



Estandarización del método de determinación de fosfatos en aguas de río Katari por espectrofotometría ultravioleta-visible

Rafael J. Tornero Jimenez*, Sulema Nieves Valdez Castro, Rigoberto R. Choque Aspiazu, Osmar V. Tarquino Hurtado

Instituto de Investigaciones Químicas IIQ-Básica & Aplicada, Universidad Mayor de San Andrés, La Paz

Keys: Ultraviolet-visible spectrophotometry, Phosphates, River water, Colorimetry; **Claves:** Espectrofotometría ultravioleta – visible, Fosfatos, agua de río, Colorimetría.

ABSTRACT

Standardization of the method for determining phosphates in Katari river waters by ultraviolet-visible spectrophotometry. This article presents a standardization of the phosphate determination method using ultraviolet-visible spectrophotometry, a key technique for water quality assessment. The measurement of phosphates provides relevant information about the condition and usage of the waters flowing into the river, offering insights into contamination levels and water management practices. The proposed method allows for the detection of phosphate concentrations in the range of 0.5 to 1.5 mg PO₄³⁻/L, thus contributing to more precise and efficient monitoring of aquatic ecosystems.

RESUMEN

Este artículo presenta una estandarización del método de determinación de fosfatos mediante espectrofotometría ultravioleta-visible, técnica clave para la evaluación de la calidad del agua. La medición de los fosfatos permite obtener información relevante sobre el estado y uso de las aguas que desembocan en el río, proporcionando indicios sobre la contaminación y las prácticas de manejo del recurso hídrico. El método propuesto permite detectar concentraciones de fosfato en un rango de 0.5 a 1.5 mg PO₄³⁻/L, contribuyendo así a un monitoreo más preciso y eficiente de los ecosistemas acuáticos.

Revista Boliviana de Química, 2026, 43, 6-13
ISSN 0250-5460, Rev. Bol. Quim. Paper edition
ISSN 2078-3949, Rev. boliv. quim. e-edition, Jan-Jun
30 junio 2026, <https://doi.org/10.53287/pyii9560fa46q>

© 2026 Universidad Mayor de San Andrés,
Facultad de Ciencias Puras y Naturales,
Carrera Ciencias Químicas, Instituto de Investigaciones Químicas
<https://bolivianchemistryjournaliiq.umsa.bo>

¹Received June 4, 2025, accepted May 23, 2026, published June 30, 2026. *Mail to: rafaeltornero@yahoo.com

INTRODUCCIÓN

La determinación de fosfatos en muestras de aguas se realiza para determinar la calidad del agua.

Los fosfatos son sustancias químicas que incorporan en su estructura el ion fosfato (PO_4^{3-}). Su presencia en el agua puede generar efectos relevantes sobre la calidad de este recurso, favoreciendo la proliferación de plantas acuáticas, modificando los ciclos biogeoquímicos y ocasionando riesgos para la salud humana.

La presencia de fósforo disuelto en los cuerpos de agua se origina principalmente por el empleo de fertilizantes, jabones, detergentes o por el arrastre natural del suelo. Con el tiempo, este aporte favorece en aguas continentales el crecimiento excesivo de algas, fenómeno conocido como eutrofización.¹

La floculación resulta esencial en el tratamiento de aguas residuales porque permite remover partículas suspendidas. Sin embargo, la acción de los polifosfatos interfiere en este mecanismo, disminuyendo la eficacia de las plantas de tratamiento y ocasionando que mayores cantidades de fósforo y otros contaminantes permanezcan en el agua procesada.^{1 2}

Los fosfatos se incorporan a los detergentes para reducir la dureza del agua y mejorar la eficacia de la limpieza, ya que favorecen la ruptura de su tensión superficial. Sin embargo, cuando estas aguas residuales llegan a lagos y ríos, los fosfatos actúan como nutrientes que estimulan la proliferación de algas. Estas algas compiten con los peces por el oxígeno disuelto, lo que puede desencadenar episodios de mortandad acuática.³

En las aguas residuales, los niveles de fosfato suelen expresarse como fósforo total o como ortofosfato (ortofósforo). Los ortofosfatos son inmediatamente aprovechables por los organismos, ya que no requieren descomposición previa, lo que los convierte en la forma más relevante de fósforo contaminante. En términos generales, las concentraciones de fósforo total oscilan entre 4 y 15 mg/L en aguas residuales sin tratamiento, mientras que en aguas tratadas se reducen a valores de 0,5 a 5 mg/L.⁴

Se han evaluado diversos métodos descritos en la literatura para determinar la concentración de fosfatos. El procedimiento más común es el denominado “azul de molibdeno”, en el cual se emplea molibdato de amonio como agente complejante y ácido ascórbico como reductor en un medio ácido de ácido sulfúrico. Esta reacción genera una coloración azul característica, cuya máxima absorción se observa a 880 nm.⁵

Existe otro procedimiento para la determinación de fosfatos que consiste en mezclar una solución de molibdato de amonio, metavanadato de amonio y ácido nítrico, dando lugar a la formación de molibdovanadato. Esta solución adquiere una coloración amarilla característica, con un máximo de absorción en el rango de 430–440 nm.⁶

EXPERIMENTAL

Metodología

El método consiste en la formación del complejo fosfo-molibdato, generado por la reacción entre el molibdato de amonio y los ortofosfatos presentes en el agua. Posteriormente, este complejo se reduce mediante sulfato de hidracina en un medio fuertemente ácido de ácido sulfúrico ($\text{pH} \approx 1$). Si la reacción es positiva, la solución adquiere una tonalidad azul cuya intensidad es proporcional a la concentración de fosfato. La absorción característica de los fosfatos se registra en el rango UV-VIS entre 820 y 840 nm.⁷

En términos sencillos: el fosfato es el reactivo limitante, y su presencia se detecta porque la mezcla se vuelve azul; cuanto más intenso el color, mayor la cantidad de fosfato.

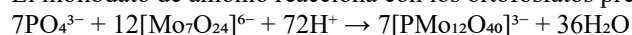
Para mayor claridad, aquí tienes el procedimiento en pasos:

1

Formación del complejo fosfo-molibdato

Reacción inicial

El molibdato de amonio reacciona con los ortofosfatos presentes en el agua.



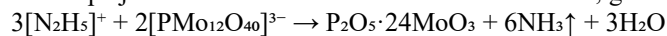
- Preparar solución de molibdato de amonio
- Añadir ortofosfatos presentes en la muestra
- Mantener el medio fuertemente ácido ($\text{pH} \approx 1$)

2

Reducción con sulfato de hidracina

Coloración azul

El complejo fosfo-molibdato se reduce en medio ácido, generando la coloración azul.



- Añadir sulfato de hidracina como agente reductor
- Observar la aparición de la coloración azul
- La intensidad del color es proporcional a la concentración de fosfato

3

Medición espectrofotométrica

Detección UV-VIS

La solución azul se analiza para cuantificar la concentración de fosfatos.

- Medir la absorbancia en el rango 820–840 nm
- Registrar la intensidad del color
- Relacionar absorbancia con concentración de fosfato

El reactivo limitante en esta reacción es el fosfato, el pH de la mezcla es fuertemente ácido alrededor de 1

Equipos

Las mediciones de absorbancia se realizan utilizando un espectrofotómetro UV-VIS portátil de la marca HACH, modelo DR/2400. Este equipo opera en un rango de longitudes de onda comprendido entre 400 y 880 nm.

Preparación de soluciones

Las soluciones preparadas para realizar 20 pruebas incluyen la elaboración de una curva de calibración en el espectrofotómetro UV-VIS.

Para obtener una concentración de 5.9×10^{-3} mol/L de molibdato de amonio $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}$, se pesan 0,4270 g, se disuelven en 10 mL de agua destilada a temperatura ambiente y se aforan a 25 mL.

De manera similar, para preparar una solución de sulfato de hidracina $(\text{N}_2\text{H}_6\text{SO}_4)$ con concentración de 9.6×10^{-3} mol/L, se pesan 0,0312 g, se disuelven en agua destilada y se aforan a 25 mL. Finalmente, se prepara una disolución de ácido sulfúrico (H_2SO_4) añadiendo 6,8 mL de ácido concentrado a 10 mL de agua destilada en un vaso de precipitados. Debido a la reacción exotérmica, la mezcla puede calentarse, por lo que se recomienda esperar de 5 a 10 minutos hasta que regrese a temperatura ambiente. Luego se transfiere a un matraz aforado de 25 mL y se completa con agua destilada, obteniendo una concentración final de 5 mol/L.



Fotografía 1. Espectrofotómetro HACH DR/2400

Curva de calibración

En la construcción de la curva de calibración se emplea fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4) de grado analítico. Para preparar la solución madre, se disuelven 0,0143 g en agua destilada y se afora hasta un volumen de 100 mL.

De esta solución madre se toma una alícuota de 10 mL, que se diluye y se afora nuevamente a 100 mL con agua destilada, obteniéndose una concentración final de 10 mg/L de PO_4^{3-} .

Todas las soluciones preparadas se utilizan en la elaboración de la curva de calibración, siguiendo el detalle correspondiente.

Tabla 1. Preparación de soluciones para la curva de calibración

Patrón	1	2	3	4	5	Blanco
V Sol. fosfato (10 mg PO_4^{3-} /L) (mL)	0.5	0.75	1.0	1.25	1.5	0
V molibdato de amonio (5.9×10^{-3} mol/L) (mL)	1	1	1	1	1	1
V Sol. ácido sulfúrico (5 mol/L)(mL)	1	1	1	1	1	1
V sulfato de hidracina (9.6×10^{-3} mol/L) (mL)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5
V Agua destilada (mL)	7	6.75	6.5	6.25	6	0
V total (mL)	10	10	10	10	10	10

La preparación de la mezcla se realiza siguiendo el orden establecido, asegurando la homogeneización de la muestra mediante agitación cada vez que se incorpora un nuevo componente.

Las soluciones patrón se colocan en tubos de ensayo con tapa para evitar pérdidas por evaporación. Posteriormente, se introducen en un baño maría a 80 °C durante 5 minutos, lo que permite que se desarrollen las reacciones entre el fosfato y la hidracina en medio ácido. El resultado es la aparición de una coloración azul, cuya intensidad —más fuerte o más tenue— depende directamente de la concentración de fosfato presente.

De las soluciones que presentan color azul se registran las absorbancias a una longitud de onda de 830 nm, valor previamente verificado mediante un barrido espectral en el espectrofotómetro UV-VIS para estos reactivos específicos. A continuación, se detallan las absorbancias obtenidas en cada muestra.

Tabla 2. Absorbancias de las soluciones patrón

Patrón	$[\text{PO}_4^{3-}]$ ppm	A	A_{bl}	A_{total}
1	0.50	0.400	0.002	0.398
2	0.75	0.654	0.001	0.653
3	1.00	0.800	0.001	0.799
4	1.25	1.024	0.000	1.024
5	1.50	1.252	0.002	1.250

Grificando los datos obtenidos se pudo construir la curva de calibración:

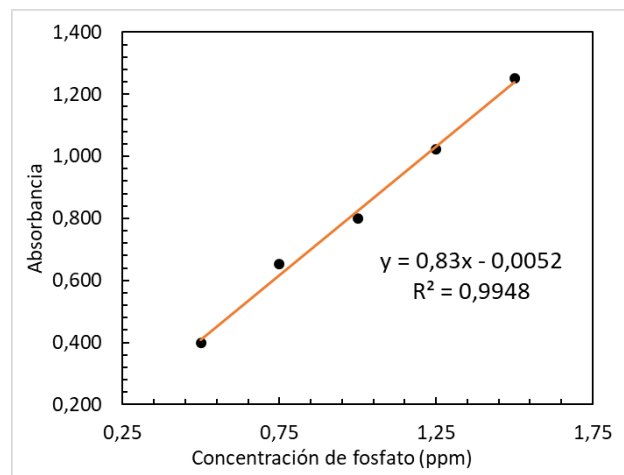


Figura 1. Curva de calibración de fosfatos

Tratamiento de una muestra de agua de río contaminado

Cuando una muestra de agua presenta una turbidez excesiva, la mayor parte de los sólidos disueltos se elimina mediante procesos de centrifugación y filtración, lo que permite obtener una solución más clara y adecuada para el análisis posterior.

A 1 mL de la muestra tratada se añaden, en el orden indicado, las soluciones preparadas en la sección 2.1: primero 1 mL de molibdato de amonio, luego 0,5 mL de sulfato de hidracina, seguido de 1 mL de ácido sulfúrico y finalmente 6,5 mL de agua destilada. La mezcla resultante se coloca en un recipiente cerrado y se somete a un baño maría a 80 °C durante 5 minutos, permitiendo que se desarrolle la reacción y aparezca la coloración azul característica, cuya intensidad depende de la concentración de fosfato

Si la muestra no presenta cambio de color, significa que no contiene fosfatos, lo cual ocurre en muy pocas ocasiones, especialmente tratándose de aguas residuales. En caso de que sí se produzca la coloración azul, se procede a medir la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 830 nm utilizando el espectrofotómetro UV-VIS.

Cuando la muestra presenta cambio de color, se procede a medir la absorbancia de la solución a una longitud de onda de 830 nm utilizando un espectrofotómetro UV-VIS.

Es posible que la concentración de fosfatos en la muestra exceda el rango de la curva de calibración. En ese caso, se recomienda realizar diluciones de 1:2 o 1:3 con agua destilada, de manera que la concentración resultante quede dentro del rango de la curva y pueda ser medida correctamente.

La reacción no debe realizarse con muestras que no hayan sido tratadas previamente según lo indicado. Si se omite este paso, existe una alta probabilidad de que se formen precipitados indeseados que interfieran en el análisis.

Preparación de una mezcla reactiva y estudio de su estabilidad en el tiempo

Se puede preparar una solución reactiva mezclando 11 mL de molibdato de amonio, 5,5 mL de sulfato de hidracina y 11 mL de ácido sulfúrico en un matraz aforado de 100 mL, completando el volumen con agua destilada. Para su aplicación, se toman 9 mL de esta solución y se añade 1 mL de la muestra a analizar. Esta mezcla resulta adecuada para pruebas cualitativas y permite realizar una estimación aproximada de la concentración de fosfato presente en la muestra.

La solución reactiva mantiene su funcionalidad por un período máximo de tres semanas tras su preparación inicial. Con el paso del tiempo, tiende a adquirir una tonalidad amarillenta, por lo que no se recomienda almacenarla más allá del tiempo indicado. De hacerlo, podría producirse una discrepancia entre el color esperado y el observado durante su uso en las pruebas.

Optimización de la temperatura en el desarrollo de color del complejo

Se realizaron ensayos a diferentes temperaturas y tiempos utilizando tres tipos de muestras: agua destilada, agua de grifo y agua de río. El objetivo fue verificar en qué condiciones se desarrollaba mejor la reacción y el cambio de color de incoloro a azul, tal como se resume en la Tabla 3.

Tabla 3. Tiempo de desarrollo del color a distintas temperaturas.

Muestra	16 °C	40 °C	80 °C
Agua destilada	-	-	-
Agua de grifo	15 min	-	-
Agua de río	15 min	3 min	1 min

El desarrollo del color azul fue más rápido a una temperatura de 80 °C, lo cual se observó claramente en la muestra de agua de río. En cambio, en las otras muestras no se produjo la coloración. En el caso del agua de grifo, a temperatura ambiente se detectó un ligero cambio de color, aunque poco apreciable, probablemente debido a la muy baja concentración de fosfatos presente.

Debido a la temperatura de trabajo, y para evitar la evaporación de la muestra líquida, los recipientes deben permanecer cerrados. De este modo se asegura que la concentración no se altere en el momento en que ocurre la reacción.

Precisión

La precisión de un método nos indica la capacidad que tiene éste de dar el mismo resultado en diferentes condiciones.⁸

Para comprobar la precisión del método, se prepararon seis muestras utilizando 1 mL de una solución estándar de fosfato diácido de potasio (KH_2PO_4) con concentración de 1 mg $\text{PO}_4^{3-}/\text{L}$. Cada muestra se hizo reaccionar con molibdato de amonio y sulfato de hidracina en medio de ácido sulfúrico, empleando las mismas cantidades descritas en la sección 2.3. Posteriormente, se colocaron en un baño maría a 80 °C durante 5 minutos para permitir el desarrollo de la reacción y la aparición del color azul característico.

Después se miden las absorbancias (A) de las 6 soluciones con el espectrofotómetro ultravioleta-visible obteniendo así la siguiente tabla:

Tabla 4. Determinación de la precisión del método

Muestra	A	A _{bl}	A _{total}
1	0,672	0,001	0,671
2	0,680	0,000	0,680
3	0,672	0,001	0,671
4	0,685	0,000	0,685
5	0,688	0,001	0,687
6	0,677	0,002	0,675
Promedio			0,678

Realizando un tratamiento estadístico de todas las muestras se obtiene la desviación estándar con la siguiente ecuación:

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (A_i - A_{prom})^2}{n - 1}}$$

Siendo A_i las absorbancias obtenidas y A_{prom} la absorbancia promedio de todas las mediciones realizadas obteniendo un valor de:

$$\sigma = 0,007$$

Luego para conocer el error estándar al 95 % de confianza se utiliza la siguiente ecuación:

$$EE = \frac{1,96 \sigma}{\sqrt{n}}$$

$$EE = \frac{1,96 * 0,007}{\sqrt{6}} = 0,0056$$

De modo que se puede expresar como:

$$A = 0,678 \pm 0,006 \quad \text{al 95\% de confianza}$$

Límite de detección

El límite de detección (LD), es la señal más baja que puede detectar el equipo con respecto a la concentración de un determinado electrolito, que es utilizado como grado suficiente de confianza o significancia estadística.⁹

Se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$LD = 3.3 \times \sigma_{bl}$$

En donde σ_{bl} es la desviación estándar de las mediciones realizadas a los blancos.

Utilizando los datos de la tabla 4 se calculó la desviación estándar de los blancos y luego el LD

$$\sigma_{bl} = 0.00084$$

$$LD = 3.3 \times 0.00084 = 0.0028$$

Límite de cuantificación



El límite de cuantificación (LC) es la cantidad más pequeña o la concentración más baja de una sustancia que es posible medir mediante un procedimiento analítico determinado con la exactitud, precisión e incertidumbre establecidas.¹⁰

Se calcula mediante la siguiente ecuación:

$$LC = 10 \times \sigma_{bl}$$

Usando los datos de la tabla 4 se calculó que el límite de cuantificación es:

$$LC = 10 \times 0.00084 = 0.0084$$

Este valor se puede interpretar con la curva de calibración en concentración de fosfato:

$$LC [PO_4^{-3}] = 0.0017 \text{ ppm}$$

Exactitud

La exactitud depende de los errores sistemáticos que intervienen en la medición, denotando la proximidad de una medida al verdadero valor y, en consecuencia, la validez de la medida.⁸

Linealidad

La linealidad es la capacidad de obtener resultados (dentro de un rango dado) que varían de manera directamente proporcional (lineal) a los cambios en la concentración del analito en la muestra, o mediante una transformación matemática bien definida. Se ha definido como el rango del procedimiento analítico en el cual la señal analítica depende linealmente de la concentración medida del analito.¹⁰

De la curva de calibración (figura 1) se puede obtener un valor de $R^2 = 0.9948$ lo que nos indica un buen ajuste de los datos a una ecuación lineal la cual es:

$$y = 0.83x - 0.0052$$

Other references are:^{11 12 13 14}

RESULTADOS Y DISCUSIONES

- El método funciona para todo tipo de aguas previamente tratadas, es decir la separación de sólidos o coloides
- La calidad de los reactivos son p.a. y responde a normas internacionales
- Los materiales de trabajo, cantidad de muestra y cantidad de reactivos deben ser acordes a los volúmenes pequeños que se utilizan en este método
- Como material de referencia de fosfato, se utiliza una sal de fosfato grado p.a. que incluye todos sus componentes o impurezas en forma porcentual
- Los tiempos de reacción han sido optimizados aplicando diferentes temperaturas sin pérdida de muestra ni reactivos por efectos de evaporación

CONCLUSIONES

El método presentado para la determinación de fosfatos en aguas muestra una alta precisión y robustez, lo que garantiza que los resultados obtenidos sean consistentes incluso bajo condiciones variables. Además, el método exhibe una excelente reproducibilidad, asegurando su fiabilidad en distintas aplicaciones y entornos analíticos.

El método empleado presenta varias ventajas en comparación con otros. Al utilizar una longitud de onda menor para el análisis, ofrece una mayor compatibilidad con una amplia gama de equipos UV-VIS, facilitando su implementación en diferentes laboratorios sin necesidad de dispositivos altamente especializados.

Otra ventaja adicional es que los reactivos son accesibles y no requieren de proveedores especializados, lo que simplifica su obtención y reduce costos.

REFERENCIAS

¹ Seoanez Mariano et al. (1996) Ingeniería del medio Ambiente aplicada al medio natural continental. Ediciones Mundiprensa. Madrid, España. p. 291-292.

² Metcalf & Eddy, Inc., George Tchobanoglous, H. David Stensel, Ryujiro Tsuchihashi, and Franklin L. Burton. "Wastewater Engineering: Treatment and Resource Recovery." 5th Edition. McGraw-Hill Education, 2014.



-
- ³ Quevedo C. M. G., Paganini W. S., Phosphorus delivered to surface waters resulting from the use of powder detergents: environmental and public health aspects, *Ciência & Saúde Coletiva*, 2018, **23**, 3891-3902. DOI: [10.1590/1413-812320182311.27062016](https://doi.org/10.1590/1413-812320182311.27062016)
- ⁴ Tommy Bulter. Sewage & Wastewater treatment. Butler Manufacturing Services. Education blog. <https://butlerms.com/>
- ⁵ GLOSOLAN. (2021). SOP for Soil Available Phosphorus (Bray method). Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO). Recuperado de <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/1e4693b1-9ee2-4e29-91d9-e2f310a8c384/content>. Consultado en 25-sep-2024
- ⁶ Ueda, I., & Wada, T., Determination of inorganic phosphate by the molybdovanadate method in the presence of ATP and some interfering organic bases, *Analytical Biochemistry*, 1970, **37**, 169-174. [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(70\)90273-3](https://doi.org/10.1016/0003-2697(70)90273-3)
- ⁷ Ganesh S., Khan, F., Ahmed, M.K., Velavendan, P., Pandey, N.K., Kamachi Mudali, U., (2012). Spectrophotometric determination of trace amounts of phosphate in water and soil, *Water Science & Technology*, (2012) DOI: [10.2166/wst.2012.468](https://doi.org/10.2166/wst.2012.468)
- ⁸ Mongay Fernández, Carlos (2011). Bryan Lopez, ed. Quimiometría (Universidad de Valencia. Servicio de Publicaciones edición). 1. p. 27.
- ⁹ IUPAC, .(1997). Compendium of Chemical Terminology. 2nd. Ed. ("The Gold Book") doi:10.1351/goldbook.L03540
- ¹⁰ Konieczka, P. .(2012). Comprehensive Sampling and Sample Preparation. Volume 2. Gdansk University of Technology, Gdansk, Poland. doi:10.1016/B978-0-12-381373-2.10064-X
- ¹¹ G. Tchobanoglous, Franklin L. Burton H. David Stensel, 'Wastewater Engineering, treatment and reuse'. Metcalf & Eddy, McGraw Hill, San Francisco, 2003.
- ¹² Gray N.F., 'Water Technology'. 2nd Ed, CRC Press, London, 2005. <https://doi.org/10.1201/b12844>
- ¹³ Masotti L. 'Depurazione delle acque: tecniche ed impianti per il trattamento delle acque di rifiuto', Calderini Editore, Italia, 2011.
- ¹⁴ Choque J. G. (2022). Criterios sobre verificación y validación de métodos. Instituto Boliviano de Metrología. DTA-CRI-016. Version 3. 12 de septiembre de 2022.