

DETERMINACIÓN DE CROMO HEXAVALENTE EN AIRE (FRACCIÓN INHALABLE) – MÉTODO DE CAPTACIÓN EN FILTRO/CROMATOGRAFÍA IÓNICA

MTA/MA – 063/A23



**GOBIERNO
DE ESPAÑA**

**MINISTERIO
DE TRABAJO
Y ECONOMÍA SOCIAL**

insst
Instituto Nacional de
Seguridad y Salud en el Trabajo

Título:

MTA/MA-063/A23 Determinación de cromo hexavalente en aire (fracción inhalable)–
Método de captación en filtro/cromatografía iónica

Autor:

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), O.A., M.P.

Organismos participantes en el Programa Nacional de Normalización de Métodos de Toma de Muestra y Análisis:

- Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo
 - Centro Nacional de Condiciones de Trabajo - Barcelona
 - Centro Nacional de Medios de Protección - Sevilla
 - Centro Nacional de Nuevas Tecnologías - Madrid
 - Centro Nacional de Verificación de Maquinaria - Vizcaya

Coordinación:

Centro Nacional de Verificación de Maquinaria - Vizcaya

Edita:

Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST), O.A., M.P.

C/ Torrelaguna 73, 28027 Madrid

Tel. 91 363 41 00, fax 91 363 43 27

www.insst.es

Composición:

Servicio de Ediciones y Publicaciones del INSST

Edición:

Madrid, enero 2023

NIPO (en línea): 118-23-002-9

Hipervínculos:

El INSST no es responsable ni garantiza la exactitud de la información en los sitios web que no son de su propiedad. Asimismo la inclusión de un hipervínculo no implica aprobación por parte del INSST del sitio web, del propietario del mismo o de cualquier contenido específico al que aquel redirija.

Catálogo de publicaciones de la Administración General del Estado:

<http://cpage.mpr.gob.es>

Catálogo de publicaciones del INSST:

<http://www.insst.es/catalogo-de-publicaciones>



DETERMINACIÓN DE CROMO HEXAVALENTE EN AIRE (FRACCIÓN INHALABLE)– MÉTODO DE CAPTACIÓN EN FILTRO/CROMATOGRAFÍA IÓNICA

Palabras clave: Cromo, difenil carbazida, cromatografía iónica, fracción inhalable.

ÍNDICE

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN.....	6
2. DEFINICIONES.....	6
2.1 Aerosol.....	6
2.2 Fracción inhalable.....	6
2.3 Muestreador de la fracción inhalable	6
2.4 Elemento de retención	6
2.5. Sesgo	6
2.6. Precisión.....	7
2.7. Límite de detección, LOD.....	7
2.8. Límite de cuantificación, LOQ	7
2.9. Incertidumbre	7
2.10. Recuperación analítica (Ra)	7
3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO	8
4. REACTIVOS Y DISOLUCIONES.....	8
4.1. Reactivos	8
4.2. Disoluciones.....	9
5. APARATOS Y MATERIAL	9
5.1 Aparatos y material para la toma de muestra.....	9
5.2. Aparatos y material para el análisis	10
6. TOMA DE MUESTRA.....	11
6.1. Bomba de muestreo	11
6.2. Muestreador y caudal de muestreo	11
6.3. Tiempo de muestreo	11
6.4. Volumen de muestreo.....	11
6.5. Procedimiento de muestreo	12
7. MÉTODO DE ANÁLISIS	13
7.1. Preparación de muestras y blancos	13
7.2. Condiciones cromatográficas	13

7.3. Calibración	14
7.4. Análisis de muestras y blancos	14
7.5. Concentración de cromo VI en el aire muestreado	15
8. CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO	15
8.1. Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) del método	15
8.2. Recuperación analítica (RA)	15
8.3. Precisión analítica	16
8.4. Incertidumbre expandida del método (U)	16
9. BIBLIOGRAFÍA	17
ANEXO A	
VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDIDA	18
A.1. GENERACIÓN DE LAS MUESTRAS.	18
A.2. LÍMITES DE DETECCIÓN (LOD) Y DE CUANTIFICACIÓN (LOQ).	18
A.3. RECUPERACIÓN ANALÍTICA (RA)	19
A.4. PRECISIÓN ANALÍTICA.	20
A.5. ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS.	21
A.6. INCERTIDUMBRE DEL PROCEDIMIENTO DE MEDIDA.	22

1. OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método describe el procedimiento para la determinación de la concentración de cromo hexavalente, cromo VI, en el aire de los lugares de trabajo, mediante la captación en un filtro impregnado de una disolución de hidróxido sódico, y análisis por cromatografía iónica con detector ultravioleta-visible (UV-visible) (9.1).

De acuerdo con los criterios establecidos en la norma UNE-EN ISO 21832 (9.2) y en el protocolo de validación de los métodos de medida de metales y metaloides en partículas en suspensión en el aire (9.3), se ha validado el método para cantidades de cromo VI en los filtros desde 0,50 µg hasta 100 µg. Este intervalo comprende concentraciones en el ambiente de cromo VI entre la décima parte y dos veces el VLA-ED establecido para los compuestos de cromo VI (9.4), cuando el volumen de muestreo es de 1000 litros.

Este método de toma de muestra y análisis se ha desarrollado para determinar concentraciones medias ponderadas en el tiempo de cromo hexavalente en el aire, en tomas de muestras personales y en lugares fijos. Por ello, puede ser utilizado para realizar mediciones de comparación con los valores límite de exposición profesional y mediciones periódicas (9.5 y 9.6).

2. DEFINICIONES

Se aplican los términos y las definiciones dados en la norma UNE-EN 1540 (9.7). A efectos de este documento, se consideran de interés las siguientes definiciones:

2.1 Aerosol

Partículas en suspensión en el aire y mezcla de gases (y vapores) en la que están en suspensión.

2.2 Fracción inhalable

Fracción en masa de las partículas totales en suspensión en el aire que se inhala a través de la nariz y la boca.

2.3 Muestreador de la fracción inhalable

Muestreador de aerosoles que se utiliza para la recogida de la fracción inhalable.

2.4 Elemento de retención

Medio en el que se recogen los agentes químicos y/o biológicos en suspensión en el aire para su análisis posterior.

- Los filtros y las espumas de poliuretano son algunos ejemplos de elementos de retención para partículas en suspensión en el aire.

- En algunos muestreadores se considera el conjunto filtro + portafiltro como elemento de retención.

2.5 Sesgo

Desviación del resultado obtenido aplicando un procedimiento de medida con respecto al valor aceptado como referencia.

2.6. Precisión

Grado de concordancia entre los resultados obtenidos aplicando el método repetidas veces, bajo condiciones determinadas.

2.7. Límite de detección, LOD

La cantidad menor de un analito que se puede detectar con un nivel de confianza dado.

- El LOD se puede calcular a partir de la desviación estándar de las señales del blanco (σ_y) y de la pendiente de la recta de regresión de la función de calibración (b).

$$LOD = \frac{(3 \sigma_y)}{b} \quad (\text{fórmula 1})$$

También se puede calcular a partir de la desviación estándar de las concentraciones asignadas por la función de calibración a las señales del blanco (σ_x).

$$LOD = 3 \sigma_x \quad (\text{fórmula 2})$$

- El LOD se puede utilizar como un valor umbral para afirmar, con un nivel de confianza dado, la presencia de una sustancia.

- En ausencia de señal del blanco, se pueden utilizar concentraciones de analito próximas al límite de detección esperado para determinar el LOD.

2.8. Límite de cuantificación, LOQ

La cantidad menor de un analito que se puede cuantificar con un nivel de confianza dado.

- El LOQ se puede calcular a partir de la desviación estándar de las señales del blanco (σ_y) y de la pendiente de la recta de regresión de la función de calibración (b). También se puede calcular a partir de la desviación estándar de las concentraciones asignadas por la función de calibración a las señales del blanco (σ_x).

$$LOQ = \frac{(10 \sigma_y)}{b} \quad (\text{fórmula 3}) \quad LOQ = 10 \sigma_x \quad (\text{fórmula 4})$$

- El valor del LOQ se puede utilizar como un valor umbral para garantizar la exactitud de la medida de una sustancia.

- En ausencia de señal del blanco, se pueden utilizar concentraciones de analito próximas al límite de detección esperado para determinar el LOQ.

2.9. Incertidumbre

Estimación del intervalo de valores en el que se sitúa, con una probabilidad determinada, el valor verdadero de la magnitud medida.

2.10. Recuperación analítica (Ra)

Relación entre la masa de analito medida en la muestra (M_a) y la masa de analito conocida en dicha muestra (M_c). Normalmente se expresa en porcentaje.

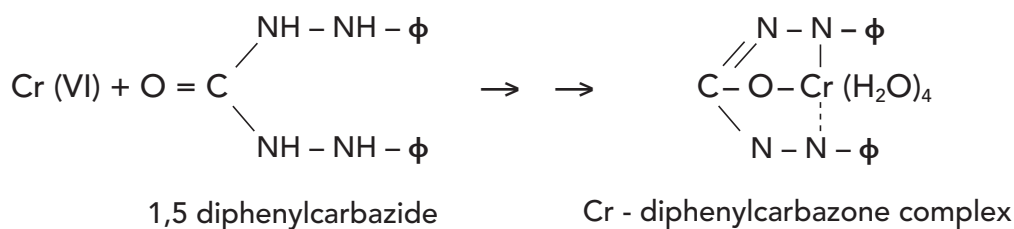
$$R_a = \frac{M_a}{M_c} \times 100 \quad (\text{fórmula 5})$$

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La muestra se obtiene haciendo pasar, con ayuda de una bomba de muestreo personal, un volumen de aire a través de un filtro de fibra de cuarzo impregnado con una disolución 1 M de NaOH e incorporado en un muestreador de la fracción inhalable. Los compuestos de cromo VI, presentes en el aire de los lugares de trabajo, quedan retenidos en el filtro.

La muestra recogida se extrae con una disolución de 2% NaOH // 3% Na₂CO₃, obteniéndose una disolución de las especies de cromo VI presentes en las mismas.

La disolución resultante se analiza por cromatografía iónica con derivatización post-columna del cromo VI con 1,5-difenilcarbazida en medio ácido, y detección del complejo de cromo VI formado a la longitud de onda de 540 nm. A partir de la cantidad de cromo VI presente en la muestra y del volumen de aire muestreado se obtiene la concentración ambiental.



4. REACTIVOS Y DISOLUCIONES

4.1. Reactivos

Todos los reactivos deben ser de calidad analítica o superior.

Las indicaciones de peligro asignadas a cada reactivo se recogen en el Reglamento (CE) n° 1272/2008 sobre clasificación, envasado y etiquetado de sustancias y mezclas (9.8).

4.1.1. Agua purificada, de grado 2 de pureza como mínimo, según ISO 3696. La conductividad eléctrica será menor de 0,1 mS/m y la resistividad mayor de 0,01 MΩ.m a 25°C. (9.9)

4.1.2. Ácido sulfúrico (H₂SO₄), densidad 1,84 g/ml, pureza 96%. N° CAS -7664-93-9.

PRECAUCIÓN: Sustancia corrosiva para la piel e irritante para los ojos.

4.1.3. Carbonato de sodio anhidro (Na₂CO₃), pureza 99,5%. N° CAS 497-19-8.

PRECAUCIÓN: Sustancia irritante para los ojos.

4.1.4. Hidróxido sódico (NaOH), pureza superior al 99,5%. N° CAS 1310-73-2.

PRECAUCIÓN: Sustancia corrosiva para la piel e irritante para los ojos.

4.1.5. Metanol (CH₃OH), calidad para análisis. N° CAS 67-56-1.

PRECAUCIÓN: Sustancia inflamable. Toxicidad aguda.

4.1.6. 1,5-Difenilcarbazona [(C₆H₅.NH.NH)²CO], pureza mayor del 98%. N° CAS 140-22-7.

4.1.7. Hidróxido amónico (NH₄OH), 25% (V/V), 25% (V/V), N° CAS 1336-21-6.

PRECAUCIÓN: Sustancia corrosiva para la piel e irritante para los ojos.

4.1.8. Sulfato amónico [(NH₄)²SO₄], pureza 99,5%, N° CAS 7783-20-2.

4.2. Disoluciones

4.2.1. **Disolución de impregnación de filtros**, 1 M NaOH. Se disuelven 10 gramos de NaOH en 250 ml de agua.

4.2.2. **Disolución eluyente**, 0,25M (NH₄)₂SO₄ // 0,1M NH₄OH. Se disuelven 33 gramos de (NH₄)₂SO₄ en 400 ml de agua. Se añaden 7,5 ml de NH₄OH al 25% y se enrasa a 1 litro con agua.

4.2.3. **Disolución derivatizante**, 0,002 M de 1,5-difenilcarbazona. Se disuelven 0,12 gramos de 1,5-difenilcarbazona en 25 ml de metanol. Se añaden 125 ml de agua que contiene 7 ml de H₂SO₄ y se enrasa hasta 250 ml con agua.

Este reactivo es estable durante 15 días a temperatura ambiente.

4.2.4. **Disolución de extracción**, 2% NaOH // 3% Na₂CO₃. Se disuelven 20 gramos de NaOH en 400 ml de agua. Se añaden 30 gramos de Na₂CO₃ y se enrasa a 1 litro con agua.

4.2.5. Disoluciones de cromo VI (Cr VI)

4.2.5.1. **Disolución estándar**. Disolución comercial con un valor certificado de concentración de 1000 mg/l de (CrO₄)²⁻ (448,27 mg/l de cromo VI).

4.2.5.2. **Disolución intermedia**, de 4,0 mg de cromo VI/l. Esta disolución se prepara por dilución de la disolución estándar (4.2.5.1) con la disolución de extracción (4.2.4). Es estable 15 días.

4.2.5.3. **Disoluciones patrón de cromo VI, para la calibración**, en el intervalo desde 0,02 mg/l a 4,00 mg/l. Se preparan mediante la dilución, con la disolución de extracción, de los volúmenes adecuados de la disolución intermedia (4.2.5.2).

5. APARATOS Y MATERIAL

5.1 Aparatos y material para la toma de muestra

5.1.1. **Bomba de muestreo**. Se requiere una bomba tipo P, capaz de mantener un funcionamiento continuado durante todo el tiempo de muestreo. El caudal de la bomba ha de mantenerse constante dentro de un intervalo ± 5%. La bomba debe cumplir los requisitos recogidos en la norma UNE-EN ISO 13137:2014 (9.10).

Para conectar la bomba y el muestreador se utilizará un tubo de goma o plástico de longitud y diámetro adecuado, a fin de evitar estrangulamientos y fugas en las conexiones.

5.1.2. **Medidor de caudal externo**, para ajustar y medir el caudal de la bomba de muestreo, calibrado frente a un patrón primario (trazable a patrones nacionales o internacionales), y cuyo rango de medida incluya el caudal requerido para la bomba de muestreo.

5.1.3. Muestreador, diseñado para captar la fracción inhalable de partículas del aerosol, definidas en la Norma UNE-EN 481 (9.11), y que cumpla con lo establecido en la Norma UNE-EN 13205 (9.12), relativo al funcionamiento de los instrumentos para la medición de concentraciones de aerosoles.

El documento técnico CEN/TR 15230:2005, recoge una serie de muestreadores de la fracción inhalable de partículas que cumplen los requisitos de las normas citadas y están disponibles en el mercado (9.13).

5.1.4. Filtro, se utilizarán filtros de fibra de cuarzo impregnados con una disolución 1 M de NaOH, y de un diámetro adecuado para utilizar en el muestreador seleccionado. Estos filtros deben garantizar una eficacia de retención no inferior al 99%.

Para la impregnación de los filtros, se adiciona sobre la superficie de cada filtro 500 µl de la disolución 1 M de NaOH (4.2.1) y se dejan secar al aire. Los filtros preparados se guardan a temperatura ambiente. Alternativamente, también se pueden preparar sumergiendo los filtros durante 24 horas en la disolución 1 M de NaOH. Posteriormente se dejan secar y se guardan a temperatura ambiente.

5.1.5. Pinzas de punta plana, sin estrías en los bordes, que eviten, en lo posible, el deterioro de los filtros.

5.2. Aparatos y material para el análisis

Todo el material de vidrio utilizado será borosilicatado.

5.2.1. Matraces clase A, de diferentes capacidades.

5.2.2. Pipetas clase A y/o pipetas tipo pistón, de diferentes volúmenes.

5.2.3. Equipo de filtración

5.2.4. Balanza analítica

5.2.5. Baño de ultrasonidos

5.2.6. Cromatógrafo Iónico, equipado con los siguientes componentes:

5.2.6.1. Bomba, capaz de suministrar un flujo constante en el rango de 0,5 ml/min a 5 ml/min.

5.2.6.2. Precolumna, situada antes que la columna separadora con el objeto de proteger a la misma. Se puede utilizar la Dionex AG-7.

5.2.6.3. Columna separadora, de gran capacidad, capaz de separar el cromo hexavalente de otros metales y cationes. Se pueden utilizar la Dionex AS-7.

5.2.6.4. Muestreador automático

5.2.6.5. Módulo de dosificación de reactivo, capaz de suministrar un flujo constante de la disolución derivatizante de 1,5-difenilcarbazona (véase apartado 4.2.3) en el intervalo entre 0,1 ml/min y 2 ml/min.

5.2.6.6. Detector de absorbancia, equipado con lámparas de UV-visible, capaz de medir a la longitud de onda de 540 nm.

5.2.6.7. **Sistema informático**, para el control instrumental y tratamiento de señales y datos.

6. TOMA DE MUESTRA

6.1. Bomba de muestreo

Bomba tipo P, que proporcione un caudal entre 1 l/min. y 5 l/min.

6.2. Muestreador y caudal de muestreo

Se selecciona un muestreador adecuado para la captación de la fracción inhalable del aerosol (9.13). El muestreador debe utilizarse siguiendo las instrucciones del fabricante, especialmente en lo referente al caudal de muestreo.

6.3. Tiempo de muestreo

El tiempo empleado en la captación de la muestra será ≥ 120 minutos, o, en su caso, el tiempo que dure la exposición durante la jornada de trabajo.

6.4. Volumen de muestreo

6.4.1. Volumen mínimo de muestreo. El volumen mínimo de aire utilizado para la toma de la muestra debe permitir cuantificar concentraciones medias de cromo VI en el ambiente, ponderadas durante el tiempo de muestreo, iguales al 10% de la concentración del valor límite ambiental establecido para el cromo VI (9.4). El volumen mínimo de muestreo es de 375 litros.

$$V_m = \frac{LOQ}{(0,1 \text{ VLA-ED})} \quad (\text{fórmula 6})$$

LOQ (límite de cuantificación de la técnica analítica): cantidad mínima de cromo VI en el filtro para poder ser cuantificada por el procedimiento de medida. Se ha estimado en 0,375 μg /filtro.

6.4.2. Volumen máximo de muestreo. En principio, el soporte no presenta ninguna limitación en este apartado. Si bien, volúmenes de muestreo excesivos en ambientes laborales muy pulverulentos pueden colmatar el filtro y provocar una caída en el caudal de aire seleccionado en la bomba de muestreo.

6.4.3. Volumen de muestreo recomendado (V_r). Se recomienda un volumen de muestreo entre 600 y 2000 litros en la toma de muestras para la determinación de cromo VI en la atmósfera de los lugares de trabajo. Este volumen puede ser mayor siempre que el ambiente no sea muy pulverulento y se garantice la no colmatación del filtro.

Tabla 1: Condiciones para la toma de muestra.

	Exposiciones diarias (VLA-ED = 0,01 mg/m³)
Bomba	Tipo P
Caudal	(1 – 5) litros/min
Tiempo	≥120 min. o duración de la exposición
Volumen mínimo	375 litros
Volumen máximo	No limitado
Volumen recomendado (Vr)	(600-2000) litros
Nº muestras/jornada y trabajador	1 ⁽¹⁾

6.5. Procedimiento de muestreo

6.5.1. Ajuste del caudal de la bomba. Se ajusta el caudal de la bomba requerido por el muestreador, empleando un medidor de caudal y un muestreador conteniendo un filtro de fibra de cuarzo impregnado con la disolución 1 M de NaOH del mismo lote que el utilizado en el muestreo.

- El filtro utilizado para la calibración no se debería utilizar para otro fin, por ejemplo, como blanco de campo o para la toma de muestra.

6.5.2. Montaje del filtro en el muestreador. Con la ayuda de unas pinzas planas se monta el filtro de fibra de cuarzo impregnado con una disolución 1 M de NaOH en el muestreador seleccionado (5.1.3). El muestreador, con el filtro incorporado, permanecerá convenientemente cerrado hasta el comienzo del muestreo. Antes de comenzar el muestreo, se retiran las protecciones del muestreador y se conecta éste a la bomba mediante un tubo flexible, asegurándose de que no existen fugas ni estrangulamientos.

6.5.3. Muestreos personales. Se coloca el muestreador en la zona de respiración del trabajador (por ejemplo, sujeto a la solapa). La bomba de muestreo se sujeta en el cinturón o en otro lugar apropiado de la ropa del trabajador evitando estrangulamientos del tubo flexible.

6.5.4. Muestreos en puntos fijos. Se debe elegir una localización adecuada en el puesto de trabajo o próxima a él, de forma que los resultados se puedan considerar representativos de la exposición del trabajador.

6.5.5. Inicio de la toma de muestra. Se pone en marcha la bomba, se anotan el caudal, la hora de comienzo y, si es necesario, la temperatura y la presión atmosférica.

6.5.6. Finalización del muestreo. Finalizada la toma de muestra, se desconecta la bomba y se retira el muestreador que se vuelve a cerrar para evitar pérdidas o contaminaciones durante su traslado al laboratorio. Se anotan el tiempo transcurrido desde el inicio del muestreo, la referencia de la muestra y todos los datos relativos al muestreo.

⁽¹⁾ En algunas situaciones, es necesario tomar más de una muestra durante la jornada laboral para evitar posibles colmataciones del filtro.

6.5.7. Verificación del caudal de muestreo. Se coloca de nuevo el muestreador y el filtro utilizado en el ajuste del caudal de la bomba, y se verifica que el caudal de la bomba es el seleccionado midiéndolo con el medidor de caudal utilizado. La muestra se considera no válida cuando la diferencia entre los caudales medidos antes y después de la toma de muestra supera el 5%.

6.5.8. Envío de las muestras. Las muestras se envían lo antes posible al laboratorio. El envío debe efectuarse en recipientes adecuados para prevenir posibles daños o pérdidas de muestra durante el transporte. Es necesario adjuntar a las muestras un blanco o filtro de fibra de cuarzo impregnado con la disolución 1 M de NaOH del mismo lote que el utilizado en el muestreo. Se recomienda un blanco por cada 10 muestras.

Las muestras se pueden almacenar a temperatura ambiente y son estables, al menos, durante 60 días.

7. MÉTODO DE ANÁLISIS

7.1. Preparación de muestras y blancos

Se deposita el filtro, con la muestra recogida, en un vaso de precipitados de 50 ml. Se añaden 10 ml de la disolución de extracción (4.2.4) y se extrae durante 2 horas, aproximadamente, en un baño de ultrasonidos. El filtro debe permanecer completamente sumergido en la disolución de extracción. Transcurrido el tiempo, se filtra el contenido del vaso de precipitados, utilizando para ello un filtro de la misma naturaleza que el utilizado en el muestreo (filtro de cuarzo) dispuesto en un equipo de filtración. El filtrado se recoge en un matraz de 25 ml y se enrasa con la disolución de extracción.

Las disoluciones de las muestras y blancos así preparadas están listas para el análisis.

- Se recomienda revisar visualmente si las partículas depositadas en el filtro se han desplazado de éste durante el transporte. Si esto ocurre, se deben recoger e incorporar a la muestra.

- En algunos muestreadores, las partículas que se depositan en las paredes interiores del portafiltros se deben considerar como parte integrante de la muestra y, por lo tanto, han de ser recuperadas e incorporadas a la muestra.

Preparación de muestras y blancos	
Disolvente	Disolución de extracción (4.2.4.)
Volumen	25 ml
Extracción	Baño ultrasonidos (2 horas)
Filtración	Equipo de filtración

7.2. Condiciones cromatográficas

Las condiciones para el análisis de las muestras y de los blancos por cromatografía iónica son las siguientes:

Cromatógrafo Iónico	
Columna	Dionex AS-7 o equivalente
Precolumna	Dionex AG-7 o equivalente
Temperatura del compartimento de columna	35°C
Fase móvil	Disolución 0,25 M (NH ₄) ₂ SO ₄ // 0,1 M NH ₄ OH
Caudal fase móvil	1,5 ml/min
Disolución derivatizante	Disolución 0,002 M de 1,5-difenilcarbazida
Caudal disolución derivatizante	0,5 ml/min
Volumen de inyección	50 µl
Detector	UV-visible: 540 nm
Tiempo de análisis	7 min

7.3. Calibración

Se preparan las disoluciones patrón de cromo VI para la calibración (véase apartado 4.2.5.3). Se analizan las disoluciones patrón, en las condiciones indicadas en el apartado 7.2, en orden creciente de concentración y se determina la respuesta analítica de cromo VI en términos de altura o área de pico cromatográfico.

A partir de las concentraciones de cromo VI en los patrones utilizados en la calibración y de sus señales analíticas respectivas, se establece la ecuación de la regresión de la señal analítica sobre la concentración de cromo VI.

$$A = mC + b \quad (\text{fórmula 7})$$

A: Respuesta analítica (área o altura del pico de la señal cromatográfica)

m: Pendiente de la recta de calibración,

C: Concentración de cromo VI, expresada en mg/l,

b: Ordenada en el origen de la recta de calibración.

NOTA: Para obtener la función de calibración (recta de regresión) es necesario utilizar un mínimo de tres patrones de calibración, con concentraciones en un rango entre el 50% y el 150% de la concentración esperada para las muestras.

7.4. Análisis de muestras y blancos

Las muestras y los blancos, preparados según lo establecido en 7.1, se analizan en las condiciones establecidas en 7.2 y se determina la respuesta analítica. La concentración de cromo VI en las muestras y en los blancos se obtienen a partir de la recta de regresión (fórmula 7), siendo la que corresponda a la señal analítica obtenida.

Cuando el resultado obtenido para la concentración de cromo VI en la muestra exceda la concentración del mayor patrón utilizado en la calibración, se diluye la muestra con

la disolución de extracción (4.2.4.) hasta que la concentración esté dentro del rango de calibración. Se deben hacer todas las diluciones necesarias y anotar los factores de dilución.

7.5. Concentración de cromo VI en el aire muestreado

Una vez determinada la concentración de cromo VI en las muestras y en el blanco (7.4), se calcula la concentración de cromo VI en el aire muestreado, en miligramos por metro cúbico.

$$C = \frac{(C_s - C_b) V_d 10^{-3}}{V} \times f \quad (\text{fórmula 8})$$

C: Concentración de cromo VI en el aire muestreado, en mg/m³

C_s: Concentración de cromo VI, en mg/l, en la disolución resultante de la extracción del filtro y obtenida mediante la recta de regresión.

C_b: Concentración de cromo VI, en mg/l, en la disolución resultante de la extracción del blanco y obtenida mediante la recta de regresión.

V_d: Volumen de la disolución de extracción, en ml, utilizado en la extracción de las muestras y del blanco (25 ml).

V: Volumen de aire, en m³, muestreado.

f: factor de dilución (si es necesario).

8. CARACTERÍSTICAS DEL MÉTODO

8.1. Límites de detección (LOD) y de cuantificación (LOQ) del método

El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) se han calculado a partir del análisis de 10 filtros de fibra de cuarzo impregnados con la disolución 1 M de NaOH, adicionados con una disolución de cromo VI. De acuerdo con el criterio establecido por la IUPAC (9.14), se calcula el límite de detección (LOD) como 3 veces la desviación estándar de las concentraciones de cromo VI obtenidas en el análisis de los 10 filtros adicionados. Se determina el límite de cuantificación (LOQ) como 10 veces esa desviación estándar (Anexo A.2).

LOD	0,125 µg/filtro
LOQ	0,375 µg/filtro

8.2. Recuperación analítica (RA)

La recuperación analítica (RA) se ha determinado a partir de filtros adicionados con cromato de plomo (PbCrO₄), y con filtros adicionados con cromato de plomo y cromato de potasio (PbCrO₄ + K₂CrO₄) (Anexo A.3).

La recuperación analítica se ha calculado como la relación entre la cantidad de cromo VI medida en el análisis (M_m) y la cantidad adicionada (M_a).

$$RA = \frac{M_m}{M_a} \quad (\text{fórmula 9})$$

	Filtros ($PbCrO_4$)	Filtros ($PbCrO_4 + K_2CrO_4$)
RA	0,916	0,918
% cv_i	3,5	3,0
RA_m	0,917	

8.3. Precisión analítica

La precisión analítica se ha determinado a partir de los resultados de muestras adicionadas con diferentes cantidades de cromo VI (Anexo A.4). Se constituyeron 4 grupos de concentración, de 6 muestras cada uno. La precisión analítica, expresada como el coeficiente de variación medio (cv) de los coeficientes de variación obtenidos para cada uno de los grupos de concentración de cromo VI ensayados (cv_i), se indica a continuación.

Precisión analítica				
	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
% cv_i	3,18	1,01	1,32	2,49
% cv	2,10			

8.4. Incertidumbre expandida del método (U)

Se calcula la incertidumbre expandida del método para la determinación de cromo VI a partir de todas las fuentes de incertidumbre asociadas al procedimiento de medida. Se utiliza para su cálculo el factor de cobertura $k=2$ (Anexo A.6).

Incertidumbre expandida (U)	
% U	26%

9. BIBLIOGRAFÍA

- 9.1. Norma ISO 16740:2003. Workplace air. Determination of hexavalent chromium in airborne particulate matter – Method by ion chromatography and spectrophotometric measurement using diphenyl carbazide.
- 9.2. Norma UNE-EN ISO 21832:2021. Aires en el lugar de trabajo. Metales y metaloides en partículas en suspensión en el aire. Requisitos para la evaluación de los procedimientos de medición.
- 9.3. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Protocolo de validación de los métodos de medida de metales y metaloides en partículas en suspensión en aire. MTA/PV-V/A19, 2019.
- 9.4. Instituto Nacional de Seguridad y Salud en el Trabajo (INSST). Límites de exposición profesional para agentes químicos en España 2022. Ministerio de Trabajo y Economía Social.
- 9.5. Norma UNE EN 482:2021. Requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos de medida de los agentes químicos.
- 9.6. Norma UNE EN 689:2019 + AC. Exposición en el lugar de trabajo. Medición de la exposición por inhalación de agentes químicos. Estrategia para verificar la conformidad con los valores límite de exposición profesional.
- 9.7. Norma UNE-EN 1540. Exposición en el lugar de trabajo-Terminología.
- 9.8. Reglamento (CE) nº 1272/2008. Sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas.
- 9.9. Norma UNE-EN ISO 3696:1996. Agua para uso en análisis de laboratorio. Especificación y métodos de ensayo.
- 9.10. Norma UNE EN ISO 13137:2014. Bombas para muestreos personales de agentes químicos y biológicos. Requisitos y métodos de ensayo.
- 9.11. Norma UNE-EN 481:1995. Atmósferas en los lugares de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles.
- 9.12. Norma UNE-EN 13205:2015. Atmósferas en los lugares de trabajo. Evaluación del funcionamiento de los instrumentos para la medición de concentraciones de aerosoles.
- 9.13. CEN/TR 15230:2005. Workplace atmospheres-Guidance for sampling of inhalable, thoracic and respirable aerosol fractions.
- 9.14. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of análisis. Technical report. Pure Appl. Chem. Vol 74, Nº 5, pp 835-855, 2002.

ANEXO A

VALIDACIÓN DEL MÉTODO DE MEDIDA

En este anexo se describen los ensayos llevados a cabo y los datos obtenidos en la validación del método para la determinación de cromo VI en aire. Los filtros utilizados para la validación han sido filtros de fibra de cuarzo impregnados con una disolución 1 M de NaOH, de 25 mm de diámetro y 0,45 μm de tamaño de poro. La pureza de los cromatos utilizados para la generación de las muestras utilizadas en la validación (cromato potásico y cromato de plomo) es mayor del 99%.

Las muestras utilizadas en los ensayos de validación consisten en filtros adicionados con cromato potásico (K_2CrO_4), y filtros adicionados con cromato potásico (K_2CrO_4) y cromato de plomo (PbCrO_4). Estas muestras han sido preparadas en el laboratorio, para lo cual se ha utilizado un molino de bolas horizontal, para la trituración de los cromatos de partida, y un generador de aerosoles de lecho fluidizado con caudal de aire de entrada regulable hasta 10 m/s, para la deposición en los filtros de los cromatos triturados.

La validación del método se ha llevado a cabo siguiendo los criterios establecidos en la norma UNE-EN 21832 (9.2).

A.1. GENERACIÓN DE LAS MUESTRAS.

Para la preparación de las muestras, se trituran durante 1 hora, mediante el empleo del molino de bolas, 3 gramos de cada uno de los cromatos anteriormente citados hasta su completa reducción a polvo fino. El polvo del cromato seleccionado se introduce en el lecho del generador de aerosoles por el que circula una corriente de aire a un caudal de 3,7 l/min. Esta corriente de aire arrastra el polvo hasta un filtro de fibra de cuarzo previamente pesado, donde quedan retenidas las partículas del compuesto de cromo.

Tras esta operación, se pesan de nuevo los filtros para determinar las cantidades del cromato depositadas sobre los mismos y, teniendo en cuenta la relación estequiométrica en cada sal, se obtiene la cantidad de cromo VI depositada.

A.2. LÍMITES DE DETECCIÓN (LOD) Y DE CUANTIFICACIÓN (LOQ).

El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) del método, se han determinado, de acuerdo con los criterios de la IUPAC (9.13), como tres y diez veces, respectivamente, la desviación típica de los resultados obtenidos del análisis de 10 filtros adicionados con 50 μl de una disolución de 16 mg/l de cromo VI. (Tabla A.1).

Tabla A.1: Límites de detección y cuantificación del método de medida.

Límites de detección y cuantificación					
μg adicionados. ⁽¹⁾	μg análisis. ⁽²⁾	n ⁽³⁾	s ⁽⁴⁾ ($\mu\text{g}/\text{filtro}$)	LOD ($\mu\text{g}/\text{filtro}$)	LOQ ($\mu\text{g}/\text{filtro}$)
0,80	0,780	10	0,0375	0,125	0,375

⁽¹⁾ Cantidad de Cromo VI adicionada a los filtros.

⁽²⁾ Valor medio de los resultados de Cromo VI obtenidos en el análisis.

⁽³⁾ n° de filtros.

⁽⁴⁾ desviación típica de los resultados.

A.3. RECUPERACIÓN ANALÍTICA (RA)

Para determinar la recuperación analítica, se han preparado filtros adicionados con cromato de plomo (PbCrO_4), y filtros adicionados con cromato de plomo y cromato de potasio ($\text{PbCrO}_4 + \text{K}_2\text{CrO}_4$). Estos filtros se han generado y preparado para el análisis según los procedimientos descritos en los apartados A.1 y 7.1. Los resultados obtenidos se indican en las tablas A.2 y A.3.

Tabla A.2. Recuperación analítica de cromo VI obtenida a partir de filtros adicionados con PbCrO_4 .

Filtros adicionados con PbCrO_4		
m_1	m_2	% RA
2,41	2,17	90,1
2,57	2,29	89,0
3,38	3,05	90,4
3,70	3,22	87,0
4,50	4,14	92,0
5,63	4,79	85,0
5,63	5,41	96,0
7,24	6,55	90,4
7,56	6,88	91,0
8,20	7,92	96,5
8,53	8,24	96,6
8,53	8,13	95,4
8,69	7,57	87,1
9,01	8,20	91,0
9,33	8,72	93,4
9,81	8,78	89,5
10,30	9,85	95,7
11,58	10,67	92,1
12,57	12,30	95,6
14,32	12,73	88,9
% RA media		91,6%
Coefficiente de variación		3,5%

m_1 : microgramos de cromo VI, adicionados al filtro.

m_2 : microgramos de cromo VI, obtenidos en el análisis.

% RA: Recuperación analítica de cromo VI, en porcentaje.

Tabla A.3: Recuperación analítica de cromo VI, obtenida a partir de filtros adicionados con $\text{PbCrO}_4 + \text{K}_2\text{CrO}_4$.

Filtros adicionados con $\text{PbCrO}_4 + \text{K}_2\text{CrO}_4$				
μg adicionados de Cr VI (K_2CrO_4)	μg adicionados de Cr VI (PbCrO_4)	m_1	m_2	% RA
3,48	2,17	7,18	6,96	96,9
4,28	2,29	9,59	8,53	88,9
4,82	3,05	13,02	12,02	92,3
5,62	3,22	14,47	13,57	93,8
6,43	4,14	13,51	12,35	91,4
7,50	4,79	11,84	10,85	91,6
8,84	5,41	16,24	14,43	88,8
10,44	6,55	13,34	11,74	88,0
10,98	6,88	17,09	16,11	94,3
12,58	7,92	14,99	13,81	92,1
% RA media				91,8%
Coefficiente de variación				3,0%

m_1 : microgramos totales de cromo VI adicionados a los filtros ($\text{K}_2\text{CrO}_4 + \text{PbCrO}_4$)

m_2 : microgramos totales de cromo VI obtenidos en el análisis ($\text{K}_2\text{CrO}_4 + \text{PbCrO}_4$)

% RA: recuperación analítica en porcentaje.

A.4. PRECISIÓN ANALÍTICA.

La precisión analítica se ha determinado a partir del análisis de 24 filtros adicionados con cantidades diferentes de cromo VI con el objeto de cubrir el rango de aplicación del método, y preparados como se indica a continuación:

- 6 filtros adicionados con 50 μl de una disolución de 30 mg/l de cromo VI (1,50 μg de cromo VI en el filtro)
- 6 filtros adicionados con 50 μl de una disolución de 448,87 mg/l de cromo VI (22,44 μg de cromo VI en el filtro)
- 6 filtros adicionados con 150 μl de la disolución de 448,87 mg/l de cromo VI (67,33 μg de cromo VI en el filtro)
- 6 filtros adicionados con 250 μl de la disolución de 448,87 mg/l de cromo VI (112,22 μg de cromo VI en el filtro)

La tabla A.4 recoge los resultados obtenidos en el ensayo.

Tabla A.4: Precisión analítica del método de análisis para cada uno de los niveles de concentración de cromo VI.

Precisión analítica				
µg de cromo VI adicionados	1,50	22,44	67,33	112,22
µg de cromo VI analizados	1,34	22,72	67,88	108,86
	1,30	22,74	68,24	113,73
	1,24	23,13	69,14	115,99
	1,28	22,69	67,15	110,62
	1,34	22,41	66,62	113,49
		22,78	68,28	
Promedio resultados analizados	1,30 µg	22,74 µg	67,88 µg	112,54 µg
Desviación típica resultados analizados	0,0413 µg	0,2302 µg	0,8946 µg	2,8061 µg
Coefficiente de variación	3,18%	1,01%	1,32%	2,49%
Precisión analítica	2,10 %			

La precisión analítica del procedimiento de medida en la determinación de cromo VI se puede estimar a partir del promedio de los resultados obtenidos para el coeficiente de variación (Precisión analítica es del 2,10%).

A.5. ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

La influencia en la recuperación de cromo VI, asociada al almacenamiento de las muestras, se ha estimado a partir de los resultados obtenidos en muestras analizadas inmediatamente después de su preparación y en muestras analizadas después del periodo de almacenamiento.

El estudio se ha llevado a cabo con 36 filtros, adicionados con K_2CrO_4 y preparados de acuerdo con el procedimiento de generación de muestras descrito en el apartado A.1.

- 12 filtros se analizan inmediatamente tras su preparación.
- 12 filtros se analizan tras 25 días almacenados a temperatura ambiente.
- 12 filtros se analizan después de 60 días almacenados a temperatura ambiente.

La tabla A.5 recoge los resultados obtenidos del ensayo de almacenamiento.

Tabla A.5: Efecto del almacenamiento de muestras en los resultados de cromo VI.

Almacenamiento a temperatura ambiente								
Análisis inmediato			Almacenamiento 25 días			Almacenamiento 60 días		
m_1	m_2	% RA	m_1	m_2	% RA	m_1	m_2	% RA
8,84	7,83	88,6	8,49	7,95	93,6	10,60	8,67	88,2
14,19	12,36	87,0	10,96	9,91	90,4	15,20	14,19	93,4
14,80	13,31	89,9	12,37	10,66	86,2	15,55	14,02	90,3
15,53	14,41	92,8	12,73	10,91	85,7	17,67	14,88	84,2
16,87	14,46	85,7	15,55	14,10	90,7	18,03	15,74	87,5
19,55	17,55	89,8	16,97	14,97	88,2	18,38	15,48	84,3
19,82	17,74	89,5	19,44	17,54	90,2	18,73	16,42	87,7
21,69	18,77	86,5	19,80	17,46	88,2	21,21	18,23	85,8
22,50	22,03	97,9	20,86	18,53	88,8	24,74	21,51	87,1
23,30	20,21	86,7	25,10	22,57	89,9	29,69	26,71	89,9
28,65	26,10	91,1	27,93	25,61	91,7	33,58	30,12	89,6
33,21	30,49	91,8	28,68	25,64	89,4	58,68	52,68	89,8
Recuperación media		90,1%	Recuperación media		89,4%	Recuperación media		88,2%
Coefficiente variación		3,4%	Coefficiente variación		2,2%	Coefficiente variación		2,6%

m_1 : microgramos de cromo VI, adicionados al filtro

m_2 : microgramos de cromo VI, obtenidos en el análisis

% RA: recuperación analítica de cromo VI, en porcentaje.

Los resultados obtenidos del ensayo indican que las muestras conteniendo aerosoles sólidos de cromo VI son estables, al menos durante 60 días, conservadas a temperatura ambiente.

A.6. INCERTIDUMBRE DEL PROCEDIMIENTO DE MEDIDA.

Las principales componentes de incertidumbre en la medida de la concentración de cromo VI en aire son las asociadas al muestreo y al análisis. La incertidumbre en %, asociada a cada apartado, se ha estimado haciendo uso de la información obtenida durante la validación del método, y de acuerdo con los criterios y recomendaciones establecidos en la norma UNE-EN ISO 21832 (9.2).

La tabla A.6 recoge los resultados obtenidos.

Tabla A.6: Incertidumbre de medida obtenida en la validación del método.

Componente de incertidumbre		Observaciones
<i>Incertidumbre asociada al muestreo</i>		
Volumen de aire muestreado		
Medida del caudal	1,13%	Certificado de calibración del medidor
Estabilidad del caudal	2,80%	Estabilidad del 5% asumida (9.6)
Tiempo de muestreo	0,00%	para muestreos > 2 h
Eficacia de muestreo	8,50%	Asumida para muestreadores de la fracción inhalable (9.11)
Transporte	2,80%	Asumida (9.11)
Almacenamiento	1,2%	Resultados obtenidos en A.5 (hasta 60 días)
<i>Incertidumbre asociada al análisis</i>		
Recuperación analítica		
Sesgo	8,3%	Resultado obtenido en A.3
Variabilidad analítica		
Precisión analítica	2,10%	Resultado obtenido en A.4
Patrones de calibración	1,30%	Máxima asumida
Función de calibración	2,00%	Asumida
Deriva instrumental	1,15%	Criterio interno del laboratorio
<i>Incertidumbre de medida</i>		
Incertidumbre combinada (Uc)		13%
Incertidumbre expandida U (K=2)		26%



GOBIERNO
DE ESPAÑA

MINISTERIO
DE TRABAJO
Y ECONOMÍA SOCIAL



Instituto Nacional de
Seguridad y Salud en el Trabajo