

3164UY

Determinación de Cromo en su estado de oxidación VI, soluble en: aguas, aguas residuales y otras matrices ambientales digeridas



Método espectrofotométrico

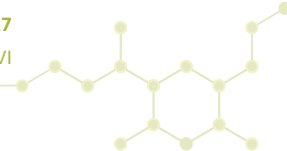
Elaborado - R. Huertas

Modificado - V. Muñoz

Revisado - A. Mangarelli, Jefe Sección Instrumental

Aprobado - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental





1. APLICACIÓN

- 1.1. Esta normativa técnica se usa para determinar cromo (Cr) en su estado de oxidación VI, soluble en: aguas, aguas residuales y otras matrices ambientales digeridas, a partir de 0,004 mg/L con celda de 5 cm (límite de cuantificación). Es posible determinar mayores concentraciones por dilución de la muestra. El límite de detección es de 0,0008 mg/L. También es aplicable a aguas salinas o salobres.

2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos– Laboratorio Ambiental DINAMA
- 2.5. Procedimiento: “Determinación de pH en aguas naturales y efluentes líquidos.” (1017UY)
- 2.6. Procedimiento: “Calculo de concentración de los distintos metales en muestras donde se constató, mediante el procedimiento correspondiente, la existencia de efecto matriz.” (3276UY)
- 2.7. Instructivos de uso de balanzas (INE 06, INE 07)
- 2.8. Instructivos de uso de Espectrofotómetro (INE 39, INE 40 e INE 99)
- 2.9. Instructivos de uso de analizador de iones (INE 98)
- 2.10. Instructivos de uso de bomba de vacío (INE 02)
- 2.11. Instructivos de uso del destilador para la preparación de agua destilada (INE 36)
- 2.12. Instructivos de uso del desionizador para la preparación de agua desionizada (INE 28)
- 2.13. Rutas de análisis (RIN 14, RIN 15 y RIN 17)

3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. El Cr VI en medio ácido ($\text{pH } 2,0 \pm 0,5$) forma un complejo desconocido de color rojo violáceo con difenilcarbazida. La intensidad es determinable en un espectrofotómetro a 540 nm aproximadamente. El contenido de cromo VI se determina mediante una curva de calibración. En muestras de aguas naturales y aguas residuales se determina Cr VI soluble luego de ser filtradas por 0,45 μm .

4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Usar túnica, guantes resistentes a ácidos y lentes de seguridad.
- 4.2. El agregado de ácidos concentrados realizarlo bajo campana de extracción de gases.
- 4.3. El lavado de material con ácido realizarlo con guantes de plástico resistente a ácidos.

5. INTERFERENCIAS

- 5.1. Turbidez remanente a la filtración o color es un obstáculo que se elimina midiendo la muestra previo al desarrollo de color y descontando su absorbancia de la absorbancia de la muestra o usándola como cero en la celda de referencia.
- 5.2. Alto contenido de molibdeno (Mo) o mercurio (Hg) (en más de 200 mg/L) y V (en más de 10 veces el contenido de cromo) pueden interferir. Estas concentraciones no son usuales en muestras ambientales, por lo que no serán consideradas en el presente procedimiento.

6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar en frasco de plástico (polietileno o equivalente) lavado por inmersión en una solución de ácido nítrico: ácido clorhídrico: agua (HNO_3 : HCl : H_2O) en proporciones 1:2:9, al menos durante 12 horas, o bolsa de polietileno hermética descartable para muestras líquidas. Dejar cámara de aire de 20 mL. La muestra típica es de 500 mL, o una alícuota de muestra para metales tóxicos sin acidificar. En caso de no analizar antes de las 24 horas, proceder a filtrar según 11.1 y ajustar el pH entre 9,3 y 9,7 adicionando 1 mL de solución buffer (8.12) más 600 μL de 5 N de NaOH cada 100 mL de muestra. Si es necesario agregar más soda 5 N o 1 N para llevar la muestra al rango del pH. Nunca usar un volumen de preservante mayor al 10 % del volumen de la muestra. Almacenar las muestras a una temperatura $\leq 6^\circ\text{C}$ ($> 0^\circ\text{C}$) y analizarlas dentro de los 28 días.

7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

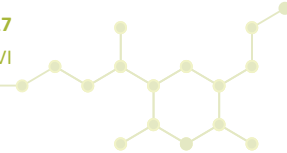
- 7.1. Espectrofotómetro UV-Vis Shimadzu 160-A (INE 39 e INE 40) o espectrofotómetro UV-3100 J.P Selecta (INE 99).
- 7.2. Cubetas de vidrio o cuarzo de 1 cm y 5 cm de camino óptico.
- 7.3. Analizador de iones (Thermo Scientific Orion StarVersa o similar) (INE 98)
- 7.4. Electrodo ión selectivo de hidrógeno Ross combinado (Orión 8102BN), con su solución de relleno y buffers de calibración.
- 7.5. Balanza de resolución de 0,001 g (INE 06 ó INE 07).
- 7.6. Micropipetas automáticas de volumen variable (entre 10 µL y 1000 µL).
- 7.7. Tubos de plástico con tapa, descartables, de 10 mL y 50 mL de capacidad.
- 7.8. Micropipetas de volumen variable de 10 a 1000 µL.
- 7.9. Jeringas de plástico descartables y filtros de nylon, acetato de celulosa o fibra de vidrio de 0,45 µm de tamaño de poro adaptables a jeringas. Alternativamente usar un equipo de filtración con filtros del mismo tamaño de poro y tipo de material, pero de 47 mm de diámetro y bomba de vacío (INE 02).
- 7.10. Erlenmeyers de 50 - 125 mL de capacidad.
- 7.11. Frasco de vidrio color ámbar.

8. REACTIVOS

- 8.1. Agua destilada (grado 3, según ISO 3696 en su versión vigente)
- 8.2. Agua desionizada (grado 2, según ISO 3696 en su versión vigente)
- 8.3. Solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4 Nro. CAS 7664-93-9): preparar una solución de concentración aprox. 0,2 N a partir de ácido sulfúrico concentrado al 95-98 %, Merck SX1244 o equivalente por dilución con agua.
- 8.4. Solución de dilución: acidificar agua con solución de ácido sulfúrico hasta pH $2,0 \pm 0,5$ siguiendo los pasos indicados en el INE del analizador correspondiente.
- 8.5. Solución estándar de 1000 mg/L de cromo VI: disolver 0,1414 g de dicromato de potasio ($K_2Cr_2O_7$, Nro. CAS 7778-50-9 PA) previamente secado en agua y diluir a 50 g en tubo de plástico con agua. Determinar la densidad pesando lo que descarga una pipeta calibrada. Es estable por 1 año.
- 8.6. Solución intermedia: preparar por peso un estándar intermedio de cromo VI (de aproximadamente 10 mg/L), en tubo de plástico, a partir de la solución estándar de 1000 mg/L diluyendo con solución de dilución. Medir la densidad pesando lo que descarga una pipeta calibrada. Vigencia de éste estándar 60 días.
- 8.7. Estándar de chequeo de exactitud (de origen totalmente independiente del 8.5): estándar de concentración y densidad conocida de origen comercial o preparado como en 8.5 a partir de otro lote de dicromato de potasio. Vigencia de éste estándar 6 meses.
- 8.8. Ácido fosfórico (H_3PO_4 Nro. CAS 7664-38-2): ácido fosfórico concentrado, 85 % Baker 0260-01 o equivalente.
- 8.9. Solución de difenilcarbazida: disolver unos 250 mg de 1,5 difenilcarbazida (PA Sigma D-7766 Nro. CAS 140-22-7 o equivalente) en 50 mL de acetona. Almacenar en frasco de vidrio color ámbar, descartar cuando se modifique su color, cuando cambia a amarillo-marrón.
- 8.10. Solución de hidróxido de sodio (NaOH Nro. CAS 1310-73-2) 1 M: pesar 40 g de NaOH PA y diluir en 1 L de agua 8.2.
- 8.11. Solución de hidróxido de sodio (NaOH) 5 M: pesar 200 g de NaOH PA y diluir en 1 L de agua 8.2.
- 8.12. Buffer: disolver 33 g de sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$ Nro. CAS 7783-20-2) en 75 mL de H₂O desionizada, agregar 6,5 mL de hidróxido de amonio y llevar a 100 con agua. Preparar en pequeños volúmenes.

Nota 1: En el resto del presente documento se hará referencia a estos reactivos por su numeral o por el nombre que aparece subrayado

Nota 2: Salvo que se especifique, se debe emplear reactivos para análisis (PA), que son aquellos cuyo contenido en impurezas no rebasa el número mínimo de sustancias determinables por el método que se utilice.



9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. Todo el material de plástico y vidrio utilizado, luego de lavado, deberá enjuagarse por inmersión en una solución de ácido nítrico: ácido clorhídrico: agua (HNO_3 : HCl : H_2O) en proporciones 1:2:9, al menos durante 12 horas. Este material se mantiene identificado para tal fin.
- 9.2. Manejar las muestras, previo a la digestión en el laboratorio de tratamiento de muestras para metales. Mantener los recipientes de digestión siempre con tapa dentro de la sala de instrumentos, solo abrirlas durante la medida.
- 9.3. Mantener especial cuidado con la contaminación de muestras, reactivos, o material dentro del laboratorio. En la determinación de pH, enjuagar exhaustivamente el electrodo entre muestras.
- 9.4. Tener presente los tiempos de vigencia de estándares.

10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. Preparar como mínimo cuatro soluciones estándar de cromo VI, entre ellos un cero, en tubos de plástico, a partir de 8.5 u 8.6 diluyendo con solución de dilución. Volumen final de cada solución 10 mL. Registrar toma del estándar utilizado y volumen final. Vigencia de estos estándares 1 día.
- 10.2. Agregar 0,2 mL de solución de difenilcarbazida, homogeneizar. Registrar en el RIN 14. Si se van a utilizar celdas de mayor volumen tomar un volumen mayor manteniendo la relación de difenilcarbazida /muestra. Esperar al menos 10 min para el total desarrollo del color previo a la medida.

Para la medida en el espectrofotómetro

- 10.3. Prender el instrumento siguiendo las instrucciones del uso del espectrofotómetro en el modo espectro según el que corresponda.
- 10.4. Determinar el pico de máxima absorbancia (aprox. 540 nm) para un estándar de concentración intermedia usando como cero de absorbancia el agua de dilución.
- 10.5. Pasar el equipo al modo de medida con la longitud de onda determinada en el punto 10.4.

11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

Desarrollo de color (registrar en el RIN 14)

- 11.1. En muestras de aguas naturales, aguas residuales se determina Cr VI soluble, por lo que primeramente deben filtrarse por 0,45 μm . Otras matrices ambientales (residuos sólidos, suelos) digeridas ya están filtradas por el mismo tratamiento.
- 11.2. Calibrar el analizador de iones respecto a pH según el instructivo correspondiente.
- 11.3. Realizar una toma de la muestra de aproximadamente 50 g, en peso, en un Erlenmeyer. En el caso de soluciones de digestión medir la densidad pesando lo que descarga una pipeta calibrada. Agregar 0,25 mL (unas 5 gotas) de ácido fosfórico, acidificar la muestra con solución de ácido sulfúrico a $\text{pH } 2,0 \pm 0,5$. Luego del ajuste de pH volver a pesar la muestra.
- 11.4. Proseguir como 10.2 y 10.5. Manteniendo la proporción de difenilcarbazida/muestra.
- 11.5. Si la medida de la muestra excede el valor más alto de la curva, realizar nuevamente el desarrollo de color con menor muestra y solución de dilución. Si se trata de una muestra digerida, medir la densidad de la muestra diluida pesando lo que descarga una pipeta calibrada.
- 11.6. Para verificar efecto de la matriz como se indica en 13.2, adicionarle uno de los estándares 8.5, 8.6, o 8.7, aproximadamente en el rango medio de la escala de medida. El estándar usado debe ser suficientemente concentrado para no diluir la matriz. Verificar esto en muestras digeridas, en efluentes y en otras muestras dudosas (por ejemplo aquellas que desarrollan un color diferente al rojo violáceo. Para estas muestras, además se sugiere ver el espectro como se indica en 10.4 pero usando muestra en vez de estándar para ver si el perfil del espectro indica probable interferencia en la longitud de onda de medida). Si existe efecto matriz, preparar una curva de calibración como se indica en 10.1 pero usando la muestra acidificada según 11.2 en vez de solución de dilución (tener en cuenta para la preparación, el punto 11 del procedimiento 3276UY Determinación por adiciones estándares).
- 11.7. Al finalizar todas las lecturas medir nuevamente un estándar.

12. ANÁLISIS DE DATOS

12.1. Calcular la concentración de cromo de cada solución estándar mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Concentración } C \text{ (mg Cr VI/L)} = C_s \times T_s / M_T \times d_{\text{EST}} / d_s$$

donde:

C_s : es la concentración de cromo VI en mg/L, del estándar utilizado

T_s : es la toma en g del estándar utilizado

M_T : es la masa total, en g, del estándar utilizado, más la solución de dilución más la solución de difenilcarbazida.

d_{EST} : es la densidad de cada solución estándar de la curva.

d_s : es la densidad del estándar utilizado para la preparación de la curva de calibración.

12.2. Si la absorbancia de la muestra no diluida, es menor al menor punto de la escala informar como menor que el límite de cuantificación, si se requiere un límite menor usar celdas de mayor paso óptico y preparar estándares de menor concentración.

12.3. Se determina la concentración de cromo en la muestra y blanco (CM y CB) o en una dilución de los mismos interpolando en la curva de calibración preparada con los estándares usando un procesador de datos comercial (Excel o equivalente).

12.4. Graficar Absorbancia en función de la concentración. Los valores obtenidos ajustan a una recta:

$$\text{Abs} = a \times \text{Conc Cr VI (mg/L)} + b$$

donde:

a y b: los coeficientes de la curva

12.5. Se determina la concentración de cromo VI en la muestra siguiendo las siguientes ecuaciones:

$$C_{M'} \text{ mg/L} = (\text{Abs mtra} - b) / a$$

12.5.1. Para muestras líquidas:

$$\text{Cromo VI, mg/L} = C_M \times \text{FD}_M$$

donde:

C_M : corresponde a la concentración de Cr VI calculada a partir de la curva de calibración, medida en la muestra, diluida o no según corresponda en mg/L.

FD_M : corresponde al factor de dilución de la muestra peso/peso, en g/g. Este valor viene de la dilución de la muestra con el reactivo de color.

12.5.2. Para muestras sólidas:

$$\text{Cromo VI, mg/kg} = (C_M \times \text{FD}_M \times d_{\text{DM}'} / d_{\text{DM}'\text{Di}}) - C_B \times \text{FD}_B \times M'f / (T \times \text{Fh} \times d_{\text{DM}'})$$

donde:

C_M : corresponde a la concentración de Cr VI calculada a partir de la curva de calibración, medida en la digestión de la muestra, diluida o no según corresponda en mg/L.

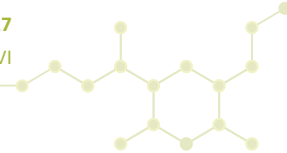
FD_M : corresponde al factor de dilución de la muestra digerida peso/peso, en g/g

$d_{\text{DM}'}$: corresponde a la densidad de la digestión de la muestra medida en 11.3, calculada como el cociente entre la masa que descarga la pipeta en g y el volumen nominal de la pipeta en mL (g/mL)

$d_{\text{DM}'\text{Di}}$: corresponde a la densidad de la digestión de la muestra diluida medida en 11.5, calculada como el cociente entre la masa que descarga la pipeta en g y el volumen nominal de la pipeta en mL (g/mL)

C_B : corresponde a la concentración de Cr VI en la digestión del blanco en mg/L

FD_B : corresponde a la factor de dilución del blanco peso/peso, en g/g



M^f: corresponde a la masa final de la digestión de la muestra, en g.

T: corresponde a la toma de la muestra para la digestión, en g.

Fh: corresponde al factor de corrección por humedad.

Nota 3: se asume densidad del blanco de 1 g/mL. En caso contrario realizar la corrección en el cálculo.

Nota 4: el factor de corrección por humedad se utiliza solo en el caso de que la toma de muestra sea de muestra húmeda.

12.5.3. Calcular el porcentaje de recuperación, en caso de fortificar la muestra según:

$$\% \text{ de Recuperación Cr VI} = 100 \times \left(\frac{C_{CrMAD} \times V_{MAD} - C_{CrM} \times (V_{MAD} - T_{AD})}{T_{AD} \times C_{EST} \times d_{DM}} \right) \times d_{EST}$$

donde:

C_{CrMAD}: corresponde a la concentración de Cr VI, calculada a partir de la curva de calibración, medida en la muestra adicionada, diluida o no según corresponda en mg/l

C_{CrM}: corresponde a la concentración de Cr VI, calculada a partir de la curva de calibración, medida en la muestra sin adicionar

T_{AD}: corresponde a la Toma del estándar adicionado, en g.

C_{EST}: corresponde a la concentración de cromo VI del estándar adicionado, en mg/L.

V_{MAD}: corresponde a la masa total de estándar adicionado más muestra, en g

d_{DM}: corresponde para muestras digeridas, densidad de la muestra medida en 11.3

d_{EST}: corresponde a la densidad del estándar adicionado en g/mL.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

13.1. **Control de la exactitud:** Evaluarla, de ser posible, con un material de referencia o material de referencia interno cuya matriz sea similar a las muestras y posea el analito de interés, el contenido de cromo VI obtenido debe estar en el rango 75 - 125% del contenido real.

Evaluar la exactitud de la determinación usando un estándar preparado a partir de 8.7. La concentración del mismo debe estar en el rango 75 - 125% del contenido real. En caso de contar con los gráficos de control correspondientes, los límites quedaran fijados por estos

13.2. **Adición de estándar:** Medir la muestra y la muestra adicionada, calcular la recuperación de la adición según 12.5, debe estar en el rango 75 - 125%.

13.3. **Control de la precisión:** Se debe realizar el desarrollo de color al menos un duplicado cada cinco muestras, mínimo uno por serie de muestras. Se acepta hasta un 20 % como rango normalizado. En caso de existir gráficos de control, los límites quedaran fijados por este.

14. BIBLIOGRAFÍA

14.1. Manual de instrucciones del Espectrofotómetro SHIMADZU UV160A, SHIMADZU CORPORATION, ANALYTICAL INSTRUMENT DIVISION.

14.2. American Public Health Association (APHA) (2012). Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 22nd edition. APHA, AWWA, WEF, Washington, DC. Método 3500 -Cr B Colorimetric method pp. 3-69 a 3-70.

14.3. Method 7196A. Environmental Protection Agency. Julio 1992.