

REVISIÓN DE MÉTODOS COLORIMÉTRICOS PARA LA DETERMINACIÓN DE
PEQUEÑAS CANTIDADES DE NITRATOS

Antes de considerar en detalle el método de determinación de NO_3^- con brucina sobre cuyas ventajas hablaremos más adelante, describiremos dentro de los métodos existentes para determinar pequeñas cantidades de NO_3^- , aquellos que se consideran de mayor importancia.

Determinación de nitrato por reducción a amoníaco.- La micro-determinación de nitratos se puede realizar por la reducción del NO_3^- a amoníaco, el cual es luego destilado, recogido sobre solución standard de ácido y titulado por retorno (11). Otro procedimiento recibe el amoníaco destilado en agua libre de amoníaco y lo determina por nesslerización (12).

Estos métodos resultan complicados particularmente en rutina de control.

Determinación de nitratos por pirogalol.- El ácido pirogalol sulfónico da un color rosado con nitratos o nitritos en presencia de ácido sulfúrico. Los autores indican una sensibilidad de 0,05 $\mu\text{g/ml}$. (13) El pirogalol da también una reacción similar pero de menor sensibilidad. No interfieren pequeñas cantidades de cloratos, bromuros, cloruros e ión ferroso. Interfieren iodatos, cromatos, materia orgánica e ión férrico. Los nitritos dan un color similar.

Determinación de nitratos por difenilamina ó difenilbencidina en ácido sulfúrico.- Los nitratos producen un color azul con difenilamina en ácido sulfúrico que puede ser utilizado para su determinación (14), (15) y (16). La oxidación se realiza en etapas, la difenilamina es oxidada a difenilbencidina y luego la difenilbencidina a la sal p^{H}

de color azul; por ésta razón tanto la difenilamina como la difenilbencidina han sido usadas para dar el producto final, pero un estudio de los dos reactivos demuestra que la segunda da dos veces la intensidad de color producida por la primera con igual cantidad de nitratos (17). Este método no es conveniente ya que la reacción depende de la oxidación y por lo tanto otros agentes oxidantes deben estar ausentes. Además la estabilidad del color depende de la proporción de difenilbencidina con respecto a la concentración de nitratos.

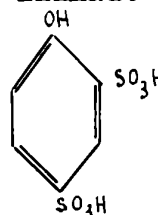
También se ha utilizado el color azul que los nitratos desarrollan con la difenilamina para dosarlos aproximadamente en placa de toque (18). Buenos resultados se obtuvieron con extractos de suelo y tejidos vegetales. La reacción de difenilamina para determinar nitratos en aguas fue posteriormente estudiada por López y Fungairinie (19) quienes informaron que alrededor de 0,1 mg de nitratos por litro puede ser determinada.

Determinación de nitratos con ácido difenilamin-sulfónico.-Este reactivo es superior a la difenilamina para determinar nitratos. Los nitritos deben ser eliminados por ebullición con cloruro de amonio, la urea no se puede utilizar con este fin porque interfiere; el ión férrico también interfiere

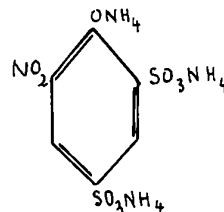
Determinación de nitratos con estricnina y ácido sulfúrico.-El nitrógeno de nitratos reacciona con estricnina reducida en presencia de ácido sulfúrico para dar una solución de color rosado(20). Este reactivo es sensible a 0,01 ppm. de nitrógeno de nitratos. Interfieren los agentes oxidantes pues dan reacción positiva con el reactivo y por lo tanto deben estar ausentes; los nitritos también reaccionan después de

la introducción del ácido y deben ser determinados si están presentes y su contenido de N restado del N de nitratos. Los cloruros no interfieren.

Determinación de nitratos con ácido fenol-disulfónico.- Las soluciones que contienen nitrato reaccionan con el ácido 1-2-4 fenol-disulfónico (obtenido disolviendo fenol en ácido sulfúrico fumante)-produciendo el ácido nitrofenoldisulfónico cuya sal de amonio es de color amarillo. El reactivo usado también llamado "reactivo sulfo-fénico" tiene la siguiente fórmula:



El color que se obtiene cuando se alcaliza con hidróxido de amonio es debido a la sal triamónica del ácido nitrofenoldisulfónico



Este método es el recomendado en los "Standard Methods for the Examination of Water and Sewage" (1946), y se emplea actualmente en el Laboratorio de O.S.N. para determinar ión nitrato.

El procedimiento usado es el siguiente: un volumen determinado de agua, generalmente 10ml, se evapora a sequedad en cápsulas de porcelana y sobre el residuo se agrega el reactivo. Se alcaliza con hidróxido de amonio, se disuelve con agua, llevando a 50ml. y se compara con una serie de patrones que pueden ser permanentes.

Se puede hacer una serie de objeciones al método. Existe una serie de interferencias: cloruros, carbonatos, materia orgánica y nitritos que hacen que frecuentemente sea necesario realizar separaciones previas. Así, cuando el contenido en Cl^- sobrepasa los 30mg/l

(21) deben ser eliminados previamente por precipitación con SO_4Ag_2 y filtración; como el precipitado obtenido de ClAg se obtiene frecuentemente en forma de suspensión muy fina que decanta muy lentamente se agrega hidróxido de aluminio o se deja de un día para el otro lo cual alarga el proceso.

Cuando la concentración de Cl^- es menor de 30mg/l el error que ellos introducen es menor del 10% y no se toma en cuenta ya que el método tiene en conjunto una imprecisión por lo menos de ese orden.

Así mismo cuando la concentración de NO_2^- es mayor de 1mg/l se oxidan a NO_3^- antes de la determinación y el valor correspondiente se descuenta del valor total de NO_3^- obtenido.

Además no siempre se obtienen extractos perfectamente incoloros para que no interfieran en la colorimetría posterior, así aguas que tengan color mayor de 20 deben ser tratadas previamente con hidróxido de aluminio; la evaporación del agua hasta obtener el residuo puede además ocasionar pérdidas de nitratos. Además cuando la muestra contiene vanadio se ha observado en el laboratorio de U.S.N. (22) una coloración violeta azulada muy intensa que desaparece con el tiempo cuya causa no ha sido bien determinada.

Además el alcance de la escala es en las condiciones indicadas en el método de 1 a 30mg/l ; como este límite superior es frecuentemente superado en aguas, introduce la incomodidad de repetir la determinación en un volumen menor de muestra.

De lo expuesto se deduce que el método no es lo suficientemente sencillo como para justificar su imprecisión y para obtener una aproximación del 10% aceptable en análisis de rutina el método del fenol-sulfónico debe cumplir rigurosamente las condiciones establecidas en la técnica .

Michael J. Taras (23) dá un método fotométrico para determinar nitratos en agua con ácido fenoldisulfónico y obtiene resultados reproducibles hasta 0,01 ppm. respetando las siguientes condiciones: 1) usa ácido fenol-disulfónico puro, 2) evita las pérdidas de nitratos por evaporación, 3) elimina los cloruros tratando con equivalente cantidades sal de plata, continuada de centrifugación y filtración.

C. Johnson y A. Ubrich (24) aconsejan eliminar cloruros en el método del ácido fenol-disulfónico sin la subsiguiente influencia del ión plata, ya que el exceso se precipita con solución de fosfato de sodio a pH 6,5. Aplicaron el método para determinar nitratos en tejidos vegetales.

Otros métodos colorimétricos.- H. Matsui (25) utilizó para determinar nitratos en aguas una mezcla triturada de 1 naftilamina, ácido sulfanílico y gine en polvo, reactivo que describe como muy conveniente. Sanchez determina nitratos y nitritos en agua de bebida usando como reactivo una solución de resorcinol al 1%. Aconseja la siguiente técnica: a lcc. de muestra de agua agregar 2 cc. de agua destilada, 0,5 de resorcinol al 1%, acidificar con 10 gotas de ácido sulfúrico concentrado, agitar, calentar 30 minutos en agua hirviente y comparar el color con el de tipos preparados simultáneamente conteniendo 0,01 a 0,03 mg de nitritos.

Los nitratos pueden ser determinados por el mismo método si éstos son transformados en ClNO por adición de 10 gotas más de ácido sulfúrico concentrado y 10 gotas de HCl concentrado a la mezcla después de calentar. El color es estable por varios días.

Por último citaremos el método de la brucina objeto de éste trabajo.

La brucina es un dimetoxiderivado de la estricnina y respecto de su constitución a pesar de las numerosas investigaciones hay todavía puntos que no están resueltos satisfactoriamente. Es un alcaloide muy tóxico que existe en las semillas de varias especies de *Strychnos* especialmente en la nuez vómica. Su fórmula bruta es la siguiente:
 $C_{23}H_{26}O_4N_2$.

El uso de brucina para la determinación de nitratos fué sugerido por Snell (27) quién lo empleó para su determinación en carne.

Los nitratos pueden ser determinados colorimétricamente por su reacción con la brucina en presencia de ácido sulfúrico (28). Posteriormente se encontró que es conveniente emplear una solución de brucina en cloroformo más que en ácido sulfúrico (29). El color es intenso y persiste durante varias horas, la determinación se hace en base al color amarillo que sigue al rojo inicial que no se puede apreciar bien. Según Snell si no hay nitritos la relación de H_2SO_4 a H_2O es de 2 a 1; además si existe materia orgánica o ión ferroso en gran cantidad aconseja oxidar agregando solución de permanganato de potasio al 0,1%. En ésta oxidación los nitritos son transformados en nitratos. Si hay que determinar nitratos en presencia de nitritos habrá que determinar los últimos separadamente y restar el valor obtenido del total de nitratos encontrados.

La técnica indicada por Snell para determinar nitratos en carne es la siguiente:

Mezclar 10 g. de carne con 100 cc. de agua, agregar CO_3Na_2 hasta alcalinidad y calentar a baño maría durante cinco horas, agregar agua para diluir al volumen original, enfriar y filtrar. Diluir el filtrado a 200 cc. A 25 cc. del filtrado agregar 12,5 cc. de ácido clorhídrico al 2%; filtrar y diluir a 500 cc. Si es necesario diluir más.

Técnica: Se colocan 10 cc. de la muestra en un erlenmeyer de 50 cc. y en otro erlenmeyer se coloca 10cc. de agua destilada, a los tipos se le agrega un volumen conveniente de solución de nitrato que contenga 0,1 mg de N de nitrato por cc. A cada uno se le agrega 0,2cc. de una solución de brucina al 5% en cloroformo y 20cc. de ácido sulfúrico concentrado y luego que el color vira al amarillo se enfría rápidamente y se diluye a 50cc. con agua destilada. El color se puede comparar en cualquier momento dentro de las 24 horas.

Kolf (30) empleó el método de la brucina para determinar N de nitratos en extractos de suelos y vegetales. Empleó una solución de brucina al 1% en ácido sulfúrico concentrado; aclara que la solución debe prepararse justo en el momento de utilizarla. Noll (31) emplea el método de la brucina para la determinación de nitratos en agua de caldera en rutina de control; usa una solución de brucina al 5% en cloroformo y aconseja la siguiente técnica:

Pipetear dos muestras de 5ml. de agua a analizar en dos vasos de precipitados de 50ml, a uno de los vasos de precipitado agregar 0,2ml de reactivo de brucina y luego a ambos vasos agregar 10ml de ácido sulfúrico evitando salpicaduras y agitando; aconseja usar material limpio y seco, a pesar de que un exceso en 0,5ml de agua no afecta los resultados. A la muestra no tratada con brucina agregar 10 ml. de agua destilada, agitar, enfriar, pasar una porción de la muestra al tubo del fotómetro y leer usando el filtro de $470m\mu$

Para concentraciones de nitratos entre 0 y 50 mg/l obtiene una exactitud de aproximadamente 0,5mg/l.

Alekin y Chernovskaya (32) aplicaron el método de la brucina para determinar nitratos en agua de consumo. Ellos estudiaron los siguientes puntos:

- 1) Establecimiento de la mínima cantidad de agua sobre la cual se efectúa la determinación.
- 2) Condiciones para tratamiento de agua con brucina.
- 3) Tiempo de reacción entre la brucina y soluciones de nitrato.
- 4) Proporcionalidad del cambio de color con variación del contenido de nitrato.

Cad, Margaret Knetsch Hilde Schlichting *Gesundh-Ing*, 69:137 (1948); (33)-
Chem. Zentr(Russian Zone Ed) 11:760 (1948) (34). Aconsejan usar la siguiente técnica: Colocar 0.15 ml. de solución al 5% de brucina en ácido acético glacial y 5ml. de ácido sulfúrico concentrado sobre 2,5ml. de la muestra de agua en una probeta graduada de 10ml.; después que ha sido mezclado se deja 50 minutos y se compara con una muestra de agua destilada tratada de la misma manera. Obtiene los mejores resultados en el rango de 4 a 10 ppm de N_2O_5 .

Nosotros al aplicar el método de la brucina para determinar nitratos en aguas encontramos en él un método rápido, preciso y simple para análisis de rutina; controlamos los datos obtenidos con el método polarográfico.

-----0-----

ANÁLISIS FOTOCOLORIMÉTRICO

a) Generalidades

b) Descripción del espectrofotocolorímetro utilizado.

a) El análisis químico fotométrico, del el colorimétrico es un caso particular, está basado en la medida de la cantidad de luz absorbida por una solución coloreada (colorimetría, espectrofotometría) por una suspensión (turbidimetría) o por la cantidad de luz reflejada por una suspensión (nefelometría). En colorimetría se emplea generalmente luz blanca natural o artificial, efectuándose las determinaciones con un aparato simple denominado colorímetro.

En espectrofotometría en cambio, se emplea luz de longitud de onda definida, que se extiende desde la región infrarroja hasta la ultravioleta del espectro debiendo utilizarse por consiguiente, aparatos más complicados, conocidos como espectrofotómetros.

Cuando un haz de luz monocromática de intensidad I_0 atraviesa una capa homogénea de una sustancia, parte de la luz es reflejada (I_r) parte absorbida (I_a) y parte transmitida (I_t). Entre las respectivas intensidades se cumple la siguiente relación:

$$I_0 = I_r + I_a + I_t$$

La generalidad de las veces I_r puede ser desechado y la relación anterior se transforma en

$$I_0 = I_a + I_t$$

Lambert investigó en 1760 la relación existente entre la intensidad incidente (I_0) y la transmitida I_t .

Leyes de Lambert

1) La cantidad de luz monocromática absorbida por un cuerpo es proporcional a la intensidad de luz incidente. O sea la relación entre I_t y la I_0 es constante

$$I_t = I_0 \cdot a$$

El factor a es llamado coeficiente de transmisión y da la fracción de luz incidente que es transmitida por una capa de un cm. de espesor.

2) La intensidad de la luz transmitida disminuye en progresión geométrica a medida que el espesor de la capa atravesada aumenta en progresión aritmética; de acuerdo con esta ley:

$$I_t = I_0 a^{-l}$$

siendo l el espesor de la capa.

Si I es la intensidad de la luz incidente que atraviesa una capa infinitamente delgado dl , la disminución de intensidad dI de luz incidente es proporcional a I y a dl

$$dI = -k_1 I dl \quad (a)$$

k_1 = factor de proporcionalidad. La integración de (a) da la siguiente relación: (los límites de integración de las dos variables son

I_0 a I_t y 0 a l)

$$I_t = I_0 e^{-k_1 l}$$

La constante k_1 suele llamarse "índice de absorción" Pasando a logaritmos en base 10 queda:

$$I_t = I_0 10^{-0,4343 k_1 l} = I_0 \cdot 10^{-\epsilon l} \quad (c)$$

Ley de Beer:

Beer en 1852 estudió la aplicación de las leyes de Lambert a las soluciones, en particular la influencia de la concentración de la sustancia coloreada en la solución sobre la luz transmitida o absorbida. Estableció que existe entre la transmisión y la concentración la misma relación que Lambert ya había hallado entre la transmisión y el espesor.

Matemáticamente la ley de Beer puede escribirse:

$$I_t = I_0 a^{-c}$$

donde c indica la concentración.

Llamando dI a la disminución de intensidad producida por una concentración infinitamente pequeña dc , podemos escribir en forma semejante a (a)

$$dI = -k_2 I dc \quad (b)$$

Siendo I la intensidad de luz, incidente sobre el elemento infinitésimo de volumen que contiene dc .

Integrando (b) resulta:

$$I_t = I_0 e^{-k_2 c}$$

Siendo $I_t = I_0$ y 0 y c los límites entre los que se integró ambas variables.

Pasando a logaritmos decimales queda:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-0,4343 k_2 \cdot c} \quad (d)$$

De la combinación de (c) y (d) resulta:

$$I_t = I_0 \cdot 10^{-1 \epsilon c}$$

que constituye la ecuación fundamental de la colorimetría y espectrofotometría, conocida con el nombre de Ley de Lambert y Beer.

b) Descripción del espectrofotocolorímetro utilizado

Para obtener resultados exactos el aparato empleado debe cumplir dos requisitos:

- 1) La muestra debe estar iluminada con una luz de tal pureza que la absorción, medida por el dispositivo fotoeléctrico, corresponda sensiblemente con la que se obtendría si se tratara de una luz monocromática ideal.
- 2) Esa luz monocromática debe conseguirse con suficiente intensidad, como para permitir una medición exacta por medio del sistema fotoeléctrico empleado.

El aparato usado fué un Espectrofotómetro Universal Coleman Modelo 14

Este aparato puede ser usado como espectrofotómetro, fotofluorómetro

o como fotonefelómetro. Cada una de estas operaciones requieren diferentes circuitos característicos y el instrumento es convenientemente conectado para un uso determinado rotando el interruptor de que viene provisto. El aparato opera únicamente con corriente alternada con una tensión de 115 volts y para un funcionamiento satisfactorio a una frecuencia entre 25 y 60 ciclos.

Un espectrofotómetro como su nombre lo indica, consta en realidad de dos instrumentos: 1 espectrómetro y 1 fotómetro; el primero permite producir luz de un determinado color y cuando es usado como parte de un espectrofotómetro es llamado comunmente "monocromador" y está calibrado de manera tal que expresa el color de la luz monocromática que produce en términos de longitud de onda.

Un fotómetro como es sabido permite la medida de la intensidad de una luz y cuando se asocia a un monocromador permite la medida de la luz producida por el monocromador. Usualmente las medidas fotométricas se hacen con un testigo y luego con una muestra coloreada interpuesta en el haz luminoso. La relación entre las medidas de las dos intensidades de la luz emergente, es la medida de la transmitancia de la muestra a la longitud de onda de la prueba.

El monocromador es iluminado por una lámpara. La luz proveniente de la lámpara de excitación entra al doble sistema de lentes del monocromador y siendo éste un sistema óptico ordinario podría causar la formación de una nítida imagen blanca en el plano de la ranura de salida del monocromador. Pero interpuesta entre las dos lentes condensadoras hay una red de difracción que tiene por objeto la dispersión de la luz transmitida. Como resultado de la existencia de esta red de difracción, en lugar de la imagen blanca antes mencionada, aparece en el plano de la ranura de salida, un espectro.-

La mayor parte de este espectro luminoso, es interceptada por las paredes de la ranura y solamente una pequeña porción la atraviesa, emergiendo del lado opuesto como un rayo monocromático.

La posición del filamento de la lámpara puede ser alterado moviendo el brazo de la lámpara por medio de un dispositivo que está rigidamente fijado al dial de las longitudes de onda. El diseño del aparato es tal que, la porción del espectro que pasa a través de la ranura tiene el valor de la longitud de onda, indicada en el dial. La posición y curvatura del arco que el filamento describe es tal que la banda luminosa que pasa a través de la ranura está siempre en foco.

La parte fotométrica de este instrumento consiste en una fotocélula conectada por un circuito de control al galvanómetro, iluminado por una lámpara que proyecta la imagen de su índice sobre la escala de la cual está provisto el instrumento. (escala del galvanómetro).

Cuando la cubeta conteniendo la muestra es interpuesta en el camino del rayo de luz, la absorción que se produce, disminuye la intensidad de la luz que llega a la fotocélula y provoca un desplazamiento proporcional a dicha disminución, en la posición del índice. El aparato posee una serie de controles agrupados en forma tal que permiten el máximo de comodidad en las operaciones. En la parte superior posee la escala del galvanómetro y el dial de las longitudes de onda; a la izquierda, el interruptor selectivo por medio del cual el aparato se ajusta a cada una de sus funciones; inmediatamente debajo del anterior aparecen dos perillas para macro y micro ajuste, que sirven para ajustar la sensibilidad del instrumento y mantener el indicador del galvanómetro en la escala.

El aparato posee además un sistema de lectura indirecta (por oposición) que permite medidas más precisas, sea en porcentaje de transmitancia o en extinciones. El circuito eléctrico simplificado se muestra en la figura

El aparato viene provisto de tres filtros para trabajar con distintas longitudes de onda: 1) de 350 a 400 $m\mu$, 2) de 400 a 650 $m\mu$ y 3) de 650 a 825 $m\mu$.

Uso del espectrofotocolorímetro: En este aparato las lecturas de las transmitancias pueden ser hechas de dos maneras distintas a) Por lectura directa en la escala del galvanómetro b) Por lectura utilizando el método de oposición.

El primer método es rápido, sus resultados reproducibles y su seguridad limitada principalmente por la exactitud del galvanómetro. Cuando es suficiente 0,5 a 1% de precisión este método es satisfactorio. El segundo método tiene una exactitud mayor (\pm 0,1%).

Método 1 Lecturas directas en la escala del galvanómetro.

- 1) Girar todas las perillas del instrumento completamente en sentido contrario a las agujas del reloj.
- 2) Colocar el filtro correspondiente a la longitud de onda que se utilizará.
- 3) Con la perilla correspondiente llevar el galvanómetro a 0. (cero)
- 4) Girar el contacto selector hacia Spectro y permitir al instrumento calentarse aproximadamente cinco minutos antes de hacer las lecturas.
- 5) Colocar el dial de las longitudes de onda en el valor deseado.
- 6) Colocar la escala balística en cero.
- 7) Llenar las cubetas: una con la solución de referencia y la otra con la solución muestra; colocarlas en el soporte del aparato. Correr el soporte hasta introducir la primera en el haz luminoso.
- 8) En esa posición llevar la lectura de la escala del galvanómetro a 100 por medio de la perilla de macro ajuste y llevar exactamente a 100 por medio de la de microajuste
- 9) Introducir la muestra a ser medida en el haz luminoso monocromático. Leer en la escala del galvanómetro la transmitancia o la extinción correspondien-

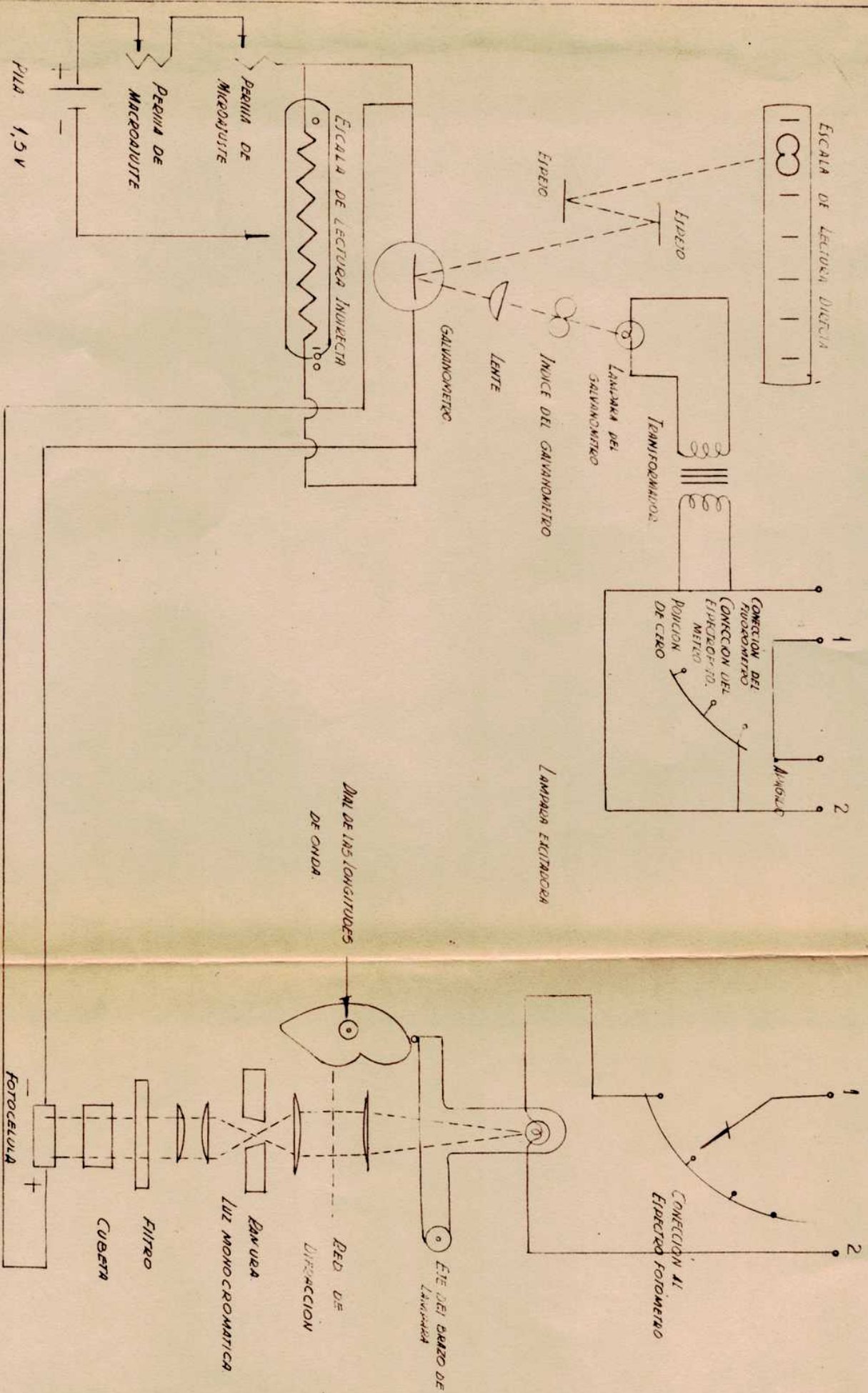
-te.

Fuesto que la lectura 100% cambia muy lentamente después que el instrumento fué calentado pueden efectuarse varias medidas sin reajustar dicha posición.

Método 2: Utilizando el sistema de lectura indirecta (por oposición)

- 1) Girar todas las perillas del instrumento completamente en sentido contrario a las agujas del reloj.
- 2) Colocar el filtro correspondiente a la longitud de onda que se utiliza .
- 3) Con la perilla correspondiente llevar el galvanómetro a cero.
- 4) Girar el contacto selector hacia Spectro y permitir al instrumento calentarse aproximadamente cinco minutos antes de hacer las lecturas.
- 5) Indicar con el dial de las longitudes el valor deseado.
- 6) Llenar las cubetas: una con la solución de referencia y la otra con la solución muestra; colocarlas en el soporte del aparato. Correr el soporte hasta introducir la primera en el haz luminoso.
- 7) En esa posición llevar la lectura de la escala indirecta (lecturas por oposición) a 100% .
- 8) Con la perilla de macro ajuste primero y luego la de fino ajuste llevar el galvanómetro a cero.
- 9) Introducir la muestra a ser medida en el haz luminoso monocromático y llevar a cero la lectura en la escala del galvanómetro moviendo la perilla correspondiente a la escala indirecta. Esta perilla tiene el efecto de modificar la longitud utilizada del reostato lineal C (ver figura) hasta que la intensidad que pasa por el galvanómetro proveniente de la pila de 1,5volts sea igual (pero de sentido contrario) a la que lo atraviesa proveniente de la fotocélula.
- 10) Leer la transmitancia o la extinción correspondiente en la escala indirecta.

DIAGRAMA ESQUEMATICO DEL SISTEMA OPTICO Y ELECTRICO DEL ESPECTROFOTOCOLORIMETRO COLEMAN.



PARTI EXPERIMENTAL

EXPERIENCIAS REALIZADAS

Condiciones operatorias.-

Aparatos: El material utilizado consistente en matraces aforados de 25ml además de buretas y pipetas debe estar perfectamente limpio y seco, aún cuando Noll(31) considera que un exceso de 0,5ml de agua no afecta los resultados. El aparato utilizado para efectuar las lecturas fué el colorímetro fotoeléctrico "Coleman".

Reactivos:

- 1) Solución patrón de NO_3K : Se seca el NO_3K (con certificado) a $105^\circ \pm 1^\circ \text{C}$ en estufa durante 24 horas, se pesa exactamente 2,631g y se disuelve en aproximadamente 20 ml de agua bidestilada. La solución concentrada o standard es de 1ml = 1mg de NO_3^- . *→ y luego al*
- 2) Solución diluida de NO_3K : 10ml. de la solución patrón se llevan a 1000 ml. con agua bidestilada. La solución tiene 1 ml. = 0,01 mg. de NO_3^-
- 3) Solución diluida de NO_3K : 50ml. de la solución patrón se llevan a 1000 ml con agua bidestilada. La solución tiene 1ml. = 0,05 mg. de NO_3^-
- 4) Solución diluida de NO_3K : 50 ml. de solución patrón se llevan a 500ml con agua bidestilada. La solución tiene 1ml = 0,1 mg de NO_3^- .
- 5) Solución clorofórmica de brucina al 5%: 5g. de brucina pura cristalizada se disuelve en aproximadamente 20 ml de cloroformo purificado y se lleva a 100 ml con cloroformo. La brucina es un alcaloide muy venenoso y hay que tener cuidado al trabajar con ella. Se usó brucina Merck.
- 6) Acido sulfúrico: Se usó SO_4H_2 (d=1,84) p.a. cuyo contenido en nitrato era 0,0002 %

Todas las soluciones y las operaciones indicadas en éste trabajo se efectuaron con agua bidestilada (agua redestilada sobre vidrio Pyrex y conservada en recipiente del mismo material).

Procedimiento: Pipetear 5 ml. de agua cuyo contenido de ión nitrato queremos determinar en un matraz aforado de 25ml, agregar 0,2 ml de brucina, llevar el matraz a un baño de agua y fijar su temperatura en 19 ó 20°C, agregar 10 ml de ácido sulfúrico (d_s 1,84) p. a., a los 7 minutos de agregado el ácido diluir con agua bidestilada agitar enérgicamente y enfriar, enrasar, volver a enfriar y agitar. A los 20 minutos de la dilución se efectuó la lectura en un fotocolorímetro "Coleman" aparato, cuya descripción se vió más atrás usando como blanco agua bidestilada. De acuerdo a las experiencias realizadas se empleó un filtro de 400 m μ . Determinose el equivalente en nitratos en una curva de calibración previamente trazada usando soluciones de valores conocidos de NO₃⁻.

El estudio de las condiciones de trabajo lo detallaremos más adelante

ELECCION DEL FILTRO

Se hizo ante todo la elección del filtro a utilizar construyendo la curva espectrofotométrica con el aparato "Coleman".

Se preparó un patrón (aplicando el procedimiento descrito) con una concentración determinada de NO₃⁻ y la transmitancia se midió a diversas longitudes de onda. Observando la curva obtenida (gráfico N°1) se deduce que la máxima absorción se produce en el rango de 400m μ . En consecuencia se eligió para efectuar este trabajo esa longitud de ondas.

El aparato fué puesto en cien por ciento de transmisión con agua bidestilada. Los valores indicados se hallan representados en la tabla N° 1. El patrón empleado corresponde a 20 mg/l de NO₃⁻.

TABLA N° 1

Variación de la transmisión en función de la longitud de onda.-

$m\mu$	% transmisión
355	11
360	12
370	12,5
380	13
390	13,1
* 400	21
410	21,2
420	22
430	25
440	28,5
450	35
460	42
470	54
500	76,5
550	94
600	97
650	99

Estos valores son el término medio de varias determinaciones.

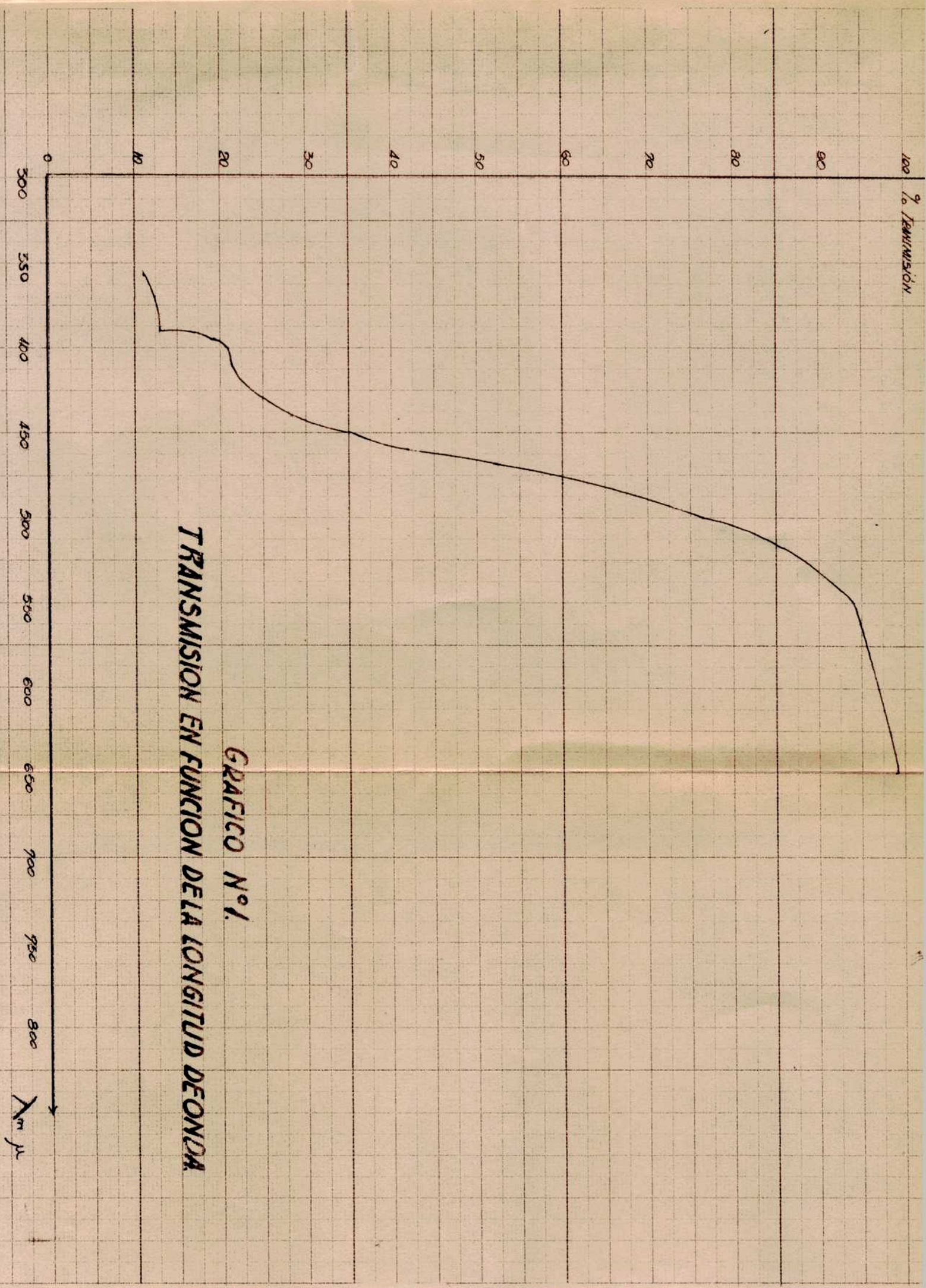


GRAFICO N° 1.

TRANSMISION EN FUNCION DE LA LONGITUD DE ONDA.

CURVA DE CALIBRACION

Se prepararon varios patrones con cantidades conocidas de NO_3^- y con las extinciones obtenidas se construyó una curva que relaciona las lecturas en el fotómetro con la cantidad de NO_3^- .

Los patrones se prepararon agregando a distintos matraces aforados de 25ml. cantidades crecientes de una solución de NO_3^- en la que 1ml. contenía 0,01, 0,05 ó 0,1 mg. de NO_3^- , diluyendo luego el volumen en cada uno de ellos a 5ml. con agua bidestilada si era necesario, agregando finalmente 0,2ml. de una solución de brucina al 5% en cloroformo, 10ml. de H_2SO_4 ($d = 1,84$) p.a. y 10ml. de agua bidestilada empleando la técnica indicada en la página 21 adoptada después de estudiar las condiciones de trabajo del método.

Se determinó la transmisión de las soluciones, con los valores obtenidos (tabla N°2) se construyó la curva de calibración, que representa las extinciones en función de la concentración de ión nitrato. La curva obtenida (gráfico N° 2) en las condiciones de trabajo ($\lambda = 400\text{m}\mu$) resulta ser una recta hasta 10mg/l de NO_3^- , cumpliéndose hasta allí la ley de Beer, con concentraciones mayores no se cumple dicha ley, pero la curva permite leer concentraciones de NO_3^- hasta 55 mg/l, para concentraciones mayores de este valor se requiere diluir la muestra.

-----0-----

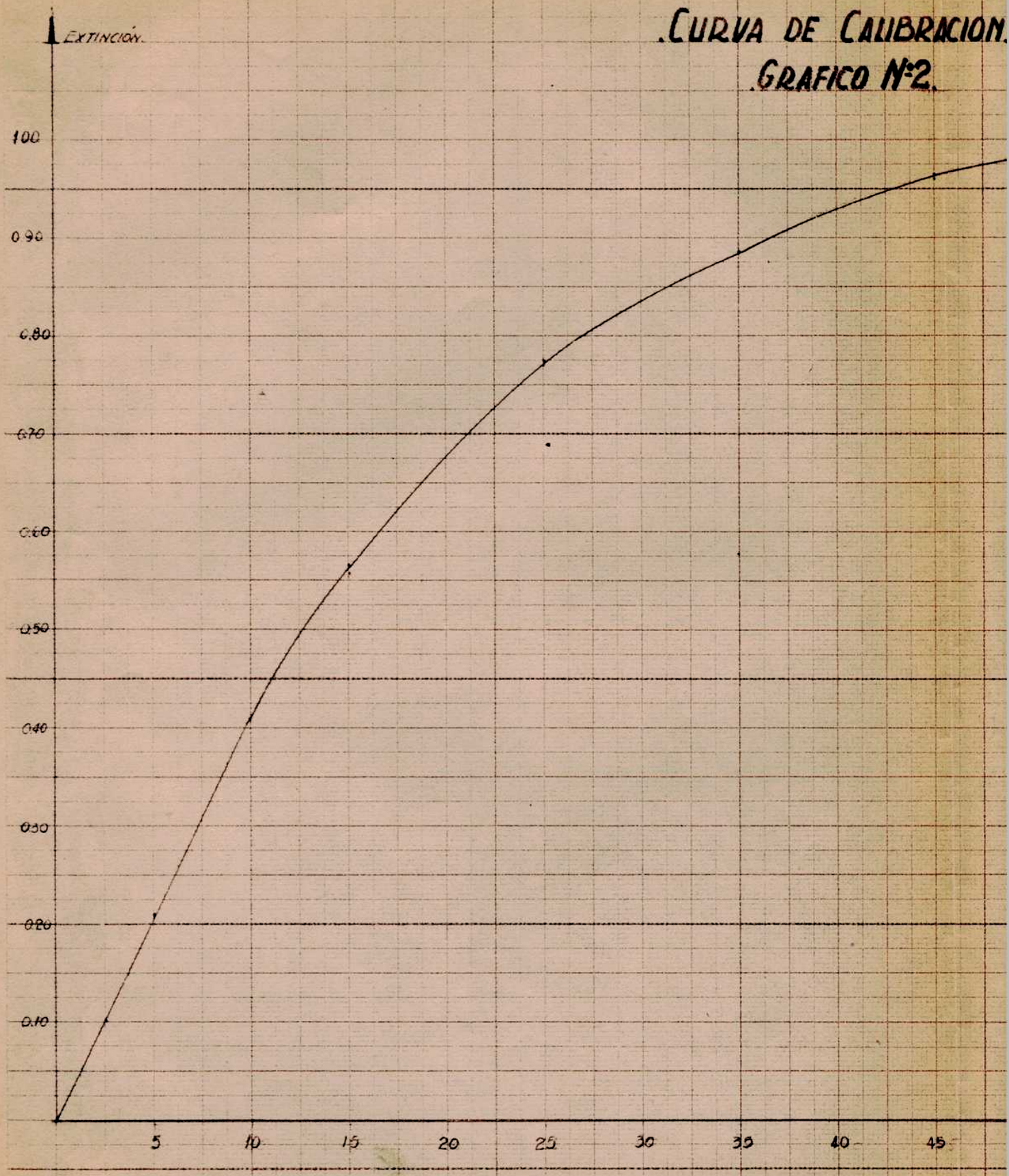
TABLA N° 2Variación de la extinción en función de la concentración de NO_3^-

NO_3^- mg/l	% transmisión	Extinción	$\lambda = 400 \text{ m}\mu$
0	100	0,000	
2,5	78,9	0,103	0,101
	79,3	0,100	
5	62,0	0,208	0,204
	61,6	0,211	
10	39,0	0,409	0,409
	39,0	0,409	
15	27,9	0,552	0,558
	27,2	0,565	
25	16,8	0,775	0,772
	17,0	0,770	
35	13,0	0,886	0,886
	13,0	0,886	
45	10,8	0,967	0,963
	11,0	0,959	
55	10,1	0,996	0,996
	10,1	0,996	

ESTUDIO DE LA REACCION

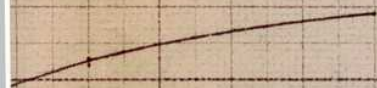
Tiempo de nitración.- Para determinar el tiempo óptimo de nitración se empleó la siguiente técnica: A 10 matraces aforados de 25 ml conteniendo cada uno 10mg/l de NO_3^- y fijando la temperatura aproximada-

CURVA DE CALIBRACION.
GRAFICO N°2.



LIBRACION.

Nº2.



45

50

55

NO_3^- mg/l.

-mente en 20°C, se agregó 0,2ml. de brucina y luego se midió el tiempo transcurrido entre el agregado del ácido sulfúrico y la dilución posterior. Las lecturas en el fotocolorímetro se efectuaron 20 minutos después de la dilución. Los datos obtenidos constan en la tabla N°3.

Observando estos datos se deduce que el tiempo óptimo de nitración oscila entre 6 y 8 minutos.

Se llama tiempo de nitración al intervalo de tiempo entre el agregado del ácido sulfúrico y la dilución posterior.

TABLA N° 3

NO_3^- mg/l	tiempo en minutos	% transmisión	$\lambda = 400\text{m}\mu$
10	2	36,0	36,1
		36,2	
		36,2	
10	3	36,5	36,5
		36,5	
		36,5	
10	4	36,8	36,8
		37,0	
		36,7	
10	6	36,7	37,2
		37,1	
		37,8	
10	8	36,9	37,2
		37,0	
		37,9	
10	10	37,4	36,0
		34,1	
		36,5	
10	15	34,5	34,3
		33,8	
		34,5	
10	20	34,4	34,8
		35,0	
		35,0	
10	25	33,8	33,3
		33,5	
		32,7	

NO_3^- mg/l	tiempo en minutos	% transmisión	
10	40	32,8 31,5 33,7	32,6

 $\lambda = 400\text{m}\mu$

Influencia de la temperatura.- Para determinar la influencia de la temperatura en la reacción se hizo la experiencia con un mismo patron (según técnica indicada) pero variando las temperaturas.

Los datos obtenidos constan en la tabla N° 4

TABLA N° 4

NO_3^- mg/l	Temperatura °C	% Transmisión	
10	0	43,1	42,8
		42,5	
10	10	40,0	39,9
		39,9	
10	15	37,8	37,9
		38,0	
10	19	37,2	37,1
		37,0	
10	20	36,9	37,0
		37,2	
10	40	35,8	35,4
		35,0	

 $\lambda = 400\text{m}\mu$

De acuerdo a los datos obtenidos se elige la temperatura de 20°C.

Tiempo de lectura.- Aplicando la técnica descripta, y fijando la temperatura aproximadamente en 20°C y 7 minutos el tiempo de nitración, se ensayó con el patron de 10 mg/l de NO_3^- , para establecer el tiempo óptimo

después del cual debe efectuarse la lectura.

Se hicieron lecturas inmediatamente de diluir y a intervalos de 10 minutos de tiempo.

Los datos obtenidos figuran en la tabla N°5 y de la observación de los mismos se desprende que las lecturas son estables entre los 10 y 30 minutos.

TABLA N°5

NO_3^- mg/l	Tiempo en minutos	% transmisión
10	0	37,6
10	10	37,0
10	20	37,3
10	30	37,4
10	40	37,9
10	50	38,2
10	60	38,5
10	120	39,0
10	180	41,1
10	240	46,1

$\lambda = 400\text{m}\mu$

Efecto de la dilución en la nitración.- Comprobamos que para obtener datos concordantes en las lecturas de los patrones es necesario agregar los reactivos (brucina y ácido) a un volumen perfectamente determinado de agua. Esta comprobación la efectuamos aplicando la siguiente técnica:

Medir exactamente 2 ml. de una solución de NO_3^- cuya concentración corresponda a 10 mg/l de ión nitrato, introducirlos en un matrás

aforado de 25ml, agregar 0,2 ml de brucina y 10 ml. de ácido sulfúrico ($d_4^{20} = 1,84$) p.a., a los 7 minutos del agregado del ácido se diluye. Agitar y enfriar, enrasar y volver a enfriar y agitar; leer a los 20 minutos fijando la temperatura en 20°C.

Repetir todo agregando a los 2ml. de la solución de NO_3^- y antes de la brucina y el ácido las siguientes cantidades de agua bidestilada.

TABLA N° 6

NO_3^- mg/l	Agua agregada antes de la brucina y del ácido ml	% Transmisión	$\lambda = 400m\mu$
10	0	34,0	34,1
		34,2	
10	1	36,0	36,1
		36,2	
10	2	38,0	37,9
		37,8	
10	3	39,0	38,9
		38,8	
10	4	41,1	41,2
		41,3	
10	5	42,5	42,5
		42,6	
10	6	55,2	55,3
		55,4	
10	8	67,5	67,3
		67,1	
10	10	88,1	88,2
		88,3	

Duración del reactivo "brucina".-

El reactivo brucina en solución clorofórmica, permanece sin alterarse apreciablemente por espacio de 2 meses, como comprobamos de la observación de los siguientes datos obtenidos:

TABLA N° 7

Antigüedad del reactivo días	NO ₃ ⁻ mg/l	% Transmisión
0	10	37,5
1	10	37,5
7	10	37,3
14	10	37,4
30	10	37,2
40	10	37,0
60	10	36,6

-----0-----

ESTUDIO DE INTERFERENCIASRecuperación de nitratos de soluciones que contienen otros iones.-

Se estudió la influencia que tienen en la reacción algunos iones que suelen encontrarse en aguas, con el objeto de determinar su posible interferencia, establecer en caso de ser necesario la forma de eliminarlos y fijar los límites tolerables para cada elemento.

El método general seguido para cada caso es el siguiente:

- 1) Medir la solución de nitrato
- 2) Medir la solución interferente. La suma de estos volúmenes no pasará de 5ml.
- 3) Completar si es necesario el volumen a 5ml. con agua bidestilada.
- 4) Agregar el reactivo (0,2ml de una solución de brucina al 5% en cloroformo)

5) Agregar el ácido (10ml de H_2SO_4 d = 1,84, p.a.) fijando la temperatura en $20^\circ C$ aproximadamente.

6) Diluir exactamente a los 7 minutos del agregado del ácido

7) Llevar a volumen (25ml). Agitar y enfriar a $20^\circ C$.

8) Leer en el fotómetro a los 20 minutos de dilución usando el filtro

$$\lambda = 400 \text{ m}\mu$$

Para el estudio de interferencias se usaron siempre dos patrones de ión nitrato. El patron conteniendo 2,5 mg/l de NO_3^- y el patron con 25 mg/l de NO_3^-

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen cloruros.-

Se utilizó una solución de ClK p.a. que contenía 1 ml = 5 mg de Cl^-

TAULA N° 8

Cl^- agregado mg/l	NO_3^- mg/l	% de trans.	NO_3^- recuperado mg/l	Diferencias mg/l %	
0	2,5	78,9	2,6	0,1	4
0	25	17,1	24,9	0,1	0,4
100	2,5	78,9	2,6	0,1	4
100	25	17,2	24,8	0,2	0,8
200	2,5	78,8	2,6	0,1	4
200	25	17,0	24,9	0,1	0,4
500	2,5	78,9	2,6	0,1	4
500	25	17,2	24,8	0,2	0,8
1000	2,5	78,0	2,7	0,2	8
1000	25	17,0	24,9	0,1	0,4
1500	2,5	77,7	2,7	0,2	8
1500	25	16,6	25,4	0,4	1,6

Se deduce:

El ión cloruro no interfiere aproximadamente hasta una concentración de 1500 mg/l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen SiO₂.

Se preparó una solución de metasilicato de sodio en la que sal contiene 0,4 mg de SiO₂

TABLA N° 9

SiO ₂ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l.	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias	
				mg/l	%
0	2,5	78,9	2,6	0,1	4
0	25	17,2	24,8	0,2	0,8
50	2,5	79,1	2,5	0	0
50	25	17,4	24,5	0,5	2
100	2,5	79,3	2,4	0,1	4
100	25	17,5	24,4	0,6	2,4
200	2,5	79,6	2,3	0,2	8
200	25	17,6	24,3	0,7	2,8

Se deduce:

Hasta 200 mg./l aproximadamente de SiO₂ no producen interferencia.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen Ca⁺⁺

Se preparó una solución de Cl₂Ca p.a. en la que sal contiene 1mg de Ca⁺⁺ .-

TABLA N° 10

Ca ⁺⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup.mg/l	Diferencias	
				mg/l	%
0	2,5	78,9	2,6	0,1	4
0	25	17,1	24,9	0,1	0,4
100	2,5	79,0	2,5	0	0
100	25	17,3	24,6	0,4	1,6
200	2,5	79,3	2,4	0,1	4

Ca ⁺⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l %	
200	25	17,5	24,4	0,6	2,4
400	2,5	78,5	2,6	0,1	4
400	25	16,8	25	0	0

El Ca⁺⁺ no interfiere la reacción en la concentración ensayada, es decir hasta 400 mg/l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen Mg⁺⁺

Se utilizó una solución de SO₄Mg.7H₂O p.a. en la que 1 ml contiene 1 mg. de Mg⁺⁺

TABLA N° 11

Mg ⁺⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l %	
0	2,5	78,9	2,6	0,1	4
0	25	17,2	24,8	0,2	0,8
100	2,5	78,5	2,6	0,1	4
100	25	17,0	24,9	0,1	0,4
200	2,5	78,4	2,7	0,2	8
200	25	17,3	24,6	0,4	1,6
400	2,5	78,2	2,7	0,2	8
400	25	16,9	25	0	0

Se observa que el Mg⁺⁺ no interfiere la reacción estando presente en una concentración de hasta aproximadamente 400 mg/l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen Fe⁺⁺⁺

Se preparó una solución en la que 1 ml contiene 0,02 mg de Fe⁺⁺⁺, a partir de SO₄Fe.SO₄(NH₄)₂.6H₂O p.a. oxidando con permanganato de potasio.

TABLA N° 12

Fe ⁺⁺⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l	%
0	2,5	79,0	2,5	0	0
0	25	17,1	24,9	0,1	0,4
2	2,5	79,3	2,4	0,1	4
2	25	17,3	24,6	0,4	1,6
4	2,5	78,9	2,6	0,1	4
4	25	17,0	24,9	0,1	0,4
6	2,5	78,7	2,6	0,1	4
6	25	16,9	25	0	0
8	2,5	78,2	2,7	0,2	8
8	25	16,8	25	0	0
10	2,5	78,1	2,7	0,2	8
10	25	16,7	25,4	0,4	1,6

El ión férrico no constituye interferencia hasta una concentración de 10 mg/l .

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen As⁵⁺

Se preparó una solución de AsO₄HNa₂·7H₂O p.a. en la que ml contiene 1% de As⁵⁺

TABLA N° 13

As ⁵⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l	%
0	2,5	78,7	2,6	0,1	4
0	25	17,0	24,9	0,1	0,4
0,1	2,5	79,0	2,5	0,	0
0,1	25	17,1	24,9	0,1	0,4
0,2	2,5	79,3	2,4	0,1	4
0,2	25	17,2	24,8	0,2	0,8

As ⁵⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l ³	% trans	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l	%
0,4	2,5	79,6	2,3	0,2	8
0,4	25	17,6	24,3	0,7	2,8

Observando los datos de la tabla N° 13 se deduce que el arsénico no interfiere hasta aproximadamente 0,4mg./l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen V⁵⁺

Se preparó una solución de VO₃Na.4H₂O p.a. en la que lml contiene 2γ de V⁵⁺

TABLA N° 14

V ⁵⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l	%
0	2,5	79,0	2,5	0	0
0	25	17,1	24,9	0,1	0,4
0,2	2,5	79,3	2,4	0,1	4
0,2	25	17,3	24,6	0,4	1,6
0,4	2,5	79,1	2,5	0	0
0,4	25	17,0	24,9	0,1	0,4
1	2,5	78,3	2,7	0,2	8
1	25	16,8	25	0	0

El vanadio no molesta la reacción hasta aproximadamente 1mg/l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen Cu⁺⁺

Se preparó una solución de SO₄Cu.5H₂O p.a. en la cual lml contiene 1γ de Cu⁺⁺.

TABLA N° 15

Cu ⁺⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l	%
0	2,5	78,9	2,6	0,1	4

Cu ⁺⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	%trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l %	
0	25	17,0	24,9	0,1	0,4
0,1	2,5	79,0	2,5	0	0
0,1	25	17,1	24,9	0,1	0,4
0,2	2,5	78,8	2,6	0,1	4
0,2	25	17,0	24,9	0,1	0,4
0,4	2,5	78,3	2,7	0,2	8
0,4	25	16,9	25	0	0

El ión cobre no interfiere aproximadamente hasta 0,4 mg/l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen Pb⁺⁺

Se preparó una solución de (CH₃COO)₂Pb.3H₂O p.a en la cual 1ml contiene 1% de Pb⁺⁺.

TABLA N° 16

Pb ⁺⁺ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l %	
0	2,5	78,9	2,6	0,1	4
0	25	17,0	24,9	0,1	0,4
0,1	2,5	79,3	2,4	0,1	4
0,1	25	17,1	24,9	0,1	0,4
0,2	2,5	79,5	2,4	0,1	4
0,2	25	17,3	24,6	0,4	1,6
0,6	2,5	78,7	2,6	0,1	4
0,6	25	16,9	25	0	0

El ión plomo no interfiere hasta 0,6 mg/l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen NO₂⁻.

Se preparó una solución de NO₂Na en la cual 1ml contiene 0,02 mg de NO₂⁻.

TABLA N° 17

NO ₂ ⁻ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l %	
0	2,5	79,0	2,5	0	0
0	25	17,0	24,9	0,1	0,4
1	2,5	78,7	2,6	0,1	4
1	25	17,0	24,9	0,1	0,4
2	2,5	78,8	2,6	0,1	4
2	25	17,2	24,8	0,2	0,8
10	2,5	78,1	2,7	0,2	8
10	25	16,6	25,4	0,4	1,6

De los datos obtenidos se deduce que los nitritos no interfieren aproximadamente hasta 10 mg/l.

Recuperación de nitratos de soluciones que contienen NH₄⁺.

Se utilizó una solución de ClNH₄ tal que 1ml contiene 0,1 mg. de NH₄⁺. Se empleó agua libre de amoníaco para hacer la solución.

TABLA N° 18

NH ₄ ⁺ mg/l	NO ₃ ⁻ mg/l	% trans.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias mg/l %	
0	2,5	79,0	2,5	0	0
0	25	17,3	24,6	0,4	1,6
10	2,5	78,7	2,6	0,1	4
10	25	17,0	24,9	0,1	0,4
30	2,5	78,5	2,6	0,1	4
30	25	16,9	25	0	0
50	2,5	78,1	2,7	0,2	8
50	25	16,6	25,4	0,4	1,6

El NH₄⁺ no interfiere aproximadamente hasta 50 mg/l expresado como tal.

Recuperación de nitratos en presencia de materia orgánica.-

Se ensayó con aguas de elevado contenido de materia orgánica y color, aplicando la siguiente técnica:

- 1) Determinar oxidabilidad y color en la muestra.
- 2) Tomar un volumen conveniente de la muestra, diluir a 5ml. con agua bidestilada y determinar nitratos según la técnica general.
- 3) Tomar el mismo volumen de muestra, agregar un volumen adecuado de una solución de nitrato de concentración conocida, completar a 5ml con agua bidestilada y determinar nitratos según la técnica general.
- 4) Tomar el volumen indicado en (3) de solución de nitrato de la misma concentración, diluir a 5ml. con agua bidestilada y determinar nitratos según la técnica general.

Si la suma de la cantidad de nitrato recuperada en (2) y en (4) es igual a la cantidad de nitrato recuperada en (3) comprobamos que la materia orgánica en la concentración ensayada no interfiere.

Como en general las aguas de consumo contienen muy pequeñas cantidades de materia orgánica es interesante determinar su límite de interferencia que permite emplear el método sin eliminarla. Tenemos una medida aproximada de la materia orgánica existente en el agua por su oxidabilidad, la cual se define, como el equivalente en oxígeno del permanganato de potasio consumido en medio ácido cuando se calienta el agua en baño maría durante 30 minutos. Los resultados obtenidos figuran en la tabla N° 19.

TABLA N° 19

Oxidabilidad Oxígeno consu- -mido mg/l	Color	NO ₃ ⁻ determ. (muestra) Mg/l	NO ₃ ⁻ agr. mg/l.	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencias	
					mg/l	%
30	60	2,40	8,90	11,5	0,2	1,7

Oxidabilidad: oxígeno consumido mg/l.-	Color NO ₃ ⁻ determ. (muestra) mg/l	NO ₃ ⁻ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Diferencia mg/l	%
30	60	2,4	25	27,6	0,2 0,7
20	30	4,7	9	13,2	0,5 3,6
20	30	4,7	25,5	29,7	0,5 1,6
10	30	2,5	9,2	12,5	0,8 6,8

Podemos afirmar que trabajando con aguas de oxidabilidad hasta 30 mg/l de O₂ consumido y color hasta 60 no se observa interferencia.

Aplicación del método a la determinación de NO₃⁻ en aguas

Se determinó NO₃⁻ en varias muestras de aguas por el método de la brucina aplicando la técnica propuesta en la página 21. Los resultados obtenidos figuran en la tabla N° 20

TABLA N°20

Determinación de NO₃⁻ en aguas naturales y de consumo.-

N° de análisis.	Provincia o Territorios	Localidad	Contenido de NO ₃ ⁻ mg/l	NO ₃ ⁻ agr. mg/l	NO ₃ ⁻ recup. mg/l	Dif. mg/l	%
49.232	Es.As.	Vto.Lopez	7,5	5	12,2	0,3	2,4
49.234	Es.As.	Vto.Lopez	32,5	10	42,7	0,2	0,7
49.232	Es.As.	Vto.Lopez	7,5	10	17	0,5	2,8
49.209	La Pampa	Sta.Rosa	35	5	40,1	0,1	0,25
48.455	La Rioja	La Rioja	27,5	10	37,4	0,1	0,26
48.763	Es.Aires	Cap.Fed.	39,5	5	44,3	0,2	0,44

La primera columna indica el número de análisis de la muestra que consta en los archivos del laboratorio central de C.S.N.

En otra serie de aguas se determinó el contenido de NO₃⁻ por el método propuesto y los resultados obtenidos se compararon con los hallados aplicando el método del fenol-sulfónico y el polarográfico (35) a la misma serie de aguas.

Los valores constan en la tabla N°21 .

Como puede observarse existe una mayor concordancia entre los valores obtenidos mediante el método polarográfico y el de la brucina; el método fenol-disulfónico evidencia un mayor apartamiento debido a los errores de que se vé afectado.

TABLA N° 21

Provincia ó Territorio	Localidad	Contenido de NO ₃ ⁻ mg/l		
		M.sulfo-fénico	³ M.brucina	M.polarográfico
Bs.As.	Azul	< 1	0,5	1
Bs.As.	Cap.Federal	34	41,5	39,8
Bs.As.	Cap.Federal	23	31,5	32,2
Bs.As.	San Isidro	34	25,7	25,8
Bs.As.	Azul	23	29,5	31
Bs.As.	Vte. Lopez	20	29,8	31
Catamarca	Catamarca	27	29,9	31,2
Bs.As.	Cap.Federal	38	55	60
Bs.As.	Cap.Federal	30	35,7	36,5
Bs.As.	San Martin	5	9,5	10
Bs.As.	Tres Arroyos	34	37	37,2

Detalles del método polarográfico aplicado pueden consultarse en "Determinación polarográfica de nitratos en aguas." por Susana M.de Salas (Revista de O.S.N. N° 138-Enero 1951). La técnica seguida fué la indicada en el citado artículo.

CONCLUSIONES

- 1) Se propone un método de determinación de NO_3^- en aguas de consumo con brucina.
- 2) Se propone el uso de la longitud de ondas de $400\text{m}\mu$ con la cual obtuvimos una mayor sensibilidad en lugar de la longitud de onda de $470\text{m}\mu$ recomendada por los autores.
- 3) Empleando el filtro de $400\text{m}\mu$ obtuvimos una curva de calibración en la que se cumple la ley de Beer hasta una concentración de 10mg/l de NO_3^- , aún cuando puede leerse en dicha curva hasta una concentración de 55mg/l de NO_3^- . Para concentraciones mayores hay que diluir la muestra.
- 4) Del estudio de la reacción se deduce que el tiempo óptimo de nitración está entre 6 y 8 minutos, el tiempo óptimo después del cual debe efectuarse la lectura entre 10 y 30 minutos; y la temperatura óptima es aproximadamente 20°C .
- 5) Se efectuó un detallado estudio de las interferencias comprobándose que el método propuesto no es afectado apreciablemente por los iones que normalmente están presentes en aguas de consumo.
- 6) Se comprobó así que el Cl^- no interfiere la reacción hasta aproximadamente 1500mg/l , el Ca^{++} y Mg^{++} hasta aproximadamente 400mg/l , el SiO_2 hasta aproximadamente 200mg/l , el NH_4^+ hasta aproximadamente 50mg/l expresado como tal, la materia orgánica hasta aproximadamente 30mg/l de O_2 consumido (oxidabilidad) y 60 de color; el Fe^{+++} y NO_2^- hasta aproximadamente 10mg/l , el V^{5+} hasta aproximadamente 1mg/l ; el Pb^{++} hasta aproximadamente $0,6\text{mg/l}$ y el As^{5+} y Cu^{++} hasta $0,4\text{mg/l}$.
- 7) Se efectuaron ensayos de recuperación con aguas naturales y de consumo obteniéndose una aproximación del 3% aproximadamente (Ver Tabla N° -20).

8) Se hicieron estudios comparativos del método de la brucina con el sulfofénico y el método polarográfico comprobándose que éste último método y el método de la brucina son comparables presentando el método de la brucina una técnica más sencilla lo que facilita su empleo en trabajos de rutina.

Yri. B. S.
AO

-----0-----

Noemi A. Romiti

BIBLIOGRAFIA

- 1)- Comig H.-Cyanosis in Infants caused by nitrats in well water
J.Am.Med.Assoc. 129-112 (Sep/8/1945)
- 2)- Francett R. y Miller H.- J.Pediatrics 23-593-1946.
- 3)- Chapin F.J.- J.Mich State Med.Soc.46-938-(1947).
- 4)- Wilson J.K.- J.Agron 41,20-2 (1949).
- 5)- Holman Waring- J.Am.Water Works Assoc.41,147-50 (1949)
- 6)- Borts H.- Am.J.Pub.Health 39,974-8 (1949).
- 7)- Besch, Rosenfield, Huston, Shipman and Woodward - J.Am W.W.ass
Vol 42-n°2-161,70(1950).
- 8)- Conblath M.y Hartmann- J.Pediat.33-421(1948).
- 9)- Ferraut M.- J.Pediat. 29-585-(1946).
- 10)- Trelles R.- Rev.O.S.N. n°133-pag.116.(1949).
- 11)- Schroeder and Berk-Burk Mines 443-pag.83 (1941).
- 12)- Jordan H- Standard Methods of Water Analysis- 8° Ed.pag.48-50.
- 13)- Nardo L.-compt.rend 188,563-5(1929).
- 14)- Letis and Rea-J.Chem-Soc,105,1157-61 (1914).
- 15)- Smith L.- Z.Anal.Chem. 56,28-42 (1917).
- 16)- Stromberg H.Proc.Staff Meetings Mayo Clinic 7,254-6(1932).
- 17)- Richm H.Z.Anal.Chem 81,353-77,439-47 (1930).
- 18)- Morgan M. Science 61,343-4 (1930).
- 19)- Anales Fis.y Quim.(Madrid) 40,692-708(1944).
- 20)- Scales F. and Harrison Ind.ang Chem 16,571-2(1924).
- 21)- Stewart and Greades-J.Am.Chem.Soc,32,756(1910).
- 22)- Salas S.M. de - Rev.O.S.N. N° 138-pag:22-39(1951).
- 23)- Taras M.Anal.Chem-22,1020-2(1950).
- 24)- Johnson y Ubrich-Anal Chem-Vol.22-1526(1950).
- 25)- Matsui H.J.Chem-Soc.Japan-64-809-10(1943).
- 26)- Sánchez J.Rev.Asoc.Bioquim.Argentina 16-64,3-10 (1949)

- 27)-Snell and Snell- Colorimetric Methods of Analysis Vol.1 Pag:635
(1936).
- 28)-Winkler W.Chem.ztg 25, 586-7(1901).
- 29)-Haase L.Chem.ztg.50, 372 (1926).
- 30)-Wolf B.Ind And.Eng.Chem.Anal.Ed.16, 446-7(1944).
- 31)-Noll Charles-Ind.And.Eng.Chem.Anal.Ed.17, 426-8(1945).
- 32)-Veprosy Cicho Khim 32, 74 (1946).
- 33)-Welcher-Organic Analytical Reagents-Vol.4 Pag.207.-

-----0-----