

4029UY

Determinación de aniones inorgánicos: fluoruro, cloruro, nitrato y sulfato en aguas naturales y efluentes industriales líquidos

Método Cromatografía Iónica sin supresión de la conductividad



Elaborado - V. Muñoz

Modificado - V. Muñoz

Revisado - A. Mangarelli, Jefe Departamento de Análisis Instrumental

Aprobado - N. Barboza, Director División Laboratorio Ambiental



1. APLICACIÓN

- 1.1. Esta normativa técnica se utiliza para la determinación de aniones inorgánicos: fluoruro, cloruro, nitrato y sulfato en aguas naturales y efluentes industriales líquidos.
- 1.2. Los límites de cuantificación son los siguientes: fluoruro 0,1 mg/L, cloruro 0,1 mg/L, nitrato 0,1 mg/L y sulfato 0,2 mg/L. Los límites de detección son: cloruro 0,01 mg/L, nitrato 0,01 mg/L y sulfato 0,05 mg/L. Para el caso de efluentes industriales, los límites podrán ser superiores dependiendo de las características de la matriz.

2. REFERENCIAS

- 2.1. Manual de Calidad – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.2. Manual de Gestión de Calidad – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.3. Manual de Control de Calidad Analítico – Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.4. Carpeta de mantenimiento y control de equipos– Laboratorio Ambiental DINACEA
- 2.5. Instructivo de uso del Shimadzu HIC-20Asuper (INE 104).
- 2.6. Instructivos de uso de balanzas (INE 07, INE 06, INE 115).
- 2.7. Instructivo para el uso del destilador (INE 109).
- 2.8. Instructivo para preparación de agua desionizada (INE 121, INE 122).
- 2.9. Instructivo de baño con ultrasonido (INE 108, INE 134).
- 2.10. Rutas de análisis (RIN 41 y RIN 13).
- 2.11. Especificaciones mínimas de calidad para reactivos y agua utilizada en Laboratorio Ambiental DINACEA. (ES 01)

3. RESUMEN DEL MÉTODO

- 3.1. Los aniones de interés son separados según su afinidad relativa en una columna de intercambio aniónico. Luego, los aniones separados son introducidos en dispositivo que suprime la conductividad de la fase móvil y convierte los aniones en sus formas ácidas altamente conductoras aumentando la respuesta al analito. La detección se realiza con un detector de conductividad. La identificación de los aniones de interés se realiza comparando los tiempos de retención en el cromatograma con el de los estándares respectivos inyectados en la misma serie de análisis, y la cuantificación por medio de una curva de calibración de área o altura de pico cromatográfico en función de la concentración.

4. PRECAUCIONES DE SEGURIDAD

- 4.1. Se requiere túnica, guantes y lentes de seguridad.
- 4.2. Cada reactivo debe ser considerado como un peligro potencial para la salud; la exposición a los mismos debe ser minimizada.

5. INTERFERENCIAS

- 5.1. Cualquier sustancia cuyo tiempo de retención coincida con el de algún ión a determinar y produzca señal en el detector, será una interferencia. Por ejemplo, altas concentraciones de ácidos orgánicos de bajo peso molecular pueden interferir con la determinación de fluoruro y cloruro.
- 5.2. Altas concentraciones de cualquiera de los iones a determinar, puede interferir con la determinación de un ión cuyo tiempo de retención sea cercano, la dilución de la muestra puede superar la interferencia.
- 5.3. La elución del fluoruro puede darse cerca de la depresión de la línea de base causada por la elución del agua (water dip), puede causar dificultades en la cuantificación de muestras con baja concentración de este anión. La dilución de la muestra con fase móvil concentrada puede resolver esta interferencia, en este caso los estándares deberán ser tratados de igual manera.

6. MUESTREO Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- 6.1. Recolectar la muestra en frasco de vidrio o plástico (polietileno o equivalente) de 0,5 L de capacidad, con cierre hermético o en bolsa de muestreo de líquido de plástico descartable. Si se va a determinar nitrato, realizar el análisis tan pronto como sea posible (48 horas) manteniendo la muestra a temperatura ≤ 6 °C (> 0 °C). Para la determinación de sulfato, fluoruro y cloruro, el tiempo de análisis es de hasta 28 días manteniendo la muestra a temperatura ≤ 6 °C (> 0 °C).

7. INSTRUMENTAL Y MATERIALES

- 7.1. Cromatógrafo iónico líquido, Shimadzu HIC20Asuper compuesto por:
- Bandeja para los reservorios de fase móvil
 - Desgasificador de fase móvil en línea (DGU-20 A3R)
 - Bomba para la fase móvil (LC-20ADsp)
 - Inyector automático SIL-10 Ai con loop de 50 μ L.
 - Horno para Columna (CTO-20ACsp)
 - Detector de conductividad (CDD-10A_{sp})
 - Dispositivo de comunicación (CBM-20 A)
 - Precolumna Shim-pack IC-SA2G ó similar (opcional)
 - Columna aniónica Shim-pack IC-SA2, diámetro interno 4,0 mm; largo 25 cm ó equivalente.
 - Cartuchos Supresores de la conductividad (P/N228-40612-91)
- 7.2. Equipo de ultrasonido.
- 7.3. Balanza de resolución 0,00001 g.
- 7.4. Balanza de resolución 0,001 g.
- 7.5. Balanza de resolución 0,0001 g.
- 7.6. Equipo para filtración a vacío: bomba de vacío, trampa de agua, kitasato receptor del filtrado y portafiltro. Alternativamente pueden ser usadas jeringas con filtro de cartucho Sartorius Minisart o similar, con tamaño de poro de 0,45 μ m.
- 7.7. Filtros de 0,45 μ m de tamaño de poro.
- 7.8. Erlenmeyer de 1000 ó 2000 mL.
- 7.9. Micropipetas automáticas de volumen variable.
- 7.10. Tubos descartables de plástico con tapa de 10 mL y 50 mL de capacidad.
- 7.11. Erlenmeyer de 1000 ó 2000 mL.

8. REACTIVOS

- 8.1. Agua grado 1 (según ISO 3696 en su versión vigente).
- 8.2. Solución de elución concentrada NaHCO_3 120 mM / Na_2CO_3 6 mM: disolver 5,040 g de NaHCO_3 y 0,318 g de Na_2CO_3 llevar a 500 mL con agua 8.1.
- 8.3. Soluciones stock de estándares, 1000 mg/L: Secar hasta peso constante a 105 °C las sales indicadas en la tabla adjunta. Pesar con resolución de 0,1 mg lo indicado en la siguiente tabla, y diluir por peso con agua 8.1 a 50 mL en tubo de plástico de 50 mL. Preservar a temperatura ≤ 6 °C (> 0 °C), hasta 6 meses. Los valores indicados a continuación son como guía para la preparación del estándar, el valor real debe ser registrado en la planilla RIN 13 "Planilla de Datos de Preparación de estándares". Alternativamente utilizar soluciones estándares comerciales de trazabilidad adecuada.

Anion	Sal	Peso (g)
Fluoruro	NaF Nro. CAS 7681-49-4	0,1105
Cloruro	NaCl Nro. CAS 7647-14-5	0,0824
Nitrato	NaNO_3 Nro. CAS 7631-99-4	0,0685
Sulfato	K_2SO_4 Nro. CAS 7778-80-5	0,0910

Nota 1: 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. (ESO1)

9. PRECAUCIONES PARA LA OPERACIÓN

- 9.1. Las determinaciones en aguas de lluvia son a niveles de trazas, por lo que hay que extremar cuidados para evitar la contaminación.
- 9.2. Todo el material de plástico debe ser en lo posible descartable.
- 9.3. El resto del material debe ser lavado por enjuague con agua 8.1 sin utilizar ácidos ni detergentes. En caso de contener material sólido adherido usar solventes orgánicos para removerlos y luego enjuagar tres veces con agua 8.1.
- 9.4. Las muestras deben filtrarse en el sector destinado para aniones.
- 9.5. La fase móvil debe filtrarse con filtro membrana de 0,45 µm de tamaño de poro.
- 9.6. El recipiente para la fase móvil debe ser sonificado con agua 8.1 durante 10 min, previo a su llenado con la fase móvil.
- 9.7. Las muestras deben filtrarse con filtro membrana de 0,45 µm de tamaño de poro, previo a su introducción en el IC.

10. CALIBRACIÓN DEL MÉTODO

- 10.1. Preparar por lo menos 5 soluciones estándares conteniendo mezcla de los aniones que se quieren determinar y un blanco, por dilución de la solución stock de estándares con agua 8.1. Utilizar estándares de manera de abarcar las concentraciones de aniones esperadas para las muestras analizadas. Preparar estas soluciones mensualmente (registrar en la Ruta de Análisis 41).
- 10.2. Identificar en el cromatograma de cada estándar el pico correspondiente a cada anión y realizar la gráfica de área o altura del pico en función de la concentración en mg/L para cada anión.
- 10.3. Por cada serie de aproximadamente 10 muestras y al final de la corrida inyectar un estándar para detectar posibles cambios de sensibilidad o corrimientos en los tiempos de retención.

Nota 2: La preparación de los estándares y de la dilución de las muestras debe hacerse en la balanza analítica de resolución 0,01 mg. Se considera la densidad de las soluciones 1 g/mL debiendo corregir en los cálculos correspondientes en caso que no se cumpla.

Nota 3: En caso de que la concentración esperada de los aniones, se encuentren cercanos a los límites de detección/cuantificación, incluir la concentración del límite de cuantificación como una de las 5 soluciones estándares de la curva de calibración y adicionar una solución con la concentración correspondiente al límite de detección para evaluar la señal a la hora de definir el límite de reporte.

Nota 4: El orden de elución de los aniones, es el siguiente: fluoruro, cloruro, nitrito, bromuro, nitrato, ortofosfato y sulfato. En caso de dudas en la identificación de los picos preparar estándares para cada anión por separado para establecer los tiempos de retención correspondientes.

11. ANÁLISIS DE LA MUESTRA

11.1. Operaciones previas

11.1.1. Preparación de la fase móvil:

Diluir 10 veces la solución de elución concentrada 8.2 con agua 8.1 (usar agua 8.1 preparada en el día). Filtrar por vacío con filtro de 0,45 µm. Rellenar el reservorio para la fase móvil y el reservorio de enjuague del inyector con agua 8.1.

11.1.2. Encendido del equipo:

Seguir las instrucciones de operación indicadas en el instructivo de uso para el cromatógrafo (INE 104) para encendido y manejo del mismo.

Ajustar a las siguientes condiciones operativas:

T horno de columna = 40 °C

T detector = 43 °C

Ganancia del Detector = 0,1 o 1,0 (según matriz analizada, ejemplo 0,1 para agua de lluvia y 1,0 para efluentes industriales o aguas naturales en las que se prevea mayor concentración de aniones.)

Respuesta: 1 sec

Flujo de bombeo de fase móvil = 1,1 mL/min

LC stop time 18:00 min (verificar que todos los picos salgan en ese tiempo)

Tipo de cartucho (Cartridge type): 312

Concentración (Concentration): 14,0 meq/L

Tiempo de demora de la inyección (Injection delay time): 4,5 min

Intervalo de cambio del supresor (Suppressor switching interval): 23 min

Tiempo de regeneración del supresor (Regeneration time): 8,8 min

Nota 5: Cuando el equipo alcanza las condiciones de medida indica LC Ready.

- 11.1.3. Estabilizar el equipo circulando fase móvil por el sistema hasta que la línea de base no derive más de 5000 $\mu\text{V}/\text{min}$ y no posea un ruido superior a 50.00 μV . Estos parámetros se chequean desde el software con el test del "Baseline check". El tiempo de estabilización es de aproximadamente 45 min y depende de la ganancia del detector seleccionada.
- 11.2. Filtrar las muestras para eliminar partículas por filtro con 0,45 μm de tamaño de poro.
- 11.3. Crear la secuencia de medición en el equipo (batch table) según el instructivo de uso del equipo INE 104, incluyendo los estándares, las muestras y los controles de calidad.
- 11.4. Si el área de cada anión de interés está en el rango de la curva de calibración correspondiente pasar al punto 12.1. Si el área de algún anión es mayor a la correspondiente al último punto de la curva de calibración para ese anión proceder a diluir la muestra con agua 8.1 (registrar las diluciones realizadas en el RIN 41) o alternativamente realizar estándares de mayor concentración, teniendo en cuenta el rango lineal.
- 11.5. Si la línea de base de la muestra es muy inestable, por ejemplo por la presencia de altas concentraciones de aniones orgánicos que hacen dudar de la cuantificación de algún anión (especialmente cloruro y fluoruro) verificar su concentración por dilución o por adición de una cantidad conocida del anión de interés.
- 11.6. Luego de finalizado el análisis apagar el cromatógrafo según el instructivo INE 104.

12. ANÁLISIS DE DATOS

- 12.1. Calcular la concentración de cada solución utilizada en la curva de calibración teniendo en cuenta la toma, el volumen final y la concentración de la solución stock de estándares.
- 12.2. Calcular en caso de ser necesario los factores de dilución correspondientes a las muestras analizadas.
- 12.3. Calcular la concentración de cada anión en mg/L interpolando en la curva de calibración correspondiente (área o altura en función de la concentración).

$$X, \text{ mg/L} = \frac{(A - O) \times \text{FD}}{P}$$

donde:

X: corresponde a la concentración del anión de interés

A: corresponde a la área o altura del pico del anión de interés en la muestra

P: corresponde a la pendiente de la curva de calibración

O: corresponde a la ordenada en el origen de la curva de calibración

FD: corresponde al factor de dilución de la muestra

Nota 6: Estos cálculos son realizados por el software del equipo una vez que se ingresan las concentraciones de los estándares de calibración y los factores de dilución de las muestras.

12.4. Calcular la recuperación de la adición de las muestras fortificadas según:

$$\% \text{ recuperación de la adición} = \frac{(X_f - X)}{S} \times 100$$

donde:

X_f : corresponde a la cantidad de analito en la muestra fortificada (mg)

X : corresponde a la cantidad de analito en la muestra sin fortificar (mg)

S : corresponde a la cantidad de analito en el volumen de estándar adicionado (mg)

12.5. Si el área o altura del pico cromatográfico para cada anión de interés en la muestra está en el rango de la curva de calibración y cumple con los requisitos de calidad establecidos, informar el valor obtenido.

12.6. Si el área o altura del pico cromatográfico del anión de interés de la muestra no diluida, es menor al menor punto de estándares de la curva de calibración, informar como menor que el límite de cuantificación del anión (referencia: "Manual de Control de Calidad Analítico", Determinación del Límite de Detección y Cuantificación).

Nota 7: Cuando, por las características de la muestra se presentan dudas sobre la identidad de algún pico se fortifica la muestra problema con un estándar del analito en cuestión, aproximadamente en el rango medio de la escala de medida para identificar posibles interferencias. Ver 13.4.

Nota 8: Los datos de área o altura de pico y tiempo de retención se obtienen del reporte de la corrida generado en el software del equipo.

13. CONTROL DE CALIDAD ANALÍTICO

13.1. El coeficiente de correlación de la curva utilizada deberá ser $R^2 \geq 0,99$ y la regresión de los puntos de calibración en la curva deberá estar dentro del $\pm 10 \%$ del valor real de concentración del estándar.

13.2. Control de veracidad de la determinación: Evaluar la veracidad de la determinación (verificación inicial de la calibración del instrumento), usando un estándar de concentración similar a la mitad del rango de la curva, preparado desde una fuente independiente a la utilizada para la construcción de la curva (registrar en el RIN 41). Podrá utilizarse una solución de control interno o un material de referencia. La recuperación del valor de concentración real deberá estar dentro del $\pm 15 \%$, en tanto no se establezcan los límites de aceptación según el gráfico de control correspondiente.

13.3. Control de recuperación de la matriz fortificada: Fortificar una de cada veinte muestras o por lo menos una por batch, con un volumen conocido de una solución estándar de manera que el agregado no aumente el volumen más del 5 % de la toma de muestra fortificada y de manera que la concentración final este dentro del rango de calibración del equipo de lo contrario diluir la muestra fortificada para llevarla al rango de calibración. Procesar la muestra fortificada a través de toda la metodología (registrar la adición en RIN 41). La recuperación del analito agregado deberá estar entre 85 - 115 % del valor agregado, en tanto no se establezcan los límites de aceptación según el gráfico de control correspondiente.

13.4. Control de la precisión: Se debe realizar el análisis por duplicado como mínimo una de cada veinte muestras, o por lo menos un duplicado por batch. Verificar que la dispersión de los duplicados sea menor a un Rango Normalizado de 10 %, de lo contrario se debe revisar el procedimiento y evaluar repetir el análisis.

13.5. Control de blancos: la concentración de los analitos en la solución blanco deberá estar por debajo de la mitad del límite de reporte (siendo el límite de reporte el Límite de Detección/Cuantificación según el caso).

14. BIBLIOGRAFÍA

14.1. American Water Works Association, Water Environment Federation. In: Lipps WC, Braun-Howland EB, Baxter TE, eds. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater, 24th ed. Washington DC: APHA Press; 2023. Method 4110 B Ion chromatography with chemical suppression of eluent conductivity pp.309-311.

14.2. Manuales de Cromatógrafo iónico líquido, Shimadzu HIC20Asuper (1404 SHIC 05242-51).

