

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COSTA RICA

Campus Omar Dengo

FACULTAD DE CIENCIAS EXACTAS Y NATURALES

ESCUELA DE QUÍMICA

“IMPLEMENTACIÓN Y EVALUACIÓN DE UN MÉTODO ESPECTROFOTOMÉTRICO  
PARA EL ANÁLISIS DE ION NITRATO EN AGUAS METEÓRICAS DEL VALLE  
CENTRAL DE COSTA RICA”

Proyecto de graduación en la modalidad de pasantía sometido a consideración del Tribunal  
Examinador de la Escuela de Química, como requisito parcial para optar por el grado de  
Licenciatura en Química Industrial

Bach. Juan Manuel Sotomayor Pineda

Tutor

Dr. Germain Esquivel Hernández

Asesores

Máster Rolando Sánchez Gutiérrez

M.Sc. Mario Villalobos Forbes

Heredia, Costa Rica

Diciembre, 2022

"Este trabajo de graduación fue\_\_\_\_\_ por el Tribunal Examinador de la Escuela de Química de la Universidad Nacional, como requisito parcial para optar al grado de Licenciatura en Química Industrial"

Miembros del Tribunal Examinador del Trabajo Final de Graduación:

	<u>NOMBRE</u>	<u>FIRMA</u>
Decana (o)	_____	_____
Director (a) de la Escuela	_____	_____
Tutor	_____	_____
Asesor	_____	_____
Lector	_____	_____
Proponente	_____	_____

## ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CONTENIDO.....	ii
ÍNDICE DE CUADROS .....	iii
ÍNDICE DE FIGURAS .....	iii
ÍNDICE DE ANEXOS .....	iii
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN .....	1
1.1. Antecedentes y justificación.....	1
1.2. Marco teórico .....	3
1.2.1. Ciclo global del nitrógeno .....	3
1.2.1.1. Ciclo del nitrógeno en el agua y el suelo.....	3
1.2.1.2. Ciclo del nitrógeno atmosférico .....	4
1.2.2. Métodos de análisis de ion nitrato .....	5
1.2.2.1. Cromatografía de iones.....	5
1.2.2.2. Espectrofotometría UV-Vis.....	6
CAPÍTULO II. OBJETIVOS Y ACTIVIDADES.....	8
2.1. Objetivo general .....	8
2.2. Objetivos específicos y actividades.....	8
CAPÍTULO III. METODOLOGÍA.....	9
3.1. Metodología.....	9
3.2. Muestreo.....	10
3.3. Método de análisis.....	11
3.3.1. Método implementado para el análisis de ion nitrato.....	11
3.3.1.1. Cambios realizados al método base.....	12
3.3.2. Preparación de disoluciones .....	13
3.4. Cuantificación de nitrato en aguas meteóricas .....	14
3.5. Análisis de datos de los resultados obtenidos.....	14
CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	16
4.1. Optimización del método de análisis.....	16
4.2. Análisis de muestras mediante UV-Vis.....	20
4.3. Comparación de resultados de ambos métodos (IC vs UV-Vis).....	23
CAPÍTULO V. CONCLUSIONES .....	29
CAPÍTULO VI. REFERENCIAS .....	30
CAPÍTULO VII. ANEXOS .....	36

## ÍNDICE DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Criterios de cumplimiento establecidos para el balance iónico de muestras de agua de lluvia dependiendo de la concentración de miliequivalentes totales. ....	6
<b>Cuadro 2.</b> Criterios de cumplimiento establecidos para los factores de sesgo, precisión, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre para el análisis de muestras de agua de lluvia mediante la técnica UV-Vis. ....	16
<b>Cuadro 3.</b> Resultados obtenidos para las muestras de agua Evian, Nestlé Vera y Rsp1, para los análisis de IC, adición de estándar y patrón externo. ....	20
<b>Cuadro 4.</b> Tiempo de retención promedio, desviación estándar y rango de estimados para el ion nitrato usando el cromatógrafo de iones disponible en el LAMRHI. ....	28
<b>Cuadro 5.</b> Resumen de parámetros calculados para la comparación de los métodos de análisis de UV-Vis e IC. ....	28

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Flujo del proceso utilizado para cuantificar la concentración de $\text{NO}_3^-$ en muestras de agua de lluvia mediante las técnicas de espectrofotometría UV-Vis e IC. ....	10
<b>Figura 2.</b> Sistema de muestreo utilizado para la recolección de muestras de agua de lluvia (muestreador ubicado a la derecha con embudo azul). ....	11
<b>Figura 3.</b> Variación de la absorbancia con respecto a la concentración de ion nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) presente en tres disoluciones patrón (2.000, 5.000 y 10.000 ppm) y al volumen de muestra empleada (10.00, 25.00 y 50.00 mL). ....	17
<b>Figura 4.</b> Curvas de calibración obtenidas para el método de adición de estándar en dos muestras de agua embotellada (EV y NV) y una muestra de agua superficial (Rps1). ....	18
<b>Figura 5.</b> Curva de calibración utilizada para cuantificar el ion nitrato en las dos muestras de agua embotellada (EV y NV) y en la muestra de agua superficial (Rps1) mediante el método de patrón externo. ....	19
<b>Figura 6.</b> Series de tiempo para A) pH, B) EC ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), C) masa de agua de lluvia recolectada (g) y D) IB (%). ....	22
<b>Figura 7.</b> Curvas de calibración utilizadas en la cuantificación de ion nitrato mediante el método UV-Vis (septiembre-noviembre 2021, N=9, LD=0.085 mg/L, LC=0.257 mg/L $R^2_{\text{promedio}} = 0.99949 \pm 0.00073$ ). ...	23
<b>Figura 8.</b> Comparación de las concentraciones de $\text{NO}_3^-$ medidas por los métodos de UV-Vis e IC en 56 muestras de agua de lluvia recolectadas entre septiembre y noviembre 2021. La línea 1:1 se muestra como referencia. ....	24
<b>Figura 9.</b> Variación temporal del sesgo calculado a partir de la diferencia en las concentraciones de ion $\text{NO}_3^-$ obtenidas de las técnicas de análisis IC y UV-Vis. ....	25
<b>Figura 10.</b> Variación temporal de la relación entre la concentración de nitrato calculada a 275 nm (aporte de las interferencias) y a 220 nm (ion nitrato). ....	27

## ÍNDICE DE ANEXOS

<b>Anexo 1.</b> Registro de las muestras recolectadas y analizadas por IC y UV-Vis durante el periodo de la pasantía. ....	36
<b>Anexo 2.</b> Condiciones experimentales para el análisis de ion $\text{NO}_3^-$ mediante la técnica de IC. ....	38

## **CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN**

### **1.1. Antecedentes y justificación**

El nitrógeno (N) es un elemento esencial que se encuentra ampliamente distribuido en el ambiente, por lo que juega un papel crítico en los ecosistemas terrestres y acuáticos <sup>1,2</sup>. Sin embargo, el ion nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), una forma soluble de N, puede ser considerado como un contaminante cuando su concentración es elevada en el ambiente. Existen diversas fuentes de  $\text{NO}_3^-$  en los sistemas acuáticos, entre ellas se incluyen: la precipitación, el nitrógeno del suelo, los fertilizantes químicos y las aguas residuales <sup>3</sup>.

En la naturaleza, la principal vía de fijación de N al ambiente es mediante procesos biológicos, en los cuales los microorganismos en el suelo realizan la fijación a través de la enzima nitrogenasa a temperatura ambiente y condiciones atmosféricas. Sin embargo, la fijación de N en el suelo por medios naturales no es suficiente para suplir la demanda de N generada por la sobreproducción de alimentos para abastecer a las más de siete mil millones de personas a nivel mundial. Es por ese motivo que se debe de introducir nitrógeno mediante otras vías como lo son el uso de fertilizantes, que buscan incorporar artificialmente el nitrógeno al suelo y cuyo uso indiscriminado resulta en la contaminación de los cuerpos de agua <sup>4-6</sup>.

El ciclo del nitrógeno ha sido transformado significativamente por las actividades humanas, a partir del aumento en la quema de combustibles fósiles, la creciente demanda de nitrógeno por parte de industrias (como la agropecuaria) y las ineficiencias generalizadas en su uso <sup>7,8</sup>. Una liberación descontrolada de nitrógeno antropogénico al ambiente provoca un aumento en la incidencia de problemas ambientales y de salud humana; trayendo consigo consecuencias como el deterioro de la hidrosfera debido a contaminación por N <sup>9,10</sup>.

Se ha documentado que la deposición atmosférica excesiva de N aumenta los riesgos de eutrofización de los sistemas de agua superficial e impactan las zonas de recarga y las aguas abajo<sup>11</sup>. Actualmente, la expansión agrícola, la aplicación de fertilizantes y la industrialización están produciendo un aumento constante de la deposición atmosférica de N, lo que ocasiona impactos negativos en la salud de los ecosistemas <sup>12,13</sup>. En Costa Rica, de acuerdo con el Reglamento para la Calidad del Agua Potable N° 38924-S, el valor alerta para el nitrato es de 25 mg/L y su valor máximo admisible es de 50 mg/L <sup>14</sup>. Asimismo, un exceso de  $\text{NO}_3^-$  en el agua potable se ha relacionado con daños en el sistema endocrino humano y en la enfermedad metahemoglobinemia, llamada “blue baby syndrome”, que afecta especialmente a los fetos y los bebés <sup>15</sup>.

Se han desarrollado y aplicado múltiples técnicas para cuantificar compuestos nitrogenados en las distintas matrices de interés; entre los métodos clásicos se encuentran la cromatografía de iones <sup>16,17</sup> y la espectrofotometría UV-Vis <sup>18</sup>. Esta última presenta la ventaja de que el equipo requerido presenta un precio de mercado menor. Además, no se involucra el consumo de reactivos para preparar la fase móvil, de la compra de consumibles y otros insumos, como en la técnica de IC, que incrementan el costo del análisis, lo que reduce sus costos de operación y lo convierte en un método más accesible para los laboratorios de análisis.

En el Laboratorio de Manejo del Recurso Hídrico (LAMRHI) y el Grupo de Investigación en Isótopos Estables de la Universidad Nacional de Costa Rica, se utiliza actualmente el método de cromatografía de iones para el análisis de  $\text{NO}_3^-$  en muestras de aguas meteórica (agua de lluvia). Sin embargo, se debe prever situaciones en las cuales el análisis mediante este método no se puede efectuar, por ejemplo, debido a problemas de funcionamiento del equipo, al incremento en la demanda de tiempo de uso por parte de otros análisis realizados en el laboratorio o incluso debido al acceso limitado a los reactivos necesarios para hacer funcionar el cromatógrafo de iones. Es por ese motivo que el presente trabajo final de graduación tuvo como objetivo implementar y evaluar un método espectrofotométrico para el análisis de nitrato en aguas meteóricas que sirva como método alternativo de análisis.

## **1.2. Marco teórico**

### **1.2.1. Ciclo global del nitrógeno**

El ciclo del nitrógeno es un proceso biogeoquímico relevante para los seres vivos, al igual que el ciclo del carbono, del azufre y el fósforo <sup>19</sup>. El N es esencial para el crecimiento de las plantas y, por lo tanto, contribuye de forma significativa a la cadena alimentaria humana, pero a la vez su presencia en el ambiente está muy influenciada por las actividades antropogénicas. Este elemento constituye aproximadamente el 79 % de la atmósfera terrestre en forma de gas nitrógeno (N<sub>2</sub>), el cual no se encuentra disponible biológicamente. Se calcula que esta reserva es del orden de 3.8x10<sup>9</sup> kg de N, aproximadamente el 90 % del total global, mientras que los depósitos de la corteza terrestre constituyen el 10 % restante. En comparación, la cantidad de N almacenada en la biomasa (terrestre y oceánica) y en el suelo es pequeña, alrededor de 4.22x10<sup>8</sup> kg de N, pero es vital en lo que respecta a la sobrevivencia de los organismos vivos <sup>20,21</sup>.

El ciclo global del nitrógeno está impulsado por procesos biológicos y físicos, que dependen de factores ambientales como la energía solar, la precipitación, la temperatura, la textura y la humedad del suelo, la presencia de otros nutrientes y las concentraciones atmosféricas de dióxido de carbono (CO<sub>2</sub>) <sup>10,19</sup>. Durante la mayoría de estas transformaciones del N hay una ganancia o pérdida de electrones y, por lo tanto, un cambio en el estado de oxidación del N desde la forma más oxidada, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, a la forma más reducida, ion amonio (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>), pasando por el estado intermedio, ion nitrito (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) y el nitrógeno gaseoso (N<sub>2</sub>) <sup>22</sup>.

#### **1.2.1.1. Ciclo del nitrógeno en el agua y el suelo**

Tanto en el suelo como en el agua, el ciclo del nitrógeno está controlado por las actividades metabólicas de determinados microorganismos <sup>19</sup>. En estos ecosistemas, la mayoría de los microorganismos metabolizan fácilmente los compuestos NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup> y NO<sub>3</sub><sup>-</sup>. En comparación, la capacidad de utilizar el N<sub>2</sub> como fuente de N para la biosíntesis está restringida a muy pocas especies de microbios especializados. Muchos protozoos, incluyendo especies fotosintéticas y heterótrofas, y todos los metazoos obtienen el nitrógeno principalmente por ingestión de materia orgánica <sup>20,23,24</sup>.

Una vez dentro del organismo, el N es asimilado y reducido a  $\text{NH}_4^+$  <sup>24</sup>. Estos microorganismos también pueden llevar la asimilación del  $\text{N}_2$ , más allá de la reducción de materia orgánica a  $\text{NH}_4^+$  mediante una reacción de nitrificación, que consiste en la oxidación del N hasta la forma de  $\text{NO}_2^-$  y  $\text{NO}_3^-$ . En caso de que ocurra la reacción contraria, la formación de  $\text{N}_2$ , se le da el nombre de desnitrificación. La misma ocurre debido a condiciones donde existe poco oxígeno disponible para el funcionamiento normal de los microorganismos, por lo que estos se ven obligados a consumir  $\text{NO}_3^-$  <sup>24-26</sup>.

#### **1.2.1.2. Ciclo del nitrógeno atmosférico**

El nitrógeno de la atmósfera no está disponible para la mayoría de los organismos, porque la gran fuerza del triple enlace del  $\text{N}_2$  hace que esta molécula sea prácticamente inerte <sup>19</sup>. Los relámpagos, los rayos cósmicos, las erupciones volcánicas y otras actividades naturales pueden convertir el nitrógeno en nitrato, que luego es introducido en el suelo por la lluvia <sup>4</sup>. Sin embargo, el  $\text{N}_2$  no es la única especie de nitrógeno presente en la atmósfera, debido a que también están presentes otros compuestos como: monóxido de dinitrógeno ( $\text{N}_2\text{O}$ ), amoníaco ( $\text{NH}_3$ ), monóxido de nitrógeno ( $\text{NO}$ ), y el vapor de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) <sup>27</sup>.

La deposición atmosférica de nitrógeno describe la entrada de N reactivo de la atmósfera a la biosfera, tanto en forma de gases (deposición seca) o como a través de la precipitación (deposición húmeda) <sup>27</sup>. La deposición seca de nitrógeno se refiere al proceso en el que los componentes gaseosos de N en la atmósfera se depositan en las superficies en ausencia de agua meteórica <sup>28,29</sup>.

La deposición húmeda de N considera a los compuestos gaseosos y particulados de N en la atmósfera que son arrastrados a la superficie de la Tierra por la precipitación. Se produce a través de dos procesos: uno es el barrido en las nubes (rainout), que ocurre cuando los gases o las partículas son disueltos en el agua contenida en la nube; y el otro es la eliminación de gases y partículas por debajo de la nube (washout) mediante la interceptación de gases y partículas, por las gotas de lluvia <sup>28</sup>. La deposición húmeda suele determinarse mediante la instalación de instrumentos en campo abierto (muestreadores automáticos o pasivos) para recolectar la lluvia o la nieve durante periodos que suelen oscilar entre varios días y un mes <sup>29</sup>.

### **1.2.2. Métodos de análisis de ion nitrato**

Actualmente, existen varios métodos para el análisis de  $\text{NO}_3^-$  en muestras de aguas superficiales o subterráneas. En su mayoría son metodologías que permiten analizar cuantitativa y cualitativamente la presencia de este ion. Entre los métodos clásicos se encuentran la cromatografía de iones y la espectrofotometría UV-Vis.

#### **1.2.2.1. Cromatografía de iones**

La cromatografía de iones (IC) es una de las técnicas más utilizadas para la separación y el análisis de aniones y cationes en muestras ambientales <sup>30</sup>. La separación y determinación de los iones por este método se realiza mediante la utilización de una fase estacionaria y una fase móvil <sup>16,17</sup>. La fase estacionaria proporciona la superficie química, que interactúa con los componentes de la mezcla a separar. Las diferencias químicas de estos componentes dan lugar a diversos grados de unión molecular o atrapamiento en la fase estacionaria. Si la mezcla es transportada a través de la fase estacionaria mediante una fase móvil, las moléculas que experimentan la menor interacción con la fase estacionaria tenderán a avanzar más rápidamente que las retenidas en ella por interacciones moleculares más fuertes. Esto da lugar a la separación de especies similares según sean influenciadas por las diferencias en las velocidades de migración a través de la fase estacionaria <sup>31</sup>.

En la cromatografía de iones la fase estacionaria puede ser superficies sólidas o superficies recubiertas con líquidos, mientras que la fase móvil es líquida. Las formas estándar que adoptan las fases estacionarias suelen ser polvos granulares muy finos que se extienden uniformemente sobre superficies de vidrio o columnas. Las partículas de intercambio aniónico que usualmente se utilizan contienen grupos de carga positiva, como: aminas primarias, terciarias o cuaternarias; que se unen a los componentes de carga negativa (aniones) en la fase móvil. <sup>16,30-32</sup>.

Durante la aplicación de una metodología de IC es de gran importancia el balance iónico (%IB), que de acuerdo con el “Manual For The GAW Precipitation Chemistry Programme”<sup>33</sup> consiste en un procedimiento simple, preciso y fácil para comprobar la calidad del análisis iónico realizado en muestras de agua. Este procedimiento se basa en el principio de electroneutralidad, donde se requiere que los miliequivalentes totales de los aniones sean aproximadamente iguales a los miliequivalentes totales de los cationes; normalmente es obtenido como un porcentaje que se calcula según la siguiente fórmula, mostrada en la ecuación (1):

$$\%IB = \frac{(CE - AE)}{(CE + AE)} * 100 \quad (1)$$

, donde CE es la sumatoria de los cationes equivalentes ( $\mu\text{eL}^{-1}$ ), calculado según la ecuación (2):

$$CE = 1000 * \sum \frac{C_{Ci}}{\text{Peso equivalente}_{Ci}} + 10^{(6-pH)} \quad (2)$$

, donde  $C_{Ci}$  es la concentración del catión i en mg/L y  $10^{(6-pH)}$  es la concentración calculada del ion hidronio ( $\text{H}^+$ ) a 25°C. AE es la sumatoria de los aniones equivalentes ( $\mu\text{eL}^{-1}$ ), calculado según la ecuación (3):

$$AE = 1000 * \sum \frac{C_{Ai}}{\text{Peso equivalente}_{Ai}} + \frac{5.1}{10^{(6-pH)}} \quad (3)$$

, donde  $C_{Ai}$  es la concentración del anión i en mg/L y  $\frac{5.1}{10^{(6-pH)}}$  es la concentración del ion bicarbonato calculada a 25°C en muestras que tiene un  $\text{pH} > 5$ .

Según el manual citado anteriormente, existe un criterio de aceptación que depende de la suma total de los miliequivalentes aniónicos y catiónicos. Esos criterios se definen en el cuadro 1. Si una muestra exceda los límites establecidos, la misma se debe marcar para un análisis posterior de los datos o su reanálisis.

**Cuadro 1.** Criterios de cumplimiento establecidos para el balance iónico de muestras de agua de lluvia dependiendo de la concentración de miliequivalentes totales.<sup>33</sup>

Miliequivalentes totales	Diferencia aceptada (%)
$\leq 50$	$\leq \pm 60$
$> 50 \leq 100$	$\leq \pm 30$
$> 100 \leq 500$	$\leq \pm 15$
$> 500$	$\leq \pm 10$

### 1.2.2.2. Espectrofotometría UV-Vis

La espectrofotometría ultravioleta-visible (UV-Vis) es una técnica ampliamente utilizada para el análisis cuantitativo que se basa en la atenuación de un haz de luz por un analito en solución. La radiación ultravioleta cercana (180-390 nm) o visible (390-780 nm) se aprovecha para generar

transiciones electrónicas dentro de las moléculas. Algunas especies orgánicas e inorgánicas absorben intrínsecamente la radiación en el rango UV-Vis <sup>18,34</sup>.

La instrumentación básica consta de una fuente de radiación, un dispositivo de selección de la longitud de onda, un compartimento para la muestra, un detector y un dispositivo de salida. Tiempo atrás, era común utilizar fuentes con un filamento de tungsteno para el análisis en longitudes de onda visible, mientras que para la radiación ultravioleta era común utilizar lámparas de deuterio. Sin embargo, cada día son más utilizadas las fuentes continuas, las cuales permiten utilizar metodologías analíticas con requerimientos variados en las longitudes de onda, un ejemplo de estas son las lámparas de xenón <sup>35,36</sup>.

Para obtener una mejor resolución a la longitud de onda utilizada, se utiliza un monocromador de rejilla como dispositivo de selección de la longitud de onda, que también puede utilizarse para escanear el rango de longitudes de onda de interés; para los sistemas de menor coste y resolución se utiliza un filtro. El compartimento de la muestra suele ser una cubeta de 1,0 cm de sección cuadrada fabricada de cuarzo (para la región ultravioleta), vidrio o plástico (para la región visible). También hay que tener en cuenta las características de absorción del disolvente. Para la detección, el dispositivo más común es un tubo fotomultiplicador; también se utilizan fototubos y, cada vez más, fotodiodos y conjuntos de diodos <sup>18,34,35</sup>.

La relación entre la absorbancia y la concentración se conoce como ley de Beer-Lambert <sup>35</sup>. Se describe mediante la ecuación (4):

$$A = \epsilon bc \quad (4)$$

donde  $A$  es la absorbancia de la solución (adimensional);  $\epsilon$  es la absorptividad molar (L/mol\*cm);  $b$  es la longitud del trayecto óptico a través del medio absorbente (cm); y  $c$  es la concentración (mol/L) <sup>18,34</sup>.

## CAPÍTULO II. OBJETIVOS Y ACTIVIDADES

### 2.1. Objetivo general

Evaluar un método espectrofotométrico para el análisis de nitrato en aguas meteóricas recolectadas en el Valle Central de Costa Rica, mediante la comparación con el desempeño de un método de cromatografía de iones.

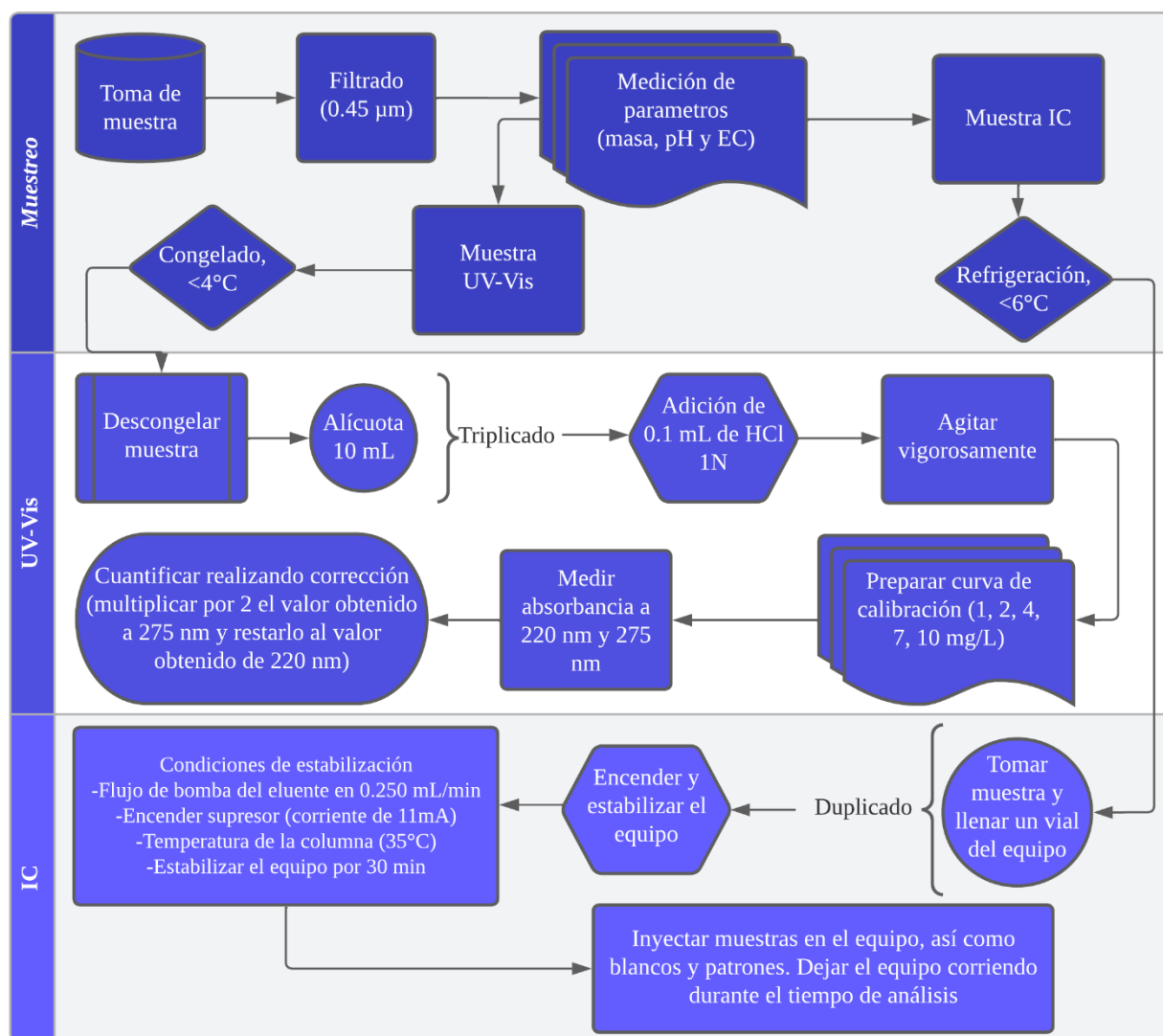
### 2.2. Objetivos específicos y actividades

Objetivos específicos	Actividades
1. Implementar la metodología analítica para el análisis espectrofotométrico de nitrato en aguas meteóricas.	a) Preparación de disolución intermedia y estándares analíticos. b) Estandarización del equipo para el análisis UV-Vis. c) Evaluación del método implementado.
2. Determinar la concentración de nitrato en aguas meteóricas recolectadas en la época lluviosa 2021 (julio-noviembre) utilizando cromatografía de iones y el método espectrofotométrico implementado.	a) Recolección de muestras. b) Análisis de muestras mediante el método espectrofotométrico implementado. c) Cuantificación de la concentración de $\text{NO}_3^-$ mediante la técnica de cromatografía de iones.
3. Comparar la incertidumbre, la precisión, la veracidad, la selectividad, el límite de detección y de cuantificación del método espectrofotométrico implementado con los resultados obtenidos del método de análisis cromatográfico.	a) Análisis de los parámetros establecidos de ambos métodos. b) Análisis estadístico de los resultados obtenidos. c) Comparación de los resultados obtenidos por ambos métodos utilizados.

## **CAPÍTULO III. METODOLOGÍA**

### **3.1. Metodología**

Para cumplir con los objetivos propuestos se trabajó durante un total de 532 horas, en el transcurso de 20 semanas, a partir del día 5 de julio hasta el 21 de noviembre del año 2021, en el Laboratorio de Manejo del Recurso Hídrico (LAMRHI) y el Grupo de Investigación en Isótopos Estables (UNA-SIL) de la Universidad Nacional Costa Rica. Dentro de las actividades realizadas se encuentran: el muestreo de agua de lluvia, mediciones de propiedades fisicoquímicas de las muestras recolectadas (pH y electro conductividad), preservación y almacenamiento de las muestras y su posterior análisis mediante las técnicas de IC y UV-Vis. En total se recolectaron y analizaron 56 muestras de agua de lluvia. Un resumen de la metodología utilizada durante el periodo de la pasantía se puede observar en la Figura 1.



**Figura 1.** Flujo del proceso utilizado para cuantificar la concentración de  $\text{NO}_3^-$  en muestras de agua de lluvia mediante las técnicas de espectrofotometría UV-Vis e IC.

### 3.2. Muestreo

Las muestras se recolectaron en la azotea del Edificio de Nuevos Procesos Industriales, ubicado en el Campus Omar Dengo de la Universidad Nacional durante la época lluviosa 2021 (julio a noviembre de 2021); la recolección se realizó a las 8 am de la mañana del día siguiente a un evento de precipitación. Se tomó las muestras mediante un colector pasivo marca Palmex, modelo RS-1C (Palmex Ltd., Croacia), que consiste en un embudo de plástico (diámetro 23 cm) acoplado con un filtro de malla para evitar la contaminación. El embudo se conecta a una botella

de polietileno de alta densidad (Figura 2). Las muestras se filtraron usando filtros de disco de teflón de 0.45  $\mu\text{m}$  luego de su recolección, y a la vez, se midió la masa de agua de lluvia recolectada, el pH y la conductividad eléctrica (EC) utilizando un medidor de la marca Milwaukee modelo Mi 180 (Milwaukee, Estados Unidos). El volumen de la muestra se dividió en 2 partes, una para el análisis con el método a implementar y otra para el análisis mediante cromatografía de iones. Seguidamente, se congeló las muestras que se van a analizar mediante el método UV-Vis implementado hasta su análisis; mientras que las muestras para IC se almacenaron a una temperatura menor de 4°C, bajo condiciones de oscuridad.



**Figura 2.** Sistema de muestreo utilizado para la recolección de muestras de agua de lluvia (muestreador ubicado a la derecha con embudo azul).

### **3.3. Método de análisis**

#### **3.3.1. Método implementado para el análisis de ion nitrato**

Para el análisis del ión nitrato mediante espectrofotometría UV-Vis en las muestras recolectadas, se utilizó como base el método “Nitrate, UV Screening Method 10049, DR 5000 and DR 6000”<sup>37</sup>

de la casa comercial HACH, para muestras que contienen concentraciones de nitrato entre (0 y 10) mg/L en una matriz de agua superficial.

Para asegurar la conservación de las muestras, este método recomienda ajustar el pH con ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) concentrado hasta obtener un valor de pH menor a 2. Seguidamente se deben de almacenar las muestras a una temperatura menor de  $6^\circ\text{C}$  por un máximo de 24 horas. Se recomienda que antes de efectuar el análisis, se realice un pretratamiento a las muestras. Para ello, se debe esperar que las muestras alcancen temperatura ambiente. Luego, se vuelve a ajustar el pH a un rango de 3-5 con una disolución de hidróxido de sodio (NaOH) 5 N, se toma un volumen de 50.00 mL con una pipeta volumétrica y se colocan en un beaker de 100 mL, se les adiciona 1.00 mL de una disolución ácido clorhídrico (HCl) 1 N y se agita.

Por último, se mide la absorbancia a cada una de las muestras a una longitud de onda de 220 nm y luego a 275 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis. El valor de la absorbancia medido a 275 nm se utiliza para corregir la absorbancia medida a 220 nm. Para ello, se debe restar dos veces la absorbancia medida a la longitud de onda de 275 nm del valor correspondiente a 220 nm, de acuerdo con lo establecido por el “Standard Method 4500- $\text{NO}_3^-$ : Nitrogen (Nitrate)”.<sup>38</sup> Este valor corregido se utiliza para determinar la concentración de nitrato en las muestras.

#### **3.3.1.1. Cambios realizados al método base**

A partir de la metodología base explicada anteriormente, se decidió hacer una serie de variaciones para adaptar el método a las necesidades del laboratorio.

Primeramente, se eliminó el uso de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  concentrado y el pretratamiento con la disolución 5 N de NaOH requerido por el método base; esto porque se decidió congelar las muestras en lugar de almacenarlas a temperaturas menores a  $6^\circ\text{C}$ , esto elimina el límite de tiempo máximo de 24 horas para realizar el análisis, permitiendo conservar las muestras para su análisis durante de un periodo máximo de 20 días.

Seguidamente se tenía el problema de que los volúmenes de agua recolectada no satisfacen las necesidades requeridas por el método base, esto debido a que el volumen típico recolectado por colector pasivo de agua de lluvia es usualmente menor a 100 mL. Por lo tanto, se decidió evaluar si existía una relación entre el volumen de las muestras y su concentración de  $\text{NO}_3^-$ . Para ello se preparó una serie de disoluciones de concentración conocida con valores aproximados de (2.000,

5.000 y 10.000) ppm de  $\text{NO}_3^-$  y volúmenes finales de (10.00, 25.00 y 50.00) mL. A estas disoluciones se le midió la absorbancia por triplicado a una longitud de onda de 220 nm y luego a 275 nm usando un espectrofotómetro UV-Vis. Al demostrarse que no existe influencia del volumen de muestra sobre la concentración  $\text{NO}_3^-$  se decidió trabajar con el volumen de 10.00 mL para el análisis de las muestras; con ese cambio el volumen de HCl necesario para realizar el análisis también cambió pasando de 1.00 mL a 0.10 mL.

Finalmente se realizaron una serie de análisis para verificar si existe un efecto respecto al cambio de matriz al momento de adaptar el método a las necesidades del laboratorio. Para ello se trabajó con una serie de matrices que consistían en muestras de agua mineral embotellada de marcas comerciales, codificadas como EV y NV, esto debido a su semejanza al agua de lluvia, junto con una muestra de agua superficial, tomada de la cuenca del Rio Pacuare. Se decidió usar dos métodos de calibración, uno por patrón externo y otro mediante adición de estándar. Para la prueba de adición de estándar se trabajó con volúmenes de 10.00 mL de cada una de las diferentes matrices y se les agregó volúmenes conocidos de una disolución de 5.000 ppm de  $\text{NO}_3^-$ . Posteriormente, se midió la absorbancia a la longitud de onda recomendada por el método base y se graficaron los resultados para calcular la concentración de las matrices analizadas. Para el caso del patrón externo, se trabajó en una curva de calibración para  $\text{NO}_3^-$  donde se calculó la concentración de las diferentes matrices por triplicado. Para ello, se preparó la curva de calibración a partir de una disolución madre, preparada en el laboratorio, de 1000 mg/L  $\text{NO}_3^-$ , de la cual se diluyeron 100 mL de la disolución patrón a 1000 mL para obtener una disolución intermedia, utilizando agua desionizada tipo I. Seguidamente, se preparó una curva de calibración en 6 balones aforados de 50 mL a los que se le adicionó disolución intermedia para lograr un rango de (0.100 a 10.000) mg/L, luego se aforó con agua desionizada y se midieron sus absorbancias de la misma manera que a las muestras. La concentración de  $\text{NO}_3^-$  en las muestras se estimó para ambos métodos de calibración mediante regresión lineal y usando la línea de mejor ajuste correspondiente.

### **3.3.2. Preparación de disoluciones**

Debido a los cambios implementados anteriormente, se redujo la cantidad y el volumen de reactivos necesarios para la realizar los análisis; reduciendo la lista a dos disoluciones: una disolución patrón de nitrato de sodio ( $\text{NaNO}_3$ ) y una disolución 1N de HCl. Para la preparación

de estas disoluciones se utilizó el procedimiento descrito en el “Standard Method 4500-NO<sub>3</sub><sup>-</sup>: Nitrogen (Nitrate)”.

Inicialmente, se preparó una disolución madre de 1000 mg/L NO<sub>3</sub><sup>-</sup> a partir de NaNO<sub>3</sub> (marca Sigma-Aldrich, ≥99.0%), el cual se secó en un horno Thermo Scientific Model 658 a 105 °C durante 24 horas. Posteriormente se pesó 0.3427 g de NaNO<sub>3</sub> en una balanza analítica Mettler Toledo MS204S y se adicionaron a un balón aforado de 250 mL, aforando con agua desionizada. Se agregaron 2.00 mL de cloroformo (CHCl<sub>3</sub>), como preservante. De esta disolución madre se preparó una disolución intermedia, para ello se adicionó una alícuota de 5.00 mL de la disolución madre a un balón de 1000 mL y se aforó con agua desionizada.

Finalmente, se preparó una disolución 1N ácido clorhídrico (HCl), para eso se midió 4.20 mL de HCl concentrado (marca J.T. Baker, 37%) y se adicionaron a un balón aforado de 50 mL, se aforó con agua desionizada y se agitó vigorosamente. La disolución preparada se almacenó a una temperatura de 4°C en condiciones de oscuridad.

### **3.4. Cuantificación de nitrato en aguas meteóricas**

Durante el periodo de estudio se analizó la concentración de nitrato en las muestras recolectadas utilizando el método implementado, haciendo uso de un espectrofotómetro de la marca Jasco, modelo V-750, con celdas de cuarzo de 1 cm. Como método de referencia, se utilizó un método basado en cromatografía de iones según el método descrito en “Standard Method 4110: Determination of Anions by Ion Chromatography”<sup>39</sup> utilizando un cromatógrafo marca Thermo Scientific modelo ICS 5000+ con columnas Ion Pac AS18. Ver condiciones experimentales en anexo 2.

### **3.5. Análisis de datos de los resultados obtenidos**

Cuando se realiza la escogencia de un método para el análisis de un compuesto químico, se debe tomar en consideración una serie de factores como: la precisión, la veracidad, la selectividad, el límite de detección y de cuantificación del analito de interés; mediante la utilización de herramientas de análisis estadístico<sup>40</sup>. La escogencia se debe de realizar bajo el principio de “Fitness for purpose”, que consiste en la elección de un método de análisis que se adecue a los requerimientos del laboratorio en el cual se va a utilizar, permitiendo que se trabaje con un adecuado nivel de incertidumbre, sin que esto signifique un costo excesivo en términos económicos<sup>41,42</sup>.

El análisis de datos se realizó usando el lenguaje de programación de R. Se determinaron los parámetros de desempeño del método: linealidad, exactitud, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre. Los primeros dos se utilizaron para determinar la validez del modelo de regresión lineal dentro de los valores de concentración utilizados; los últimos tres parámetros se utilizaron para comparar con los valores obtenidos del método de IC.

Además, se analizó la veracidad a través del sesgo, y la precisión de ambas técnicas; para ello se tomaron los valores obtenidos mediante IC como valores de referencia para comparar los obtenidos por UV-Vis. La selectividad del método implementado se estimó para cada una de las muestras mediante la evaluación de la influencia de las interferencias conocidas para el método base (presencia de materia orgánica que absorbe a 275 nm). En el caso del método de IC, se evaluó su selectividad a través del tiempo de retención promedio de una serie de patrones de nitrato; calculando el tiempo de retención promedio y su ventana de detección.

En el cuadro 2 se muestran los criterios de aceptación para cada una de las variables a estudiar. Se hace uso de dos estudios realizados por Guimarães et al. (2014)<sup>43</sup> y por Tudorache et al. (2017)<sup>44</sup>. En ambos estudios se trabajaron con muestras de agua superficial con concentraciones entre (0 y 5) mg/L; se seleccionaron los resultados de ambos estudios como referencias debido a que el valor típico en agua de lluvia se encuentra dentro de ese rango (0-5) mg/L.

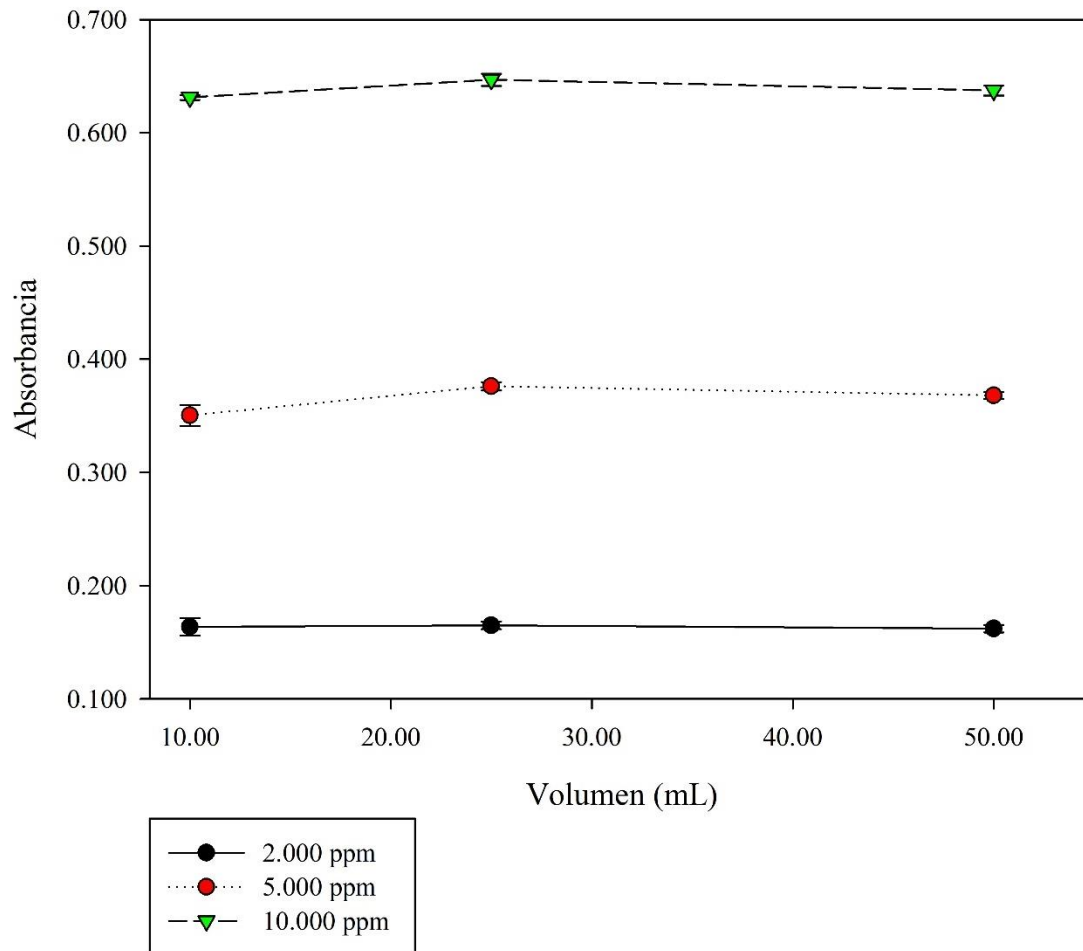
**Cuadro 2.** Criterios de cumplimiento establecidos para los factores de sesgo, precisión, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre para el análisis de muestras de agua de lluvia mediante la técnica UV-Vis.

<b>Parámetro</b>	<b>Guimarães et al. 2014</b>	<b>Tudorache et al. 2017</b>
<b>Sesgo (% error)</b>	-1.20% ± 4.71 %	-1.12% ± 2.07 %
<b>Precisión (% RSD)</b>	4.00 %	1.19 %
<b>Límite de detección (LD)</b>	0.05 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.07 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
<b>Límite de cuantificación (LC)</b>	0.50 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.10 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>
<b>Incertidumbre</b>	0.050 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	0.0125 mg/L NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>

## **CAPÍTULO IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **4.1. Optimización del método de análisis**

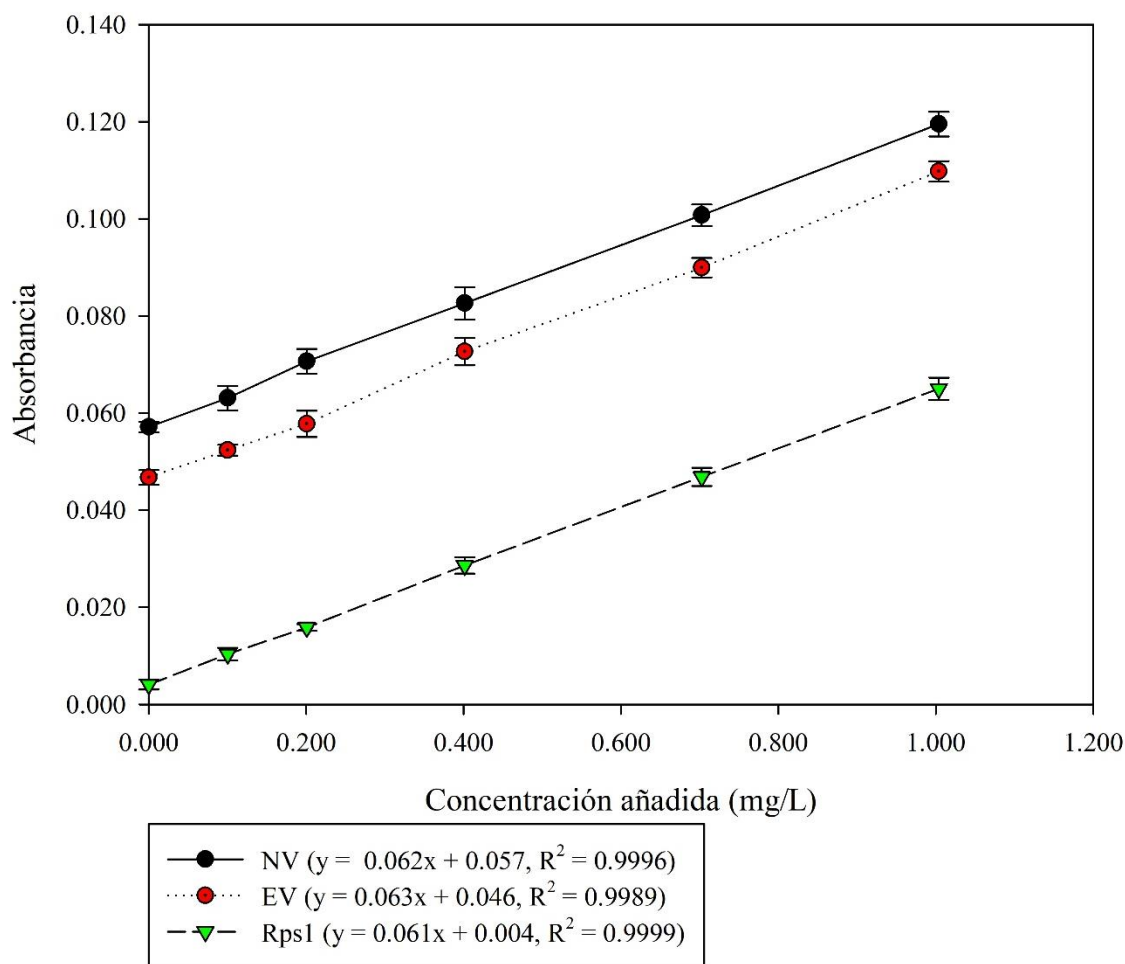
Como primer paso, se evaluó la influencia del volumen de muestra sobre la absorbancia a tres diferentes concentraciones, con valores de (2.000, 5.000 y 10.000) ppm. Las variaciones correspondientes se muestran en la Figura 3. En la misma se observa que los valores de absorbancia, para cada una de las concentraciones utilizadas en el ensayo, presentaron un valor similar y no dependen del volumen de muestra a utilizar. Durante la prueba se decidió utilizar tres volúmenes diferentes, iniciando con 50.00 mL, como valor recomendado por el método, pasando a 25.00 mL y finalmente 10.00 mL. La selección de estos volúmenes se basa en la dificultad de recolectar volúmenes grandes de agua de lluvia, debido a la imprevisibilidad que tienen los eventos de precipitación en términos de cantidad. Luego de analizar esta información, se decidió utilizar el volumen de muestra más pequeño de 10.00 mL, ya que el mismo es un valor razonable para recolectar durante un evento de lluvia.



**Figura 3.** Variación de la absorbancia con respecto a la concentración de ion nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ) presente en tres disoluciones patrón (2.000, 5.000 y 10.000) ppm y al volumen de muestra empleada (10.00, 25.00 y 50.00) mL.

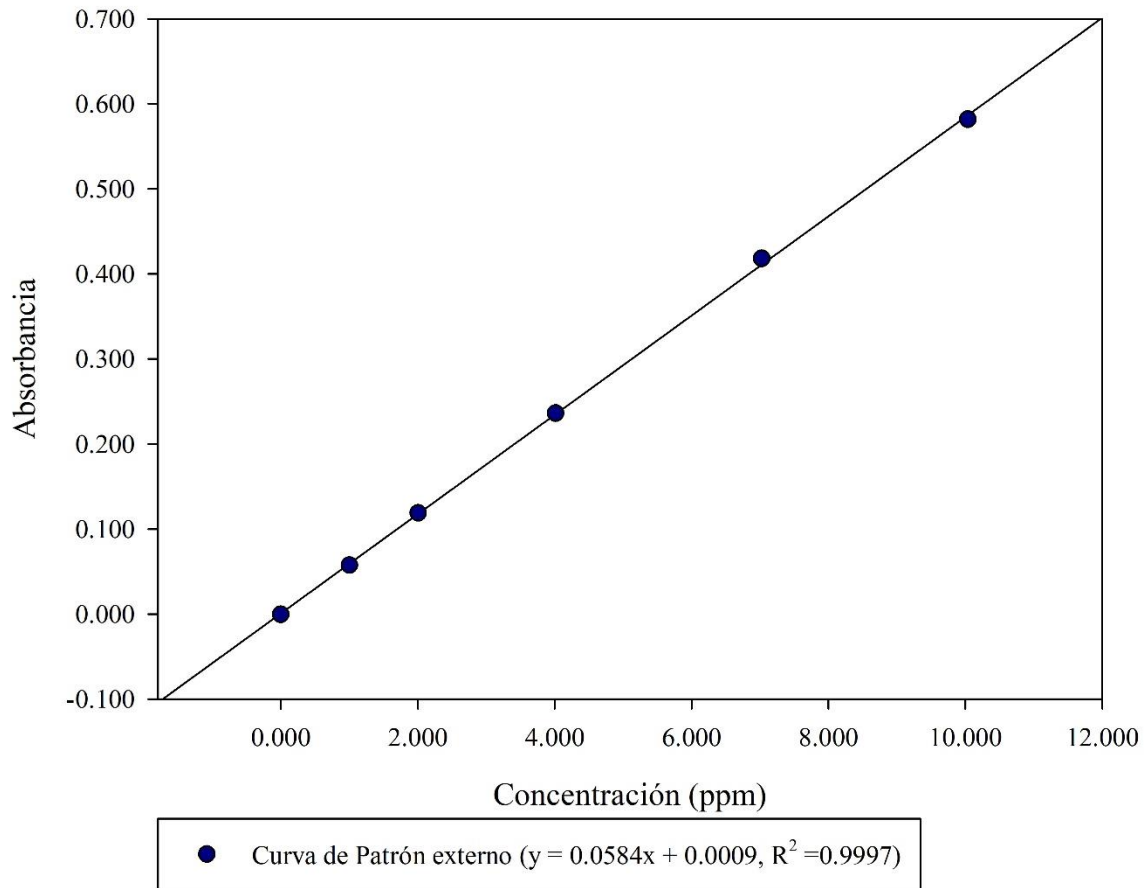
Como siguiente paso, y ya definido el volumen de muestra a analizar, se decidió evaluar la robustez del método mediante el análisis de muestras reales, en este caso, muestras de agua embotellada (agua mineral) en presentación de 750 mL y 500 mL (muestras EV y NV, respectivamente). Estas muestras se seleccionaron debido a que su composición química es similar a la del agua de lluvia. Se trabajó también con una muestra de agua superficial, codificada como Rsp1, recolectada por el LAMRHI de un sistema de agua superficial. A esas muestras de agua mineral y superficial, se les realizó un análisis químico mediante IC y se analizaron mediante UV-Vis usando dos esquemas de calibración, a saber, mediante adición de estándar y patrón externo. Estas pruebas se realizaron por triplicado.

Para el método de adición de estándar los resultados obtenidos luego del análisis de las tres muestras se muestran en la Figura 4. En este caso se muestra la curva de mejor ajuste para cada muestra. Se observa que las dos muestras de agua mineral presentan una pendiente con una tendencia análoga, lo que indica que probablemente tiene un origen similar (agua de manantial). A la vez, tienen una concentración más alta de nitrato con respecto a la curva de la muestra “Rps1”, razón por la cual el intercepto de esta última muestra es menor que los valores correspondientes de las muestras de agua embotellada. Las pendientes de las muestras NV, EV y Rps1 presentan un valor de 0.062, 0.063 y 0.061, respectivamente; siendo estos valores muy similares, por lo que se descarta algún problema debido a un efecto de matriz.



**Figura 4.** Curvas de calibración obtenidas para el método de adición de estándar en dos muestras de agua embotellada (EV y NV) y una muestra de agua superficial (Rps1).

En el caso del método de patrón externo se trabajó de una manera diferente al método de adición de estándar; para este procedimiento, se preparó una curva de calibración a partir de un patrón de  $\text{NO}_3^-$  que se utilizó para comparar la absorbancia de las muestras de agua y de esa forma poder calcular la concentración de estas. En la Figura 5 se muestra la curva calibración utilizada para este procedimiento. La curva de calibración presenta una muy buena linealidad ( $R^2 = 0.9997$ ,  $p < 0.001$ ).



**Figura 5.** Curva de calibración utilizada para cuantificar el ion nitrato en las dos muestras de agua embotellada (EV y NV) y en la muestra de agua superficial (Rps1) mediante el método de patrón externo.

El cuadro 3 muestra los resultados de las concentraciones de las tres muestras utilizando el método de patrón externo (PE), el de adición de estándar (AE) y el método IC. Como se aprecia en el cuadro, las concentraciones obtenidas mediante el método PE y AE son muy similares. Si se utiliza la concentración de nitrato medida por IC, el valor de sesgo calculado para el método UV-

Vis (adición de estándar vs. patrón externo, respectivamente) es 30.01 % y -5.69 % para la muestra EV, 13.83 % y -2.36 % para la muestra NV y -9.69 % y -19.76 % para la muestra Rps1; como se puede observar las diferencias entre el sesgo de los resultados obtenidos mediante PE y AE para las muestras de agua embotellada (EV y NV), se encuentran dentro del rango de valores establecidos en el cuadro 2 por lo que se acepta los resultados como válidos; en el caso de la muestra Rps1, de origen superficial, el valor de sesgo obtenido supera por mucho los valores establecidos como aceptables.

**Cuadro 3.** Resultados obtenidos para las muestras de agua Evian, Nestlé Vera y Rsp1, para los análisis de IC, adición de estándar y patrón externo.

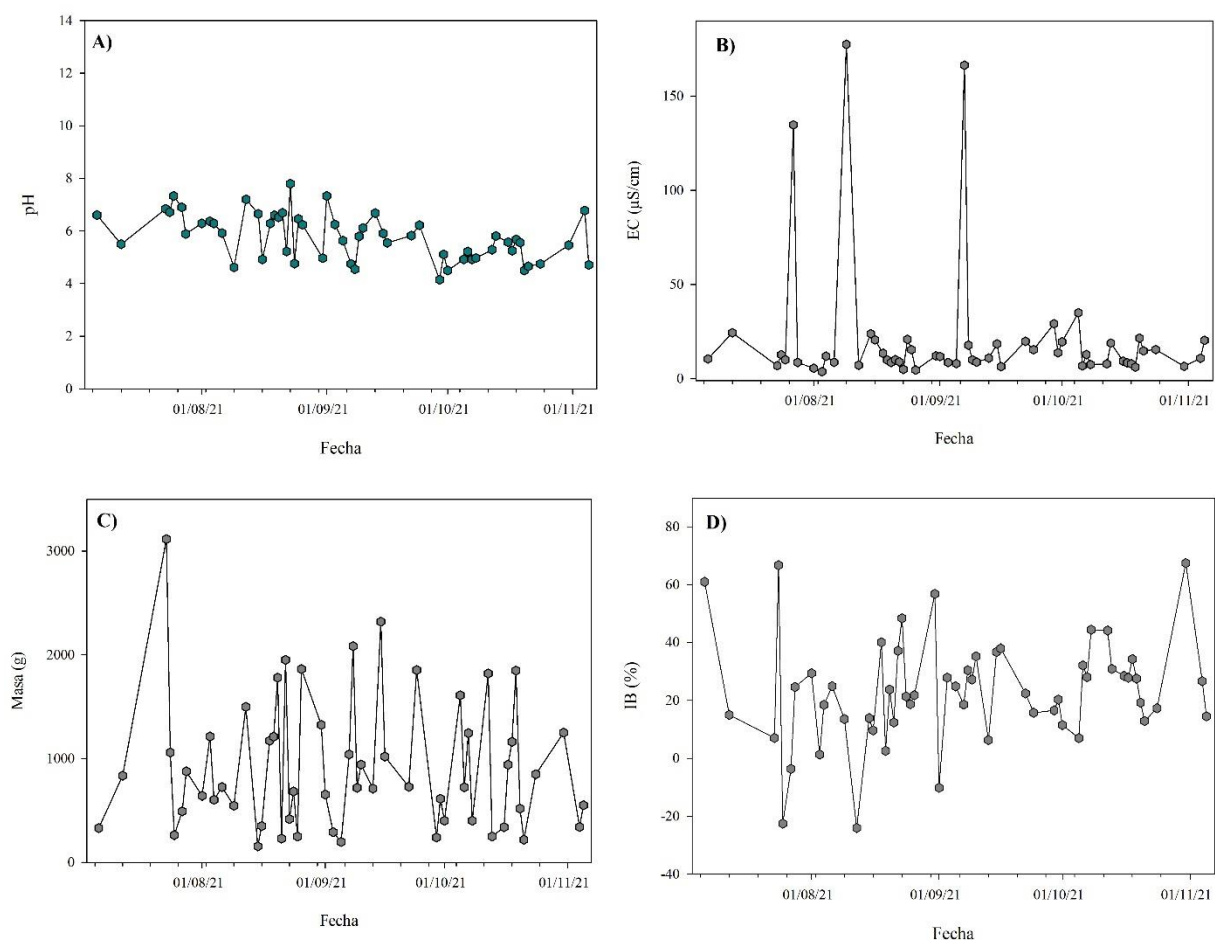
Nombre	Concentración método IC (mg/L)	Concentración patrón externo (mg/L)	Concentración adición de estándar (mg/L)
EV	2.986	3.882 (30.01%)	3.661 (-5.69%)
NV	4.172	4.749 (13.83%)	4.637 (-2.36%)
Rps1	0.454	0.410 (-9.69%)	0.329 (-19.76%)

#### 4.2. Análisis de muestras mediante UV-Vis

Una vez optimizado el método base anteriormente descrito respecto al volumen a utilizar, a la linealidad del método en el rango de análisis (0-10) mg/L y a la no presencia del efecto matriz, se procedió con la recolección y el análisis de las muestras de agua meteórica. En la Figura 6 se resumen las variaciones temporales de los parámetros fisicoquímicos analizados en las muestras recolectadas.

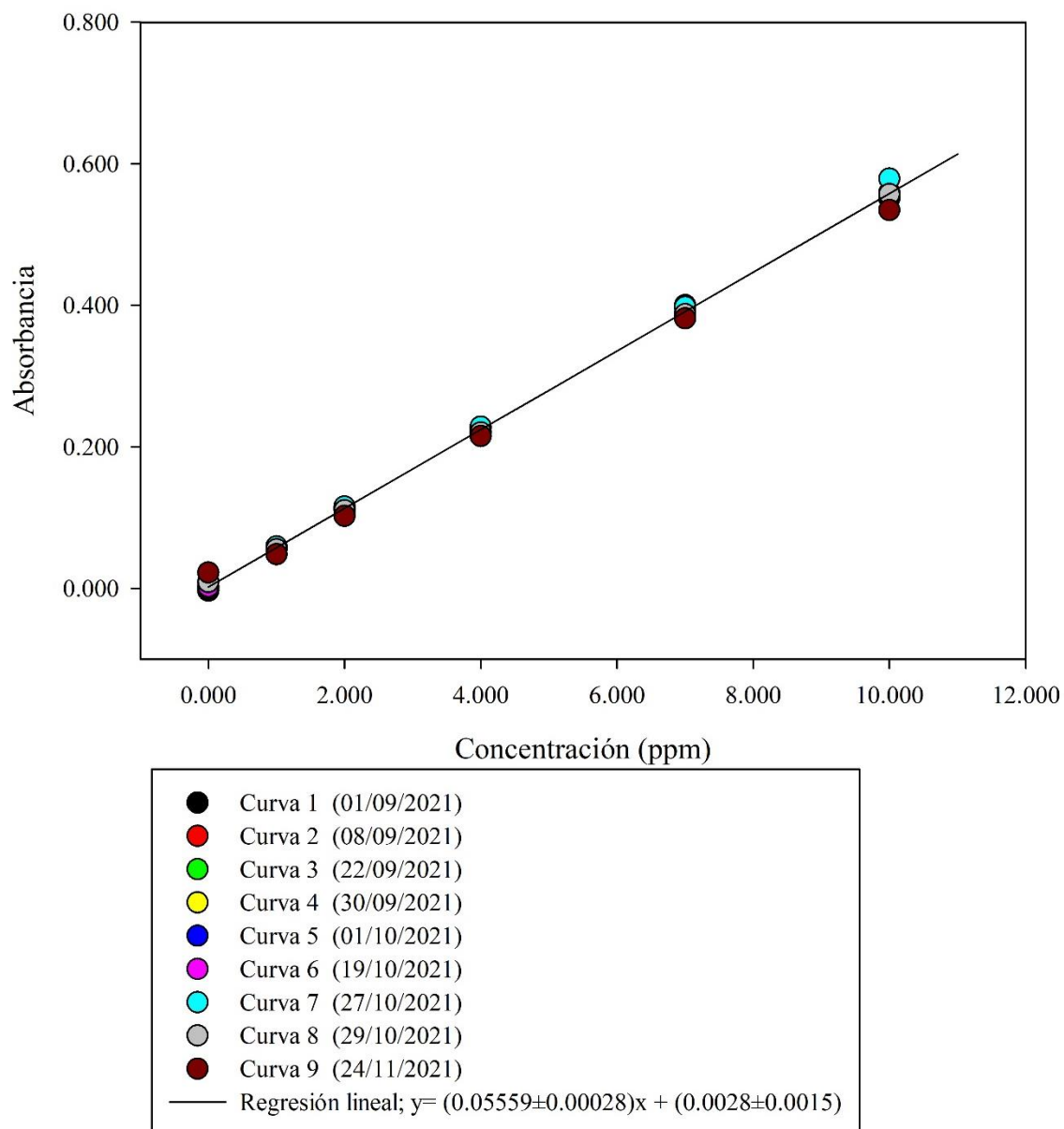
Como se muestra en el panel 6A, el pH de las muestras varió entre 4.00 a 8.00 con un valor promedio de  $5.79 \pm 0.87$ , se espera que el nivel de acidez del agua meteórica pura en equilibrio con el CO<sub>2</sub> atmosférico sea de aproximadamente 5.6<sup>45,46</sup>, sin embargo, existen variables que afectan ese valor como lo son la oxidación atmosférica de los óxidos de nitrógeno (NO<sub>x</sub>), dióxido de azufre (SO<sub>2</sub>) y de otras especies ácidas (ej., ácidos orgánicos)<sup>47</sup>. En el panel 6B se muestra la variación de la conductividad eléctrica. La mayoría de los valores fueron bajos y se encontraban

por debajo de  $40 \mu\text{S}/\text{cm}$ . En el panel 6C se muestra la cantidad de agua recolectada por el muestreador pasivo. Se puede observar que la masa de agua de lluvia presenta una alta variabilidad, sin embargo, el valor promedio fue  $920 \pm 640 \text{ g}$ , lo cual supone que la decisión de optimizar el método para valores menores al recomendado por el método de referencia fue acertada. Finalmente, en el panel 6D se observa la variación del porcentaje de balance iónico (% IB). Los límites aceptables establecidos en el “Manual For The GAW Precipitation Chemistry Programme”<sup>33</sup> de la World Meteorological Organization para muestras con concentraciones iónicas totales  $<50 \mu\text{e L}^{-1}$  es de  $\pm 60\%$ . Aunque las muestras recolectadas presentaban concentraciones mayores a este valor, se observa que, en promedio, el valor de % IB es de  $23 \pm 18 \%$ , lo cual es un valor aceptable aún para concentraciones entre  $100$  y  $500 \mu\text{eq}/\text{L}$ . En general, la mayoría de las muestras tienen un déficit de aniones (%IB  $>1$ ) que puede deberse a la disolución de especies carbonatadas (ej.,  $\text{CaCO}_3$ ), lo cual a la vez se ve reflejado en los valores de pH relativamente altos de algunas muestras.



**Figura 6.** Series de tiempo para A) pH, B) EC ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ), C) masa de agua de lluvia recolectada (g) y D) IB (%).

A continuación, se comprobó la linealidad y robustez del método implementado en los rangos de concentración estimados para las muestras de agua de lluvia. En la Figura 7 se muestran las nueve curvas de calibración utilizadas durante el periodo de la pasantía para cuantificar el nitrato en el agua de lluvia (entre paréntesis se indica la fecha de medición). Como se aprecia en esta figura, se comprobó que la linealidad del método se mantiene en los rangos de concentración deseados, cumpliendo con lo establecido por la Ley de Beer-Lambert ( $R^2_{\text{promedio}} = 0.99949 \pm 0.00073$ ). En general, se observa un comportamiento heterocedástico en el tiempo, a pesar de que no se realizó una comprobación estadística de la misma, ya que los patrones de mayor concentración en la curva de calibración muestran mayor variación que los patrones de menor concentración.

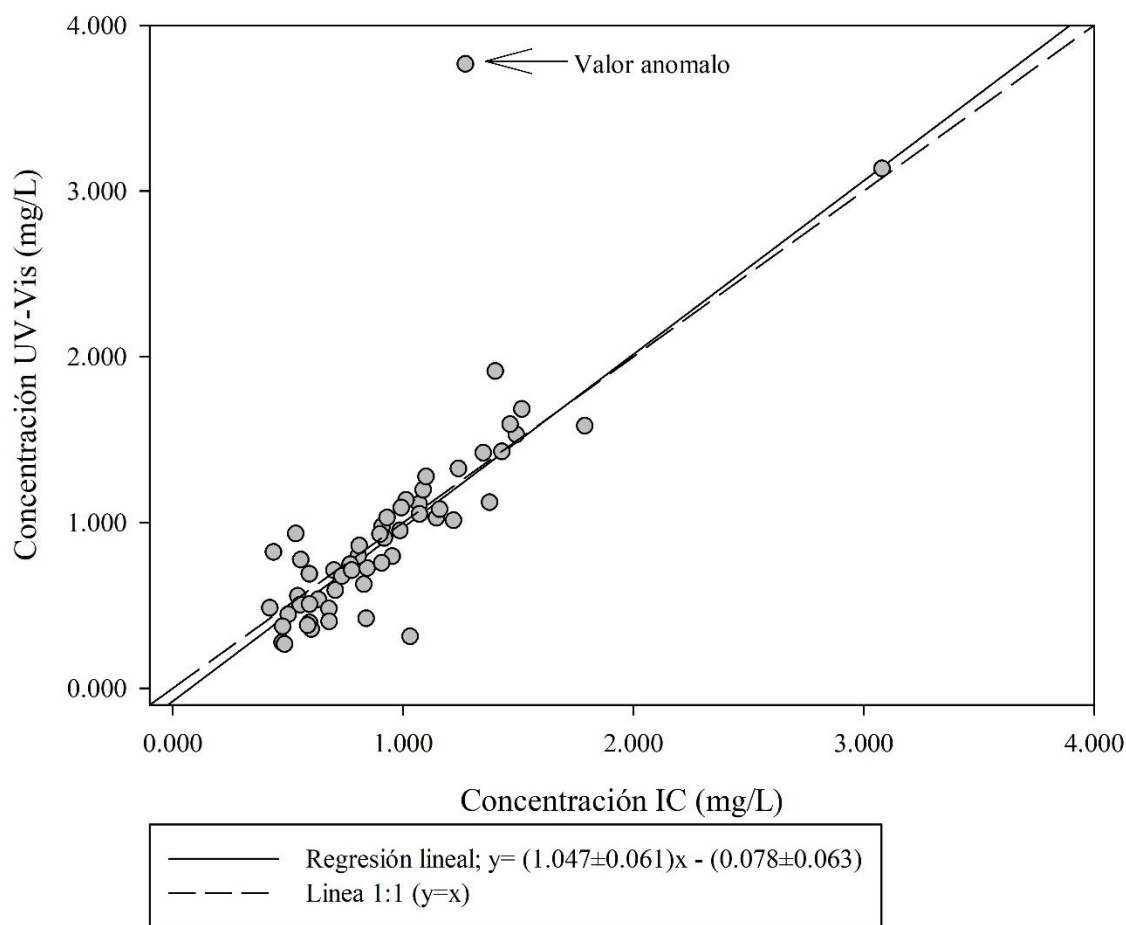


**Figura 7.** Curvas de calibración utilizadas en la cuantificación de ion nitrato mediante el método UV-Vis (septiembre-noviembre 2021, N=9, LD=0.085 mg/L, LC=0.257 mg/L  $R^2_{\text{promedio}} = 0.99949 \pm 0.00073$ ).

#### 4.3. Comparación de resultados de ambos métodos (IC vs UV-Vis)

Una vez analizadas las muestras por el método UV-Vis y por IC, es posible comparar los resultados obtenidos por ambos métodos. Esta comparación se muestra en la Figura 8. Tal y como se observa en esta figura, existe una buena concordancia entre los valores medidos por ambos métodos, Es importante señalar que se decidió descartar un valor anómalo observado en el

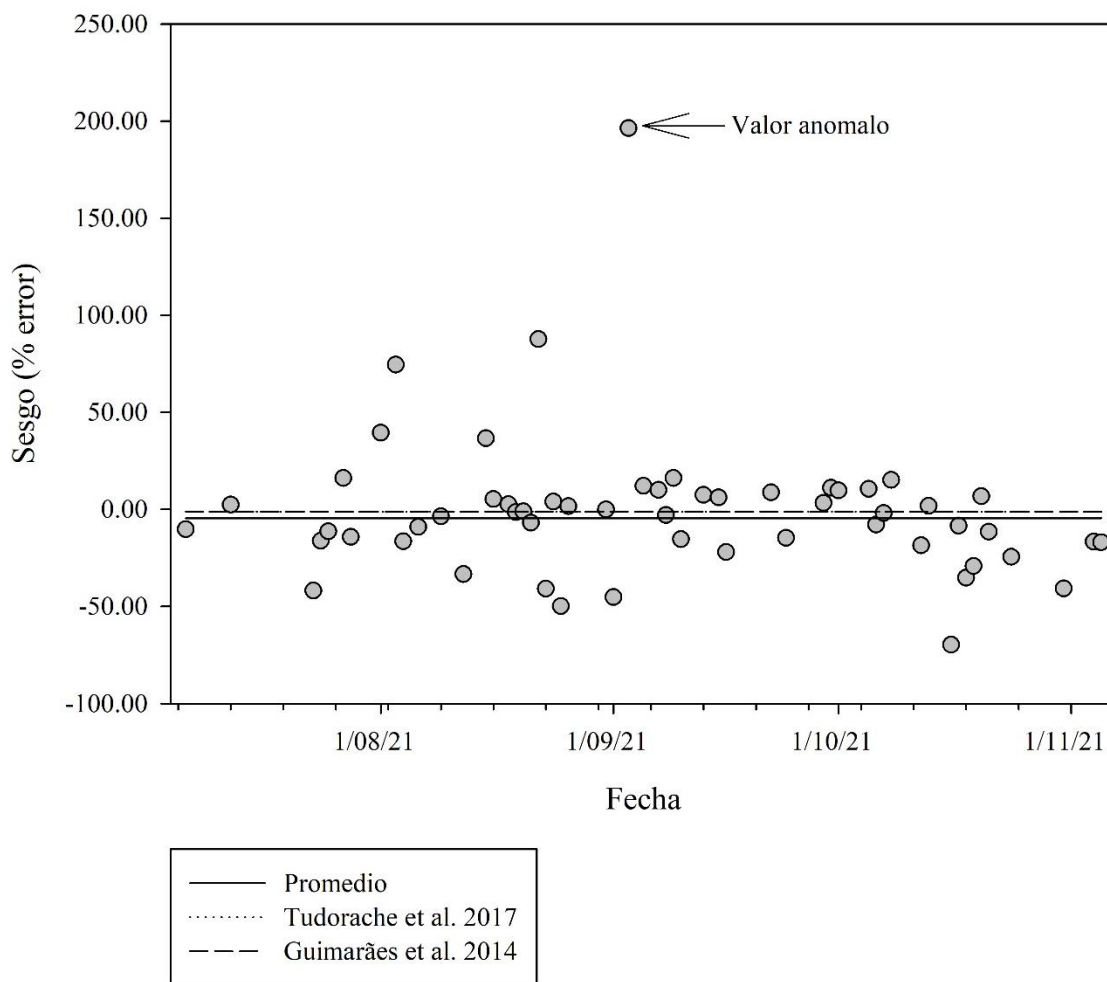
conjunto de datos, mismo que se señala en la Figura 8. Al eliminar ese valor del cálculo de la ecuación de mejor ajuste de la comparación se obtiene que la pendiente de la recta es de  $1.047 \pm 0.061$ , es decir, la pendiente es estadísticamente igual a al valor de “1”; de lo que se puede concluir que los resultados obtenidos de ambos métodos de análisis se pueden considerar equivalentes.



**Figura 8.** Comparación de las concentraciones de  $\text{NO}_3^-$  medidas por los métodos de UV-Vis e IC en 56 muestras de agua de lluvia recolectadas entre septiembre y noviembre 2021. La línea 1:1 se muestra como referencia.

Se comparó también el sesgo calculado a partir de los resultados obtenidos por ambos métodos analíticos, tomando la concentración calculada por IC como el valor aceptado o “verdadero”. La variación temporal del sesgo se reporta como el porcentaje de error entre ambos valores (IC vs. UV-Vis), tomando el valor de IC como verdadero. Estos resultados se muestran en la Figura 9. Los valores de sesgo relativo (% error) variaron entre -69.74 % y 87.67 %, con un valor

promedio igual a  $(-4.54 \pm 3.58) \%$ ; mientras que el valor promedio del sesgo respecto a la concentración del método IC fue de  $(0.034 \pm 0.026) \text{ mg/L}$ , lo que contrasta con el valor calculado de incertidumbre para el método UV-Vis ( $0.075 \text{ mg/L}$  de ion  $\text{NO}_3^-$ ), siendo el valor de sesgo menor a la incertidumbre, lo que supone que el error en la comparación entra dentro de la incertidumbre del método implementado y le brinda veracidad al mismo. Un análisis de ANOVA ( $p < 0.05$ ) indica que no existe diferencias significativas en las concentraciones obtenidas mediante ambos métodos. Como se indicó anteriormente, el valor considerado como anómalo no se incluyó en este contraste de significancia.



**Figura 9.** Variación temporal del sesgo calculado a partir de la diferencia en las concentraciones de ion  $\text{NO}_3^-$  obtenidas de las técnicas de análisis IC y UV-Vis.

Con relación a la selectividad del método, este parámetro se evaluó estimando el efecto que tiene las interferencias medidas a 275 nm sobre la concentración de nitrato medidas a 220 nm. Dado

que el método requiere la medición de la absorbancia a estos dos longitudes de onda, y la posterior corrección de las absorbancia medida a 220 nm usando el valor correspondiente a 275 nm, la relación entre la concentración de nitrato estimada usando la señal a 275 nm (proveniente de las interferencias espectrales) y la concentración estimada a 220 nm (asociada al ion  $\text{NO}_3^-$ ) permite estimar la selectividad del método y a la vez la influencia relativa que tienen otras especies presentes en la matriz de la muestra sobre la concentración del ion de interés. De esta forma, para considerar que el método es selectivo, la relación o cociente entre valores de concentración obtenidos a ambas longitudes de onda deberían de ser lo más pequeños posibles. En su defecto, valores cercanos a 1 o mayores indicaría una baja selectividad del método y un posible error sistemático grande. Como se muestra en la Figura 10, la variación temporal de este cociente indica que los valores fueron menores a 0.5, con un valor máximo de 0.416, un valor mínimo de 0.056. El valor promedio fue de  $0.170 \pm 0.076$ . Según los resultados obtenidos, se puede considerar que el método UV-Vis implementado presenta una buena selectividad debido a que en la mayoría de las muestras analizadas el valor de la relación entre las concentraciones a las dos longitudes de onda indicadas fue menor a 1, y en su mayoría, menor a 0.150.

Es importante señalar que según el “Standard Method 4500- $\text{NO}_3^-$ : Nitrogen (Nitrate)”<sup>38</sup> el método descrito se considera de “screening”, es decir de evaluación y solo asume interferencias debido a la presencia de materia orgánica; para poder utilizar esta metodología el valor de la corrección realizada para cuantificar la concentración de ion  $\text{NO}_3^-$  no debe ser mayor a 10%. Según ese criterio y con los resultados anteriores la gran mayoría de casos el valor de la corrección supero los establecido en el Standard Method. Sin embargo, es relevante indicar que para este trabajo no se encontró estudios que la apliquen al agua de lluvia, por lo que los resultados obtenidos demuestran que el sesgo del método es pequeño y similar a los resultados de estudios realizados (Tudorache et. al (2017)) a muestras de agua superficial, donde se cumple que la corrección no es mayor al 10%, entonces se considera que la metodología se podría aplicar sin problemas a matrices de agua de lluvia.



**Cuadro 4.** Tiempo de retención promedio, desviación estándar y rango de estimados para el ion nitrato usando el cromatógrafo de iones disponible en el LAMRHI.

<b>Tiempo de retención promedio (min)</b>	<b>Desviación estándar (min)</b>	<b>Ventana de tiempo de retención (min)</b>	<b>Rango (min)</b>
15.974	0.122	±0.732	0.354

En el Cuadro 5 se muestra además un resumen de las otras figuras de mérito estimadas para ambos métodos. En el caso de la precisión, se reporta la repetibilidad como el porcentaje de desviación estándar relativa (% RSD). Los límites de detección y de cuantificación se estimaron a partir de las líneas de mejor ajuste utilizadas para la cuantificación de nitrato. Estos resultados indican que el método UV-Vis es menos preciso que el método por IC, sin embargo, el método por UV-Vis puede detectar y cuantificar concentraciones menores de nitrato en agua de lluvia. Con base en la estrategia de calibración empleada, la incertidumbre estimada para la concentración de nitrato calculada por ambos métodos es relativamente similar y va en concordancia con los resultados obtenidos por Guimarães et al. (2014)<sup>43</sup> y por Tudorache et al. (2017)<sup>44</sup> (0.050 mg/L y 0.0125 mg/L, respectivamente), descritos en el cuadro 2.

**Cuadro 5.** Resumen de parámetros calculados para la comparación de los métodos de análisis de UV-Vis e IC.

<b>Parámetro</b>	<b>IC</b>	<b>UV-Vis</b>
Precisión (% RSD)	2.33 %	7.40 %
Límite de detección (LD)	0.115 mg/L	0.085 mg/L
Límite de cuantificación (LC)	0.350 mg/L	0.257 mg/L
Incertidumbre	0.034 mg/L	0.075 mg/L

## CAPÍTULO V. CONCLUSIONES

Se puede concluir que la implementación del método por UV-Vis para el análisis de nitrato en agua de lluvia fue factible. El método propuesto se utilizó como una alternativa al método por IC para el análisis de ion nitrato en muestras reales de agua meteórica. La adaptación del método se realizó tomando en cuenta las necesidades del LAMRHI y UNA-SIL, lográndose desarrollar una metodología aplicable a un volumen de muestra determinado y a la vez ajustando las cantidades y tipos de reactivos químicos usados para la preservación y análisis de las muestras.

Con base en el análisis de datos realizado y la calibración instrumental correspondiente, basado un modelo de regresión lineal, las figuras de mérito estimadas para el método implementado por UV-Vis indican que el método puede ser usado para la cuantificación nitrato en agua de lluvia. En general, la comparación directa de las concentraciones obtenidas por el método UV-Vis y el método por IC, se concluye que ambos métodos son equivalentes, ya que tanto la pendiente como el intercepto de la regresión lineal obtenida al comparar las concentraciones obtenidas por ambos métodos son estadísticamente iguales a 1 y 0, respectivamente ( $p < 0.05$ ).

El método UV-Vis puede considerarse veraz para el análisis de nitrato en agua de lluvia, ya que luego el sesgo promedio con respecto al método por IC fue de  $(0.034 \pm 0.026)$  mg/L. Este valor es menor inclusive que la incertidumbre estimada para el método por UV-Vis. Según el resultado del análisis ANOVA, se encontró que no existe diferencias significativas en las concentraciones obtenidas de ambos métodos. Con respecto a los demás parámetros analizados, se concluye que el método UV-Vis presenta una buena selectividad respecto a las posibles fuentes de interferencias, por ejemplo, la presencia de materia orgánica en las muestras de agua de lluvia. Este método también presenta límites de cuantificación y de detección menores que el método por IC. Sin embargo, el método presenta la desventaja de que la precisión es menor a la calculada para el IC.

Finalmente, se concluye que el método de UV-Vis se puede utilizar como un método de análisis alternativo al método de IC para el análisis de ion  $\text{NO}_3^-$ , ya que es un método selectivo, veraz y equivalente al método de referencia de IC.

## CAPÍTULO VI. REFERENCIAS

- (1) Nikolenko, O.; Jurado, A.; Borges, A. v.; Knöller, K.; Brouyère, S. Isotopic Composition of Nitrogen Species in Groundwater under Agricultural Areas: A Review. *Science of The Total Environment* **2018**, *621*, 1415–1432. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.10.086>.
- (2) Nestler, A.; Berglund, M.; Accoe, F.; Duta, S.; Xue, D.; Boeckx, P.; Taylor, P. Isotopes for Improved Management of Nitrate Pollution in Aqueous Resources: Review of Surface Water Field Studies. *Environmental Science and Pollution Research* **2011**, *18* (4), 519–533. <https://doi.org/10.1007/s11356-010-0422-z>.
- (3) Jin, Z.; Zheng, Q.; Zhu, C.; Wang, Y.; Cen, J.; Li, F. Contribution of Nitrate Sources in Surface Water in Multiple Land Use Areas by Combining Isotopes and a Bayesian Isotope Mixing Model. *Applied Geochemistry* **2018**, *93*, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2018.03.014>.
- (4) Zeng, Y.; Priest, C.; Wang, G.; Wu, G. Restoring the Nitrogen Cycle by Electrochemical Reduction of Nitrate: Progress and Prospects. *Small Methods* **2020**, *4* (12), 2000672. <https://doi.org/10.1002/smt.202000672>.
- (5) Zhang, Y.; Wang, H.; Lei, Q.; Luo, J.; Lindsey, S.; Zhang, J.; Zhai, L.; Wu, S.; Zhang, J.; Liu, X.; Ren, T.; Liu, H. Optimizing the Nitrogen Application Rate for Maize and Wheat Based on Yield and Environment on the Northern China Plain. *Science of The Total Environment* **2018**, *618*, 1173–1183. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.183>.
- (6) Zhao, Z.; Jia, Z.; Guan, Z.; Zheng, F.; Wei, T.; Wang, D. Nitrogen Utilization Characteristics and Their Influence on Groundwater in the Weishan Irrigation Region. *Pol J Environ Stud* **2020**, *29* (6), 4425–4435. <https://doi.org/10.15244/pjoes/119096>.
- (7) Postigo, C.; Ginebreda, A.; Barbieri, M. V.; Barceló, D.; Martín-Alonso, J.; de la Cal, A.; Boleda, M. R.; Otero, N.; Carrey, R.; Solà, V.; Queralt, E.; Isla, E.; Casanovas, A.; Frances, G.; López de Alda, M. Investigative Monitoring of Pesticide and Nitrogen Pollution Sources in a Complex Multi-Stressed Catchment: The Lower Llobregat River Basin Case Study (Barcelona, Spain). *Science of The Total Environment* **2021**, *755*, 142377. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142377>.

- (8) Wu, H.; Dong, Y.; Gao, L.; Song, X.; Liu, F.; Peng, X.; Zhang, G.-L. Identifying Nitrate Sources in Surface Water, Regolith and Groundwater in a Subtropical Red Soil Critical Zone by Using Dual Nitrate Isotopes. *Catena (Amst)* **2021**, *198*, 104994. <https://doi.org/10.1016/j.catena.2020.104994>.
- (9) Lehnert, N.; Dong, H. T.; Harland, J. B.; Hunt, A. P.; White, C. J. Reversing Nitrogen Fixation. *Nat Rev Chem* **2018**, *2* (10), 278–289. <https://doi.org/10.1038/s41570-018-0041-7>.
- (10) Zhang, H.; Yang, Y.; Zou, J.; Wen, Y.; Gao, C. The Sources and Dispersal of Nitrate in Multiple Waters, Constrained by Multiple Isotopes, in the Wudalianchi Region, Northeast China. *Environmental Science and Pollution Research* **2018**, *25* (24), 24348–24361. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2490-4>.
- (11) Chen, Z.; Huang, T.; Huang, X.; Han, X.; Yang, H.; Cai, Z.; Yao, L.; Han, X.; Zhang, M.; Huang, C. Characteristics, Sources and Environmental Implications of Atmospheric Wet Nitrogen and Sulfur Deposition in Yangtze River Delta. *Atmos Environ* **2019**, *219*, 116904. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2019.116904>.
- (12) Kelley, C. J.; Keller, C. K.; Evans, R. D.; Orr, C. H.; Smith, J. L.; Harlow, B. A. Nitrate–Nitrogen and Oxygen Isotope Ratios for Identification of Nitrate Sources and Dominant Nitrogen Cycle Processes in a Tile-Drained Dryland Agricultural Field. *Soil Biol Biochem* **2013**, *57*, 731–738. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2012.10.017>.
- (13) Geng, J.; Li, H.; Chen, D.; Nei, X.; Diao, Y.; Zhang, W.; Pang, J. Atmospheric Nitrogen Deposition and Its Environmental Implications at a Headwater Catchment of Taihu Lake Basin, China. *Atmos Res* **2021**, *256*, 105566. <https://doi.org/10.1016/j.atmosres.2021.105566>.
- (14) Gobierno de Costa Rica; Ministerio de de Salud. *Reglamento para la calidad del Agua Potable No 38924-S*. Sistema Costarricense de Información Jurídica. [http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm\\_texto\\_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=80047](http://www.pgrweb.go.cr/scij/Busqueda/Normativa/Normas/nrm_texto_completo.aspx?nValor1=1&nValor2=80047) (accessed 2022-05-31).

- (15) Coffman, V. R.; Jensen, A. S.; Trabjerg, B. B.; Pedersen, C. B.; Hansen, B.; Sigsgaard, T.; Olsen, J.; Schaumburg, I.; Schullehner, J.; Pedersen, M.; Stayner, L. T. Prenatal Exposure to Nitrate from Drinking Water and Markers of Fetal Growth Restriction: A Population-Based Study of Nearly One Million Danish-Born Children. *Environ Health Perspect* **2021**, *129* (2), 027002. <https://doi.org/10.1289/EHP7331>.
- (16) Qiu, S.; Xi, H.; Qing, S.; Hou, X.; Gao, Z. Simultaneous Determination of Mixtures of Nitrite and Nitrate by Reversed-Phase Ion-Pair Liquid Chromatography. *Journal of the Chinese Chemical Society* **2018**, *65* (2), 212–216. <https://doi.org/10.1002/jccs.201700192>.
- (17) Michalski, R.; Kurzyca, I. Determination of Nitrogen Species (Nitrate, Nitrite and Ammonia Ions) in Environmental Samples by Ion Chromatography. *Pol J Environ Stud* **2006**, *15* (1), 5–18.
- (18) Singh, P.; Singh, M. K.; Beg, Y. R.; Nishad, G. R. A Review on Spectroscopic Methods for Determination of Nitrite and Nitrate in Environmental Samples. *Talanta* **2019**, *191*, 364–381. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2018.08.028>.
- (19) Kuypers, M. M. M.; Marchant, H. K.; Kartal, B. The Microbial Nitrogen-Cycling Network. *Nat Rev Microbiol* **2018**, *16* (5), 263–276. <https://doi.org/10.1038/nrmicro.2018.9>.
- (20) Karl, D. M.; Michaels, A. F. Nitrogen Cycle. In *Encyclopedia of Ocean Sciences*; Elsevier, 2001; pp 1876–1884. <https://doi.org/10.1006/rwos.2001.0275>.
- (21) Burt, T. P. Nitrogen Cycle. In *Encyclopedia of Ecology*; Elsevier, 2013; pp 135–142. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.00944-1>.
- (22) Karl, D. M.; Michaels, A. F. Nitrogen Cycle. In *Encyclopedia of Ocean Sciences*; Elsevier, 2001; pp 1876–1884. <https://doi.org/10.1006/rwos.2001.0275>.
- (23) Schlesinger, W. H.; Bernhardt, E. S. The Global Cycles of Nitrogen, Phosphorus and Potassium. In *Biogeochemistry*; Elsevier, 2020; pp 483–508. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814608-8.00012-8>.

- (24) Iqbal, S.; Xu, J.; Allen, S. D.; Khan, S.; Nadir, S.; Arif, M. S.; Yasmeen, T. Unraveling Consequences of Soil Micro- and Nano-Plastic Pollution on Soil-Plant System: Implications for Nitrogen (N) Cycling and Soil Microbial Activity. *Chemosphere* **2020**, *260*, 127578. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127578>.
- (25) Zhu, Z.; Yang, Y.; Fang, A.; Lou, Y.; Xie, G.; Ren, N.; Xing, D. Quorum Sensing Systems Regulate Heterotrophic Nitrification-Aerobic Denitrification by Changing the Activity of Nitrogen-Cycling Enzymes. *Environmental Science and Ecotechnology* **2020**, *2*, 100026. <https://doi.org/10.1016/j.es.2020.100026>.
- (26) Xiang, Y.; Shao, Z.; Chai, H.; Ji, F.; He, Q. Functional Microorganisms and Enzymes Related Nitrogen Cycle in the Biofilm Performing Simultaneous Nitrification and Denitrification. *Bioresour Technol* **2020**, *314*, 123697. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2020.123697>.
- (27) Jaffe, D. Nitrogen Cycle, Atmospheric. In *Encyclopedia of Physical Science and Technology*; Elsevier, 2003; pp 432–433. <https://doi.org/10.1016/B0-12-227410-5/00922-4>.
- (28) Seinfeld, J. H.; Pandis, S. N.; Noone, K. Atmospheric Chemistry and Physics: From Air Pollution to Climate Change. *Phys Today* **1998**, *51* (10), 88–90. <https://doi.org/10.1063/1.882420>.
- (29) Zhang, Q.; Li, Y.; Wang, M.; Wang, K.; Meng, F.; Liu, L.; Zhao, Y.; Ma, L.; Zhu, Q.; Xu, W.; Zhang, F. Atmospheric Nitrogen Deposition: A Review of Quantification Methods and Its Spatial Pattern Derived from the Global Monitoring Networks. *Ecotoxicol Environ Saf* **2021**, *216*, 112180. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112180>.
- (30) Khan, S.; Ali, J. Chemical Analysis of Air and Water. In *Bioassays*; Elsevier, 2018; p 28. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811861-0.00002-4>.
- (31) *Analytical Chemistry*; Krull, I. S., Ed.; InTech, 2012. <https://doi.org/10.5772/3086>.
- (32) Burtis, C. A.; Brunis, D. E. Chromatography. In *Tietz Fundamentals of Clinical Chemistry and Molecular Diagnostics*; Sawyer, B. G., Ed.; Elsevier Inc.: Texas, 2015; pp 183–201.

- (33) World Meteorological Organization. *GAW 160 Manual For The GAW Precipitation Chemistry Programme*; 2004.
- (34) Worsfold, Paul. J.; Zagatto, Elias. A. G. Spectrophotometry: Overview☆. In *Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*; Elsevier, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.14265-9>.
- (35) Skoog, D.; Holler, J.; Crouch, S. An Introduction to Ultraviolet-Visible Molecular Absorption Spectrometry. In *Principles of Instrumental Analysis*; Cengage Center: USA, 2018; pp 304–319.
- (36) Kafle, B. P. Theory and Instrumentation of Absorption Spectroscopy. In *Chemical Analysis and Material Characterization by Spectrophotometry*; Elsevier, 2020; pp 17–38. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814866-2.00002-6>.
- (37) Hach. *Nitrate, UV Screening*. <https://www.hach.com/asset-get.download-en.jsa?id=7639983741> (accessed 2021-04-14).
- (38) 4500-NO<sub>3</sub>- Nitrogen (Nitrate). In *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*; Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; American Public Health Association, 2018. <https://doi.org/doi:10.2105/SMWW.2882.089>.
- (39) 4110 Determination of Anions by Ion Chromatography. In *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*; Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater; American Public Health Association, 2018. <https://doi.org/doi:10.2105/SMWW.2882.070>.
- (40) Skoog, D.; Holler, J.; Crouch, S. Introduction. In *Principles of Instrumental Analysis*; USA, 2018; pp 16–19.
- (41) Thompson, M.; Fearn, T. What Exactly Is Fitness for Purpose in Analytical Measurement? *Analyst* **1996**, *121* (3), 275. <https://doi.org/10.1039/an9962100275>.
- (42) Fitness for Purpose: The Key Feature in Analytical Proficiency Testing. *Analytical Methods* **2015**, *7* (18), 7404–7405. <https://doi.org/10.1039/C5AY90052B>.

- (43) Guimarães, V.; Durão, H.; Azenha, M. Detailed Validation of a Method for the Determination of Nitrate in Water by UV/Vis Spectroscopy. *J AOAC Int* **2014**. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.12-007>.
- (44) Tudorache, A.; Ioniță, D. E.; Marin, N. M.; Marin, C.; Badea, I. A. In-House Validation of a UV Spectrometric Method for Measurement of Nitrate Concentration in Natural Groundwater Samples. *Accreditation and Quality Assurance* **2017**, *22* (1), 29–35. <https://doi.org/10.1007/s00769-016-1244-6>.
- (45) Oden, S. *Acidification of Air and Precipitation and Its Consequences on the Natural Environment*; Sweden, 1968.
- (46) Liljestrang, H. M. Average Rainwater PH, Concepts of Atmospheric Acidity, and Buffering in Open Systems. *Atmospheric Environment (1967)* **1985**, *19* (3), 487–499. [https://doi.org/10.1016/0004-6981\(85\)90169-6](https://doi.org/10.1016/0004-6981(85)90169-6).
- (47) Valappil, N. K. M.; Viswanathan, P. M.; Hamza, V. Chemical Characteristics of Rainwater in the Tropical Rainforest Region in Northwestern Borneo. *Environmental Science and Pollution Research* **2020**, *27* (29), 36994–37010. <https://doi.org/10.1007/s11356-020-09542-1>.

## CAPÍTULO VII. ANEXOS

**Anexo 1.** Registro de las muestras recolectadas y analizadas por IC y UV-Vis durante el periodo de la pasantía.

Código	Fecha Recolección	Equivalencia IC	pH	EC	Masa (g)	IB (%)	Resultado IC (mg/L)	Incertidumbre IC (mg/L)	Resultado UV-Vis (mg/L)	Incertidumbre UV-Vis (mg/L)
NO3-1	06/07/2021	UNA-263	6.61	10.50	331.4	61.0	1.145	0.035	1.028	0.075
NO3-2	12/07/2021	UNA-265	5.50	24.35	835.8	15.0	0.544	0.036	0.557	0.076
NO3-3	23/07/2021	UNA-266	6.84	6.95	3117.4	7.0	0.475	0.039	0.276	0.076
NO3-4	24/07/2021	UNA-267	6.72	12.7	1060.4	66.7	0.706	0.044	0.592	0.076
NO3-5	25/07/2021	UNA-268	7.33	10.10	264.0	-22.6	0.502	0.042	0.445	0.067
NO3-6	27/07/2021	UNA-269	6.90	134.70	493.2	-3.7	0.594	0.035	0.690	0.076
NO3-7	28/07/2021	UNA-270	5.89	8.60	878.3	24.6	0.844	0.036	0.725	0.076
NO3-8	01/08/2021	UNA-271	6.29	5.56	642.0	29.4	0.556	0.034	0.775	0.076
NO3-9	03/08/2021	UNA-272	6.37	3.75	1213.2	1.3	0.535	0.046	0.933	0.075
NO3-10	04/08/2021	UNA-273	6.29	12.0	602.4	18.5	0.953	0.038	0.796	0.075
NO3-11	06/08/2021	UNA-275	5.92	8.74	727.6	24.9	0.554	0.034	0.504	0.091
NO3-12	09/08/2021	UNA-276	4.62	177.50	546.5	13.5	0.987	0.043	0.951	0.075
NO3-13	12/08/2021	UNA-277	7.20	7.19	1500.1	-24.1	0.594	0.035	0.396	0.076
NO3-14	15/08/2021	UNA-278	6.65	23.87	154.8	13.9	1.401	0.037	1.913	0.075
NO3-15	16/08/2021	UNA-279	4.92	20.60	350.9	9.7	1.349	0.034	1.420	0.075
NO3-16	18/08/2021	UNA-280	6.29	13.6	1173.9	40.1	1.491	0.034	1.530	0.075
NO3-17	19/08/2021	UNA-281	6.60	9.98	1212.2	2.6	0.919	0.092	0.906	0.075
NO3-18	20/08/2021	UNA-282	6.52	8.67	1781.5	23.7	0.806	0.034	0.798	0.075
NO3-19	21/08/2021	UNA-283	6.69	10.1	230	12.4	1.160	0.035	1.080	0.075
NO3-20	22/08/2021	UNA-284	5.22	9.00	1952.2	37.1	0.438	0.312	0.822	0.075
NO3-21	23/08/2021	UNA-285	7.80	4.98	417.3	48.4	0.602	0.041	0.356	0.076
NO3-22	24/08/2021	UNA-286	4.76	20.89	684.1	21.4	1.070	0.037	1.113	0.075
NO3-23	25/08/2021	UNA-287	6.46	15.36	249.8	18.7	0.840	0.034	0.421	0.076
NO3-24	26/08/2021	UNA-288	6.24	4.65	1864.4	21.8	0.700	0.036	0.711	0.076
NO3-25	31/08/2021	UNA-289	4.97	12.14	1326.0	56.8	1.430	0.034	1.428	0.075

Código	Fecha Recolección	Equivalencia IC	pH	EC	Masa (g)	IB (%)	Resultado IC (mg/L)	Incertidumbre IC (mg/L)	Resultado UV-Vis (mg/L)	Incertidumbre UV-Vis (mg/L)
NO3-26	01/09/2021	UNA-290	7.33	11.78	655	-10.2	0.486	0.035	0.266	0.076
NO3-27	03/09/2021	UNA-291	6.25	8.60	292.8	27.9	1.271	0.038	3.766	0.074
NO3-28	05/09/2021	UNA-292	5.63	8.00	197.4	24.9	1.014	0.036	1.136	0.075
NO3-29	07/09/2021	UNA-293	4.75	166.40	1040.9	18.6	1.088	0.034	1.197	0.075
NO3-30	08/09/2021	UNA-294	4.55	17.78	2084.7	30.4	0.770	0.035	0.747	0.076
NO3-31	09/09/2021	UNA-295	5.80	9.97	718.9	27.2	1.100	0.035	1.277	0.075
NO3-32	10/09/2021	UNA-296	6.12	8.82	943.2	35.2	0.633	0.035	0.536	0.076
NO3-33	13/09/2021	UNA-297	6.68	10.96	711.7	6.3	0.910	0.034	0.977	0.075
NO3-34	15/09/2021	UNA-298	5.91	18.44	2320.1	36.7	0.810	0.035	0.860	0.075
NO3-35	16/09/2021	UNA-299	5.55	6.42	1021.7	37.9	0.478	0.040	0.373	0.076
NO3-36	22/09/2021	UNA-300	5.82	19.81	728.8	22.4	1.465	0.034	1.593	0.075
NO3-37	24/09/2021	UNA-302	6.22	15.41	1855.0	15.7	0.595	0.034	0.507	0.076
NO3-38	29/09/2021	UNA-303	4.15	29.21	241.3	16.5	0.900	0.038	0.929	0.075
NO3-39	30/09/2021	UNA-304	5.11	13.78	614.5	20.3	1.516	0.040	1.684	0.075
NO3-40	01/10/2021	UNA-305	4.50	19.60	402.5	11.5	0.993	0.040	1.089	0.075
NO3-41	05/10/2021	UNA-306	4.92	35.00	1612.1	7.0	0.931	0.057	1.029	0.075
NO3-42	06/10/2021	UNA-307	5.22	6.86	724.7	32.1	0.734	0.035	0.676	0.076
NO3-43	07/10/2021	UNA-308	4.92	12.83	1246.0	28.0	1.072	0.045	1.051	0.075
NO3-44	08/10/2021	UNA-309	4.97	7.50	402.3	44.4	0.422	0.034	0.486	0.076
NO3-45	12/10/2021	UNA-310	5.29	7.82	1821.60	44.1	1.376	0.037	1.121	0.075
NO3-46	13/10/2021	UNA-311	5.81	18.92	250.30	30.9	3.080	0.035	3.135	0.074
NO3-47	16/10/2021	UNA-312	5.58	9.28	340.2	28.5	1.031	0.034	0.312	0.076
NO3-48	17/10/2021	UNA-313	5.25	8.45	941.2	27.8	0.778	0.034	0.712	0.076
NO3-49	18/10/2021	UNA-314	5.68	7.92	1163.1	34.3	0.586	0.036	0.380	0.076
NO3-50	19/10/2021	UNA-315	5.56	6.11	1850.5	27.5	0.679	0.034	0.481	0.076
NO3-51	20/10/2021	UNA-316	4.50	21.60	518.6	19.2	1.241	0.038	1.325	0.075
NO3-52	21/10/2021	UNA-317	4.66	14.83	218.4	12.9	1.789	0.074	1.583	0.075
NO3-53	24/10/2021	UNA-318	4.75	15.50	850.4	17.3	0.830	0.040	0.627	0.076

Código	Fecha Recolección	Equivalencia IC	pH	EC	Masa (g)	IB (%)	Resultado IC (mg/L)	Incertidumbre IC (mg/L)	Resultado UV-Vis (mg/L)	Incertidumbre UV-Vis (mg/L)
NO3-54	31/10/2021	UNA-319	5.46	6.59	1250.9	67.5	0.680	0.053	0.402	0.076
NO3-55	04/11/2021	UNA-320	6.78	10.88	342.5	26.7	0.908	0.034	0.756	0.076
NO3-56	05/11/2021	UNA-321	4.71	20.39	551.0	14.5	1.220	0.035	1.012	0.075

**Anexo 2.** Condiciones experimentales para el análisis de ion  $\text{NO}_3^-$  mediante la técnica de IC.

Característica	Observación
Tipo de columna	Ion Pac AS18
Temperatura de columna	35°C
Fase móvil	Agua tipo I
Eluente	KOH 10-23mM
Flujo de bomba	0.250 mL/min
Corriente de supresor	11 mA
Tiempo de corrida	30 min
TR de elución de nitrato	15.974±0.732 min