

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA
UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

CONTENIDO

1.	OBJETIVO	2
2.	ALCANCE	2
3.	RESPONSABLES	2
4.	TERMINOS Y DEFINICIONES	2
5.	REFERENCIA NORMATIVA	2
6.	CONDICIONES GENERALES/ POLITICAS REFERENCIALES.....	2
6.1	ASPECTOS DE LA SALUD Y SEGURIDAD LABORAL.....	2
6.2	MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS	3
6.2.1	MATERIALES	3
6.2.2	EQUIPOS.....	3
6.2.3	REACTIVOS	3
6.2.4	PREPARACIÓN DE REACTIVOS	3
6.3	PATRON DE REFERENCIA	4
7.	CONDICIONES AMBIENTALES REQUERIDAS	4
8.	LIMITACIONES E INTERFERENCIAS	4
	<u>LA REACCIÓN CON LA DIFENILCARBAZIDA ES PRÁCTICAMENTE ESPECÍFICA PARA EL CR⁺⁶. LAS SALES DE MOLIBDENO HEXAVALENTE Y DE MERCURIO REACCIONARÁN PARA FORMAR COLOR CON EL REACTIVO, PERO LAS INTENSIDADES SON MUCHO MÁS BAJAS QUE PARA EL CROMO HEXAVALENTE AL PH ESPECIFICADO. PUEDEN TOLERARSE CONCENTRACIONES DE HASTA 200 MG/L DE MOLIBDENO (MO) Y MERCURIO (HG). EL VANADIO INTERFIERE FUERTEMENTE, SIN EMBARGO, EN CONCENTRACIONES DE HASTA 10 VECES LAS DEL CR⁺⁶ NO CAUSARÁ PROBLEMAS. EL HIERRO, EN CONCENTRACIONES SUPERIORES A 1 MG/L PUEDE PRODUCIR UN COLOR AMARILLO, PERO EL COLOR DEL ION FÉRRICO (FE³⁺) NO ES FUERTE, Y NORMALMENTE NO SE ENCUENTRAN DIFICULTADES SI SE MIDE LA ABSORBANCIA FOTOMÉTRICAMENTE A LA LONGITUD DE ONDA APROPIADA.</u>	4
9.	CONTROLES Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD	5
	CURVA DE CALIBRACION	5
10.	DESARROLLO	6
10.2.2	PROCEDIMIENTO DE ANALISIS	6
	TRATAMIENTO PRELIMINAR	6
	TRATAMIENTO DE LA MUESTRA Y DESARROLLO DEL COLOR.....	7
11.	CALCULOS.....	7
12.	CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO	7
13.	FORMATOS PARA REGISTRO DEL PROCESO ANALITICO Y DE LOS RESULTADOS..	8
14.	FLUJOGRAMA	9

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

1. OBJETIVO

Determinar el Cromo Hexavalente (Cr^{+6}) en muestra de agua por el método Colorimétrico SM (3500-Cr B).

2. ALCANCE

Este método de análisis aplica a muestras de aguas superficiales, residuales e industriales, lluvias y subterráneas.

3. RESPONSABLES

La ejecución del presente procedimiento es responsabilidad en orden decreciente de la dirección técnica, los analistas de laboratorio y los auxiliares técnicos.

4. TERMINOS Y DEFINICIONES

CROMO: El cromo se encuentra presente en agua y suelo principalmente en dos estados de oxidación: Cr (III) o Cr (VI), aunque también puede encontrarse como óxido de cromo, sulfato de cromo, trióxido de cromo, ácido crómico y dicromato. En presencia de la materia orgánica, el Cr (VI) presente en aguas y suelos es reducido a Cr (III).

Se utiliza en metalurgia, en curtido de cueros y en fabricación de pinturas; los efluentes de cromo hexavalente de estas industrias contaminan el agua y el suelo.

5. REFERENCIA NORMATIVA

NTC-ISO/IEC 17025:2005, Requisitos Generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración

Determinación de Cromo VI por el método colorimétrico SM 3500-Cr B. Métodos estándar para el análisis de agua y aguas residuales. - APHA-AWWA-WEF. Edición 23 (2017). p 3-71 a p 3-73.

6. CONDICIONES GENERALES/ POLITICAS REFERENCIALES

6.1 ASPECTOS DE LA SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Antes de iniciar el análisis revisar instructivo para el aseguramiento de la calidad de los ensayos en el laboratorio de aguas de la Universidad del Quindío M.EDS-04.LA.INT.14. Utilizar como protección personal delantal de laboratorio, guantes de nitrilo, monogafas, pinzas. Adicionalmente conocer las Hojas de seguridad de los productos Químicos manejados, y mantenerlas al alcance de todo el personal del Laboratorio de Aguas.

PRECAUCIÓN: El cromo hexavalente es tóxico y posiblemente cancerígeno. Manipule con cuidado.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

6.2 MATERIALES, EQUIPOS Y REACTIVOS

6.2.1 Materiales

Para medición utilizado en este método debe ser de clase A con certificado de calibración o verificado de acuerdo con el procedimiento de verificación de material volumétrico.

- Transferpipeta de 1 – 10 mL
- Transferpipeta de 100 – 1000 μ L
- Balones Aforados de 100 mL tipo A
- Vasos de precipitados 250 mL
- Frasco lavador
- Espátula
- Sistema de filtración al vacío
- Celda 1cm de paso óptico de luz
- Filtro de 0.45- μ m

6.2.2 Equipos

Los equipos deben ser verificados y/o ajustados de acuerdo con el instructivo. Registrar los resultados en el formato de verificación correspondiente.

- Nevera
- Bomba de vacío
- Balanza Analítica
- Equipo Desionizador
- Potenciómetro
- Cronómetro
- Espectrofotómetro

6.2.3 Reactivos

- Dicromato de Potasio ($K_2Cr_2O_7$)
- Ácido nítrico (HNO_3) concentrado
- Ácido Sulfúrico (H_2SO_4) concentrado
- Ácido Fosfórico (H_3PO_4) concentrado
- Acetona (C_3H_6O)
- 1,5 - difenilcarbazida
- Hidróxido de Sodio (NaOH), 1N
- Hidróxido de Sodio (NaOH), 5N
- Hidróxido de amonio (NH_4OH)
- Sulfato de amonio ($(NH_4)_2SO_4$)

6.2.4 Preparación de Reactivos

Utilizar agua grado reactivo (desionizada), para la preparación de los reactivos.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

- **Solución de difenilcarbazida:** Pesar 250 mg de 1,5-difenilcarbazida (1,5 –difenilcarbohidrazida) y disolverlos en 50 mL de acetona. Almacenar en frascos de vidrio ámbar, y descartar la disolución cuando comience a presentar partículas en suspensión y disminuya la intensidad como indicador.
- **Disolución de ácido sulfúrico 0,2 N:** Agregar 5,6 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado a un matraz que contenga 500 mL de agua, mezcle y deje enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente diluya con agua a 1 L.
- **Hidróxido de sodio (NaOH) 1 N:** Disolver 40 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 1000 mL de agua. Almacenar en frasco de plástico. Se pueden preparar volúmenes más pequeños.
- **Hidróxido de sodio (NaOH) 5 N:** Disolver 200 g de hidróxido de sodio (NaOH) en 1000m L de agua. Almacenar en frasco de plástico.
- **Solución buffer:** Disolver 33 g de sulfato de amonio $(NH_4)_2SO_4$ en 75 mL de agua. Adicionar 6,5 mL de hidróxido de amonio NH_4OH , y diluir a 100 mL con agua desionizada

6.3 PATRON DE REFERENCIA

Solución de referencia Stock de cromo (500 mg/L): Pesar 141,4 mg de dicromato de potasio $K_2Cr_2O_7$, disolver con agua y llevar al aforo a 100 mL; (1 mL de esta disolución es equivalente a 500,0 μg de Cr^{+6}).

Solución estándar de Cromo 5 mg/L: Adicionar una alícuota de 1 mL de la disolución madre de cromo VI a un matraz volumétrico de 100 mL y aforar con agua. (1 mL de esta disolución equivale a 5 μg de Cr^{+6}).

Todo lo anterior se registra en el formato M.EDS-04. LA.F.03 Preparación de reactivos

7. CONDICIONES AMBIENTALES REQUERIDAS

Las condiciones ambientales no son críticas para la ejecución de este ensayo, ni tienen influencia sobre el resultado obtenido.

8. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

La reacción con la difenilcarbazida es prácticamente específica para el Cr^{+6} . Las sales de molibdeno hexavalente y de mercurio reaccionarán para formar color con el reactivo, pero las intensidades son mucho más bajas que para el cromo hexavalente al pH especificado. Pueden tolerarse concentraciones de hasta 200 mg/L de Molibdeno (Mo) y Mercurio (Hg). El vanadio interfiere fuertemente, sin embargo, en concentraciones de hasta 10 veces las del Cr^{+6} no causará problemas. El hierro, en concentraciones superiores a 1 mg/L puede producir un color amarillo, pero el color del ion férrico (Fe^{3+}) no es fuerte, y normalmente no se encuentran dificultades si se mide la absorbancia fotométricamente a la longitud de onda apropiada.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

9. CONTROLES Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Agua destilada tipo II para preparación de estándar y soluciones de trabajo con una conductividad eléctrica menor a $1 \mu\text{S/cm}$ a 25°C y con un pH mayor a 5.6 e inferior a 7.3

Todo el material de plástico y vidrio utilizado, luego de lavado, deberá enjuagarse con abundante agua y jabón neutro. Este material se mantiene identificado para tal fin.

La muestra debe ser llevada a temperatura ambiente para iniciar el análisis.

CURVA DE CALIBRACION

Preparación de la curva

Preparar una serie de estándares entre 2 y 20 mL de solución estándar de Cromo ($5 \mu\text{g/mL} = 5\text{mg/L}$) (Cr^{+6}), obtener estándares en el intervalo de $10 \mu\text{g}$ a $100 \mu\text{g}$ de Cr^{+6} , diluir los estándares a un volumen de 100 mL con agua desionizada (0.1 a 1.0 mg/L) y preparar un blanco.

Prepare patrones de estándar de Cromo hexavalente, siguiendo los volúmenes indicados en la siguiente tabla y el procedimiento que se describe para las muestras

Tabla 1 Preparación de estándares

NIVEL	mL de Estándar ($1,0 \text{ mL} = 0,005 \text{ mg Cr}^{+6}$)	mg Cr^{+6}/L
Blanco	0.0	0.0
1	2.0	0.1
2	4.0	0.2
3	6.0	0.3
4	8.0	0.4
5	10.0	0.5
6	12.0	0.6
7	14.0	0.7
8	16.0	0.8
9	18.0	0.9
10	20.0	1.0

- Después transferirlos a vasos de precipitados de 250 mL, posteriormente adicione 0,25mL (5 gotas) de ácido fosfórico (H_3PO_4), usar ácido sulfúrico 0,2N y un potenciómetro para ajustar a pH de $2,0 \pm 0,5$ transferir al balón de 100mL diluir y mezclar, adicionar 2,0mL de solución de difenilcarbazida mezclar, esperar 5 min para el desarrollo del color seguir el procedimiento que se indica a la muestra para el desarrollo de color.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

- Transferir una porción apropiada a celda de 1 cm, leer en el espectrofotómetro a 540 nm.
- Registrar en M.EDS-04. LA.F.07 Curva de calibración.

10. DESARROLLO

10.1. FUNDAMENTO TECNICO

Las sales de cromo hexavalente Cr (VI) se utilizan ampliamente en procesos industriales del acero, pinturas, colorantes y cerámicas. Las sales de cromo trivalente se utilizan en la industria textil para colorantes, en la industria de la cerámica y el vidrio, en la industria curtidora y en fotografía. El cromo en sus dos estados de oxidación se utiliza en diversos procesos industriales por tanto puede estar presente en las aguas residuales de dichas empresas.

Este método se basa en una reacción de óxido reducción donde el cromo hexavalente (Cr ⁺⁶) reacciona con la 1,5-difenilcarbazida en medio ácido, lo que produce la formación de un compuesto desconocido de color rojo violeta. Éste es medido espectrofotométricamente a una longitud de onda de 540 nm. La intensidad de color es directamente proporcional a la concentración de cromo hexavalente. Para determinar cromo total, la muestra debe ser sometida a digestión ácida (sulfúrico-nítrico) y oxidación con permanganato de potasio, previo a la reacción con la difenilcarbazida.

10.2. DESCRIPCIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALITICA

10.2.1. TOMA, PRESERVACIÓN, TRANSPORTE Y ALMACENAMIENTO DE MUESTRA

Las muestras pueden colectarse en frascos plásticos o de vidrio. En función de lo que se desee determinar, no pueden colectarse muestras compuestas. Si se desea la fracción disuelta, filtrar inmediatamente por membrana de 0.45 µm. Nunca diluir la muestra en un volumen mayor al 10%. El tiempo máximo de almacenamiento previo al análisis es de 28 días después de preservada la muestra. Si el pH no está dentro del rango apropiado, analice la muestra o ajuste su pH dentro de las primeras 24 horas.

La muestra debe ser almacenada ≤ 6 °C.

Las muestras serán marcadas en el M.EDS-04. LA.F.05 Rótulo de Muestras, mediante un código único el cual será su identificación durante su permanencia en el laboratorio de acuerdo a la información registrada en el M.EDS-04. F.06 Registro de Ingreso de muestra.

10.2.2 PROCEDIMIENTO DE ANALISIS

Tratamiento Preliminar

Filtrar la muestra a través de una membrana de 0,45 µm. Usar una porción de muestra para enjuagar el sistema de filtración, recolectar el volumen de filtrado requerido. Ajustar el pH entre 9,3 y 9,7 adicionando 1 mL de la solución buffer más 0,6 mL de la solución de hidróxido sodio 5 N por cada 100 mL de muestra. Se puede necesitar más NaOH (5N o 1 N) para llevar el pH de la muestra al intervalo indicado. Nunca diluir a más del 10 % del volumen total de la muestra.

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDIO

Tratamiento de la muestra y desarrollo del color

Llevar las muestras a temperatura ambiente antes del análisis. Adicionar 0,25 mL (5 gotas) de ácido fosfórico (H_3PO_4). De acuerdo al pH de la muestra, utilizar ácido sulfúrico (H_2SO_4) 0.2 N y un potenciómetro para ajustar la solución a pH de $2,0 \pm 0,5$. Transfiera la solución a un matraz volumétrico hasta 100 mL, y mézclese. Añádase 2.0 mL de la solución de difenilcarbazida, mezclar y dejar reposar 5 min para desarrollo del color. Transfiera una porción apropiada a una celda de absorción de 1 cm y mídase su absorbancia de 530 a 540 nm. Utilícese agua desionizada como referencia. Corrija la lectura de absorbancia restando la absorbancia de un blanco tratado con el mismo método (Determínese los microgramos de cromo presentes a partir de la absorbancia corregida por referencia a la curva de calibración).

NOTA: Si la solución esta turbia después de dilución a 100mL, tómese una lectura de absorbancia previa a la adición del reactivo carbazida y corrija la lectura de absorbancia de la solución coloreada final restando la absorbancia medida previamente.

11. CALCULOS

La concentración en mg/L de (Cr^{+6}) se calcula con la siguiente ecuación:

$$\frac{mg\ Cr^{+6}}{L} = \frac{\mu g\ Cr^{+6}\ (en\ 102mL\ del\ Volumen\ final)}{A \times B}$$

Dónde:

A= son los mL de muestra original.

B = mL de porción de 100mL de muestra digerida

Considerar el empleo de los 102 mL de volumen final para la realización de los cálculos, ya que si el volumen de la muestra está en 100 mL y posteriormente se realiza la adición de los 2 mL de difenilcarbazida no provocará ningún factor de dilución.

Toda la información referente a la prueba se registra en el M.EDS-04.LA.F.01 Registro datos primarios ensayos fisicoquímicos

12. CRITERIOS DE ACEPTACION Y RECHAZO

Para aquellos valores que sean inferiores al Límite de cuantificación de método se informara “<LCM mg/L” (valor a definir después de haber realizado análisis estadístico). La dirección técnica del laboratorio revisa la información consignada en los registros y autoriza para el procesamiento de informes.

Por cada lote de 20 muestras o menos se deben realizar los siguientes controles:

- Blanco con agua desionizada
- Cartas de control, Estándar de 0.50 mg/L (Estos estándares se grafican en las cartas de control del método (M.EDS-04.LA.F.02)
- Muestra escogida aleatoriamente adicionada con estándar de 0.40 mg/L

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

- Analizar un duplicado de la muestra adicionada para evaluar el Índice de Correlación (IC) el cual debe ser superior al 95%

Los analistas de laboratorio evaluarán los resultados y tendencias de las cartas de control, patrones, duplicados y blancos y en caso de identificar anomalías indicaran a la dirección técnica quien documentará y tomará las medidas que sean necesarias cuando se encuentre alguna situación que lo amerite, tal como se establece en el instructivo de Aseguramiento de la calidad (M.EDS-04.LA.INT.14)

13. FORMATOS PARA REGISTRO DEL PROCESO ANALITICO Y DE LOS RESULTADOS

M.EDS-04.LA.F.01 Registro datos primarios ensayos fisicoquímicos

M.EDS-04.LA.F.02 Carta de control del método

M.EDS-04.LA.F.03 Preparación de reactivos

M.EDS-04.LA.F.05 Rótulo de Muestras

M.EDS-04.LA.F.06 Registro de Ingreso de muestras

M.EDS-04.LA.F.07 Curva de Calibración

Elaboró: Lina Marcela León Gallón Dirección técnica laboratorio aguas	Revisó: Diana Milena Cardona Lindo – Profesional Apoyo Acreditación de Laboratorios	Aprobó: Luis Fernando Polanía Obando – Vicerrector de Extensión y desarrollo Social
Fecha: 2019/10/16	Fecha: 2020/02/12	Fecha: 2020/02/20

INSTRUCTIVO PARA DETERMINACIÓN DE CROMO EN EL LABORATORIO DE AGUAS DE LA
UNIVERSIDAD DEL QUINDÍO

14. FLUJOGRAMA

