

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

MTA/MA – 063/A14



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE EMPLEO  
Y SEGURIDAD SOCIAL



INSTITUTO NACIONAL  
DE SEGURIDAD E HIGIENE  
EN EL TRABAJO

**Título:**

Determinación de cromo hexavalente en aire (fracción inhalable) – Método de captación en filtro / Cromatografía iónica

**Autor:**

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT)

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

- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene 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

**Dirección y Coordinación de la colección:**

Centro Nacional de Verificación de Maquinaria - Vizcaya

**Edita:**

Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT)  
C/ Torrelaguna, 73 - 28027 Madrid  
Tel. 91 363 41 00, fax 91 363 43 27  
[www.insht.es](http://www.insht.es)

**Composición:**

Servicio de Ediciones y Publicaciones del INSHT

**Edición:**

Madrid, diciembre 2015

**NIPO** (en línea): 272-15-071-2

**Hipervínculos:**

El INSHT 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 INSHT del sitio web, del propietario del mismo o de cualquier contenido específico al que aquel redirija

Catálogo general de publicaciones oficiales:

<http://publicacionesoficiales.boe.es>

Catálogo de publicaciones del INSHT:

<http://www.insht.es/catalogopublicaciones/>





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

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

### 1 OBJETO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Este método describe el procedimiento a seguir y el equipo necesario para la determinación de la concentración de cromo hexavalente, Cr(VI), en el aire de los lugares de trabajo, mediante la captación en filtro y análisis por cromatografía iónica con detector ultravioleta - visible (UV-Vis).

El método permite la determinación de Cr(VI) proveniente de especies solubles, insolubles y de Cr(VI) total (11.1).

El método se ha validado en el intervalo de 0,5 µg/filtro a 100 µg/filtro de Cr(VI), que corresponde a un intervalo de concentraciones en disolución de 0,02 mg/l a 4 mg/l para un volumen final de 25 ml, y de concentraciones en aire de 0,001 mg/m<sup>3</sup> a 0,2 mg/m<sup>3</sup> para un volumen de muestreo supuesto de 500 litros de aire.

Este intervalo comprende valores que van desde la décima parte al doble de los valores límite ambientales de exposición diaria (VLA-ED) establecidos para todos los compuestos de Cr(VI) (11.2).

Este método de toma de muestras y análisis se ha desarrollado para determinar concentraciones medias ponderadas en el tiempo de cromo hexavalente en 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 (11.3) y (11.4). También podría utilizarse para realizar mediciones de evaluación inicial de la concentración media ponderada en el tiempo (11.3).

### 2 DEFINICIONES

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 aerosoles

Dispositivo que se utiliza para transportar las partículas en suspensión en el aire a un elemento de retención.

#### 2.4 Muestreador de la fracción inhalable

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

#### 2.5 Elemento de retención

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

#### NOTA 1:

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

#### NOTA 2:

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

#### 2.6 Sistema de muestreo

Conjunto de componentes cuya misión es separar la fracción del aerosol de interés (inhalable, torácica o respirable) y recogerla en un determinado elemento de retención. La bomba de muestreo, el muestreador y el elemento de retención forman parte del sistema de muestreo.

#### 2.7 Muestra recogida

Producto del proceso del muestreo de aire que está constituido únicamente por los agentes químicos y/o biológicos.

## 2.8 Procedimiento de medida

Conjunto de operaciones descritas específicamente para el muestreo y el análisis de los agentes químicos o biológicos en el aire.

## 2.9 Sesgo

Desviación del resultado obtenido aplicando un método de medida con respecto a la concentración de referencia.

### NOTA:

*La concentración de referencia puede ser, por ejemplo, el valor certificado de un material de referencia, la concentración de una atmósfera de ensayo patrón o el valor diana de una comparación interlaboratorios.*

## 2.10 Precisión

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

## 2.11 Límite de detección, LOD

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

### NOTA 1:

*El LOD puede calcularse como tres veces la desviación típica de las medidas del blanco.*

### NOTA 2:

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

## 2.12 Límite de cuantificación, LOQ

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

### NOTA 1:

*El LOQ se puede calcular como la cantidad de analito que proporciona una señal igual a la señal del blanco más diez veces la desviación típica de las medidas de un blanco.*

### NOTA 2:

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

## 2.13 Incertidumbre

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

## 2.14 Incertidumbre de medida

Parámetro asociado al resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de valores que podrían ser razonablemente atribuidos a la concentración de agente químico en aire.

## 3 FUNDAMENTO DEL MÉTODO

La muestra se recoge haciendo pasar un volumen de aire determinado a través de un filtro incorporado en un muestreador de la fracción inhalable, con objeto de recoger los compuestos inorgánicos de cromo presentes en el aire de los lugares de trabajo.

La muestra recogida se extrae para obtener una disolución de las especies del Cr(VI) presentes en la misma. Los compuestos solubles se extraen con una disolución tampón de 0,05 M  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  / 0,05 M  $\text{NH}_4\text{OH}$  (pH = 8). Los compuestos insolubles de Cr(VI) y el Cr(VI) total se extraen con una disolución de 2%  $\text{NaOH}$  / 3%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ .

Las disoluciones resultantes se analizan por cromatografía iónica con derivatización pos-columna del Cr(VI) con 1,5-difenilcarbazida en medio ácido, y detección del complejo de Cr(VI) formado a la longitud de onda de 540 nm. A partir de la cantidad de Cr(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) nº 1272/2008 sobre clasificación, envasado y etiquetado de sustancias y mezclas (11.5).

**4.1.1 Agua purificada**, la conductividad eléctrica será menor de 0,1  $\mu\text{S}/\text{cm}$  y la resistividad mayor de 18  $\text{M}\Omega\cdot\text{cm}$  a 25 °C.

**4.1.2 Ácido sulfúrico ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ )**, 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 ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ )**, pureza 99,5%. N° CAS 497-19-8.

PRECAUCIÓN: Sustancia irritante para los ojos.

**4.1.4 Sulfato amónico  $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$** , pureza 99,5%. N° CAS 7783-20-2

**4.1.5 Hidróxido amónico (NH<sub>4</sub>OH)**, 25% (V/V).  
Nº CAS 1336-21-6.

PRECAUCIÓN: Sustancia corrosiva para la piel.

**4.1.6 Hidróxido sódico (NaOH)**, pureza superior al 99,5%. Nº CAS 1310-73-2.

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

**4.1.7 Metanol (CH<sub>3</sub>OH)**, calidad para análisis.  
Nº CAS 67-56-1.

PRECAUCIÓN: Sustancia inflamable. Toxicidad aguda.

**4.1.8 1,5-Difenilcarbazona [(C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>.NH.NH)<sub>2</sub>CO]**, pureza > 98%. Nº CAS 140-22-7.

## 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**, 0,25 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / 0,1 M NH<sub>4</sub>OH. Se disuelven 33 gramos de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en 400 ml de agua. Se añaden 7,5 ml de NH<sub>4</sub>OH al 25% (V/V) 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 H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> y se enrasa hasta 250 ml con agua. Esta disolución es estable durante 15 días.

### 4.2.4 Disoluciones de extracción

**4.2.4.1 Disolución tampón para la extracción de cromatos solubles**, 0,05 M (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> / 0,05 M NH<sub>4</sub>OH (pH = 8). Se disuelven 6,6 gramos de (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> en 200 ml de agua destilada. Se añaden 3,7 ml de NH<sub>4</sub>OH al 25% (V/V) y se enrasa a 1 litro con agua.

**4.2.4.2 Disolución para la extracción de cromatos insolubles y de cromatos totales**, 2% NaOH / 3% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Se disuelven 20 gramos de NaOH en 400 ml de agua. Se añaden 30 gramos de Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> y se enrasa a 1 litro con agua.

### 4.2.5 Disoluciones de cromo hexavalente Cr(VI)

**4.2.5.1 Disolución estándar**, disolución comercial con un valor certificado de concentración de 1000 mg/l de CrO<sub>4</sub><sup>2-</sup> (448,27 mg/l de cromo hexavalente). Es necesario observar la fecha de caducidad dada por el fabricante.

**4.2.5.2 Disolución intermedia para cromatos solubles**, de 10 mg/l de Cr(VI). Se prepara por dilución de la disolución estándar (véase apartado 4.2.5.1) con la disolución para la extracción de cromatos solubles (véase apartado 4.2.4.1). Esta disolución es estable durante 3 meses.

**4.2.5.3 Disolución intermedia para cromatos insolubles**, de 2,0 mg/l de Cr(VI). Se prepara por dilución de la disolución estándar (véase apartado 4.2.5.1) con la disolución para la extracción de cromatos insolubles (véase apartado 4.2.4.2). Esta disolución es estable durante 15 días.

**4.2.5.4 Disoluciones patrón para la calibración de cromatos solubles**, en el intervalo de 0,05 mg/l a 4,00 mg/l. Se preparan, al menos, diez disoluciones patrón, diluyendo volúmenes apropiados de la disolución intermedia para cromatos solubles (véase apartado 4.2.5.2) con la disolución de extracción correspondiente (véase apartado 4.2.4.1).

**4.2.5.5 Disoluciones patrón para la calibración de cromatos insolubles y cromo total** en el intervalo de 0,02 mg/l a 1,00 mg/l. Se preparan al menos diez disoluciones patrón, diluyendo volúmenes apropiados de la disolución intermedia para cromatos insolubles (véase apartado 4.2.5.3) con la disolución de extracción correspondiente (véase apartado 4.2.4.2).

## 5 APARATOS Y MATERIAL

### 5.1 Aparatos y material para la toma de muestra

**5.1.1 Bomba de muestreo**, 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% (11.6).

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

**5.1.2 Medidor de caudal** calibrado, capaz de medir el caudal de la bomba dentro del 5% del valor requerido.

NOTA:

*Es recomendable la utilización de un medidor de caudal de burbuja ya que sus lecturas son independientes de la temperatura y de la presión atmosférica.*

**5.1.3 Muestreador**, diseñado para captar la fracción inhalable de partículas del aerosol definidas en la norma UNE-EN 481 (11.7), y que cumpla con lo establecido en la norma UNE-EN 13205 (11.8), relativa al funcionamiento de los instrumentos para la medición de concentraciones de aerosoles.

NOTA:

*El documento CR-03/2006 (11.9) recoge una serie de muestreadores utilizados para la toma de muestra de la fracción inhalable de materia particulada.*

**5.1.4 Filtro** de diámetro adecuado para utilizar con el muestreador seleccionado que garantice una eficacia de retención no inferior al 99%, fabricado con un material que no reaccione con el Cr(VI) reduciéndolo a Cr(III), y

que sea compatible con el procedimiento de preparación y análisis de la muestra.

**NOTA 1:**

*Para el muestreo de compuestos inorgánicos de cromo (VI) generados como aerosoles sólidos, los filtros de fibra de cuarzo, PVC, PVF y PTFE representan una buena opción como elementos de retención. Los filtros de esteres de celulosa no son aceptables.*

**NOTA 2:**

*Para el muestreo de compuestos inorgánicos de cromo (VI) generados como nieblas, por ejemplo ácido crómico, se recomienda utilizar filtros de fibra de vidrio (FV) o filtros impregnados con hidróxido sódico. La preparación de los filtros impregnados se realiza mediante la inmersión de los mismos en una disolución de hidróxido sódico 1 M (véase apartado 4.2.1) durante 24 horas. Finalmente, los filtros se retiran y se dejan secar al aire (11.1).*

**5.1.5 Pinzas de punta plana** y 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 diferente volúmenes.

**5.2.3 Equipo de filtración.**

**5.2.4 Balanza analítica**, con una resolución de  $\pm 1$  mg como mínimo.

**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 protegerla. Se puede utilizar la precolumna Dionex AG-7.

**5.2.6.3 Columna cromatográfica** de intercambio aniónico. Se puede utilizar la columna 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-difenilcarbazida (véase apartado 4.2.3) en el intervalo de 0,1 ml/min a 2 ml/min.

**5.2.6.6 Detector de absorbancia UV-Vis**, capaz de medir a la longitud de onda de 540 nm.

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

**6 TOMA DE MUESTRA**

**6.1 Selección y uso del muestreador**

Se selecciona un muestreador adecuado para la captación de la fracción inhalable del aerosol (véase apartado 5.1.3). El muestreador debe utilizarse siguiendo las instrucciones del fabricante, especialmente en lo referente al caudal de muestreo (11.9).

**6.2 Tiempo de muestreo**

El tiempo de muestreo será apropiado para garantizar la validez de la evaluación de exposición laboral, evitando la colmatación del filtro y permitirá la determinación del analito con una incertidumbre expandida aceptable.

El tiempo mínimo de muestreo requerido para asegurarse de que la cantidad de analito recogida es mayor que el límite de cuantificación analítico puede estimarse aplicando la ecuación (1):

$$t_{\min} = \frac{\text{LOQ}}{Q \times (0,1 \times \text{VLA-ED})} \quad (1)$$

donde:

$t_{\min}$  es el tiempo mínimo de duración del muestreo, en minutos;

LOQ es el límite de cuantificación analítico, en  $\mu\text{g}$ ;

Q es el caudal nominal del muestreador, en l/min; y VLA-ED es el valor límite de exposición diaria, en  $\text{mg}/\text{m}^3$ .

**NOTA:**

*Si el tiempo mínimo de muestreo es mayor que la duración de la tarea que se intenta medir, debería considerarse la posibilidad de utilizar un muestreador diseñado para ser usado a un caudal de muestreo mayor.*

**6.3 Procedimiento de muestreo**

**6.3.1** Con la ayuda de unas pinzas planas se monta el filtro seleccionado para la toma de muestra (véase apartado 5.1.4) en el muestreador. El muestreador, con el filtro incorporado, deberá permanecer convenientemente cerrado hasta el comienzo del muestreo.

**6.3.2** Se calibra la bomba de muestreo al caudal requerido por el muestreador, empleando un medidor de caudal y un muestreador conteniendo un filtro del mismo lote que el utilizado en el muestreo.

**NOTA:**

*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.*

**6.3.3** Antes de comenzar el muestreo se retiran las protecciones del muestreador y se conecta este a la bomba mediante un tubo flexible, asegurándose de que no existan fugas ni estrangulamientos.

**6.3.4** Para muestreos personales se coloca el muestreador en la zona respiratoria del trabajador, por ejemplo sujeto a la solapa, y la bomba de muestreo se sujeta en el cinturón o en otro lugar apropiado de la ropa del trabajador evitando estrangulamientos del tubo flexible. Para mediciones en un punto fijo se debe elegir una localización adecuada para el muestreo (11.4).

**6.3.5** Para iniciar el muestreo se pone en marcha la bomba y se anota la hora de comienzo de la toma de muestra.

**6.3.6** Al finalizar la toma de muestra se anota el tiempo transcurrido desde el inicio del muestreo. Se retira el muestreador del sistema de muestreo y se vuelve a cerrar para evitar pérdidas o contaminaciones durante su traslado al laboratorio. Se anotan la referencia de la muestra y todos los datos relativos al muestreo.

**6.3.7** Con el mismo muestreador y filtro utilizados en la calibración previa se verificará y anotará el caudal de la bomba tras el muestreo. La muestra se considera no válida cuando la diferencia entre los caudales medidos antes y después de la toma de muestra supera el 5%.

**6.3.8** Por cada lote de muestras se adjuntarán uno o dos filtros que serán etiquetados como blancos de campo. Estos filtros habrán sido sometidos exactamente a la misma

manipulación que las muestras, excepto que a través de ellos no se habrá hecho pasar aire. Se recomienda un blanco de campo por cada 10 filtros de muestra.

**6.3.9** Las muestras se enviarán lo antes posible al laboratorio. El envío debe efectuarse en recipientes adecuados para prevenir posibles daños o pérdidas de muestra durante el transporte. Se pueden almacenar a temperatura ambiente y permanecen estables al menos durante 60 días.

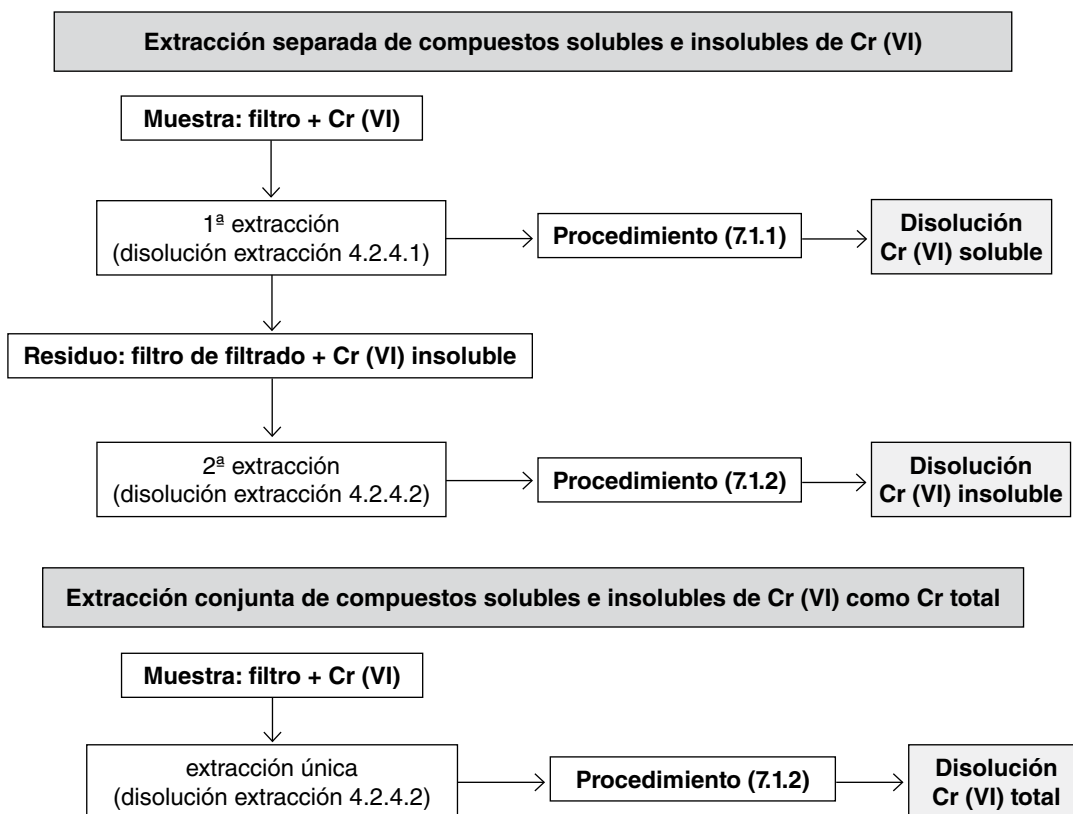
Para compuestos inorgánicos de Cr(VI) provenientes de procesos que generan aerosoles líquidos ácidos, por ejemplo ácido crómico, se recomienda un tiempo de almacenamiento no superior a 15 días.

**7 PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS**

El procedimiento de análisis permite determinar Cr(VI) procedente de compuestos inorgánicos solubles, insolubles y Cr(VI) total. El tratamiento de la muestra y en especial el procedimiento de extracción empleado difieren en cada caso.

**7.1 Preparación de las muestras**

Los procedimientos para la preparación de muestras y blancos de campo se aplican en función de la especie de Cr(VI) a determinar. En el siguiente esquema se representan los procedimientos para disolver el cromo hexavalente recogido en la muestra:



En algunos muestreadores las partículas que se depositan en las paredes interiores del portafiltras son parte integrante de la muestra recogida y por lo tanto han de ser recuperadas y tratadas como tal.

Previo a la preparación de la muestra, se recomienda revisar visualmente si las partículas depositadas en el filtro se han desplazado de este durante el transporte.

#### 7.1.1 Procedimiento de preparación de muestras para la determinación de Cr(VI) soluble

- Se deposita el filtro con la muestra recogida en un vaso de precipitados de 50 ml. Se añaden 10 ml de la disolución para la extracción de cromatos solubles (véase apartado 4.2.4.1).
- Se agita la disolución durante unos 60 minutos a temperatura ambiente. El filtro debe permanecer completamente sumergido en la disolución de extracción.
- Se filtra el contenido del vaso a través de un filtro, de la misma naturaleza que el utilizado en el muestreo, dispuesto en el equipo de filtración. El filtrado se recoge en un matraz de 25 ml asegurándose de que se realiza el trasvase completo de la muestra. Finalmente, se enrasa a 25 ml con la disolución de extracción para cromatos solubles (véase apartado 4.2.4.1).
- Las disoluciones de las muestras así preparadas están listas para su análisis.

Una vez extraídos los compuestos solubles, el residuo (el filtro de toma de muestra y el filtro utilizado en la filtración durante la extracción de cromatos solubles) se puede someter a una segunda extracción según el procedimiento descrito en el apartado 7.1.2 para la determinación de los compuestos insolubles.

#### 7.1.2 Procedimiento para la preparación de muestras para la determinación de Cr(VI) insoluble o de Cr(VI) total

- Se deposita el filtro con la muestra recogida o el residuo obtenido en el apartado 7.1.1 en un vaso de precipitados de 50 ml. Se añaden 10 ml de la disolución para la extracción de los cromatos insolubles (véase apartado 4.2.4.2) y se extrae durante 2 horas aproximadamente en un baño de ultrasonidos. El filtro debe permanecer completamente sumergido en la disolución de extracción.
- Se filtra el contenido del vaso a través de un filtro, de la misma naturaleza que el utilizado en el muestreo, dispuesto en el equipo de filtración. El filtrado se recoge en un matraz de 25 ml y se enrasa con la disolución de extracción para cromatos insolubles (véase apartado 4.2.4.2).
- Las disoluciones de las muestras así preparadas están listas para su análisis.

#### 7.2 Condiciones instrumentales para el análisis

Las condiciones instrumentales para el análisis son las siguientes:

Caudal eluyente	1,5 ml/min
Volumen de inyección	50 µl
Temperatura del horno	35 °C
Caudal de la disolución derivatizante	0,5 l/min
Longitud de onda	540 nm

#### 7.3 Calibración

Para cada especie de interés, soluble o insoluble/total, se preparan las disoluciones patrón para la calibración, tal como se indica en los apartados 4.2.5.4 y 4.2.5.5. Se analizan las disoluciones, en las condiciones indicadas en el apartado 7.2, en orden creciente de concentración y se determina la respuesta analítica del Cr(VI) en términos de altura o área del pico cromatográfico.

En función de la concentración y de la respuesta analítica se establece, para cada especie, la ecuación de regresión lineal expresada como (2):

$$A = (a \times c_p) + b \quad (2)$$

donde:

- A es la respuesta analítica de cada disolución patrón de calibración;
- a es la pendiente de la recta de calibración;
- $c_p$  es la concentración, en mg/l, de Cr(VI); y
- b es la ordenada en el origen de la recta de calibración.

#### NOTA:

*Una vez comprobado que la calibración es lineal en el intervalo de aplicación del método, se puede utilizar una función de calibración, con al menos tres patrones, en un intervalo reducido, por ejemplo entre el 50% y el 150% de la concentración esperada (11.10).*

#### 7.4 Análisis de muestras

Se analizan las disoluciones de las muestras y de los blancos en las condiciones descritas en el apartado 7.2 y se determina su respuesta analítica. La concentración de Cr(VI), en mg/l, se obtiene por interpolación de la respuesta analítica en la recta de calibración obtenida en el apartado 7.3.

Cuando se encuentren altas concentraciones de Cr(VI), se diluye una alícuota de la disolución de la muestra utilizando la misma disolución de extracción, con objeto de que la concentración resultante esté dentro del intervalo de calibración. Se deben hacer todas las diluciones necesarias y anotar los factores de dilución.

#### 8 CONTROL DE CALIDAD

Los equipos e instrumentos utilizados durante el análisis y la toma de muestra deben estar incluidos en un programa de mantenimiento, calibración y control de ca-



lidad debidamente documentado y recogido en el procedimiento de trabajo.

El laboratorio debe disponer de un sistema de control de calidad interno que permita identificar y actuar ante situaciones donde la calidad de las determinaciones del laboratorio pueda verse comprometida. Asimismo, es conveniente que el laboratorio participe en programas de control de calidad externos donde pueda contrastar la calidad de sus determinaciones analíticas.

## 9 CÁLCULOS

### 9.1 Cantidad de Cr(VI) presente en la muestra

Se calcula la cantidad de Cr(VI) en la muestra recogida de acuerdo con la ecuación (3):

$$m = c_m \times v_d \times f \quad (3)$$

donde:

$m$  es la masa de Cr(VI), en mg, en la muestra;

$c_m$  es la concentración de Cr(VI), en mg/l, obtenida a partir de la curva de calibración;

$v_d$  es el volumen de disolución de la muestra en litros; y

$f$  es el factor de dilución.

NOTA:

*Los resultados de los análisis de los blancos de campo se utilizan para identificar la contaminación que proviene de la manipulación en campo y durante el transporte.*

### 9.2 Determinación de la concentración de Cr(VI) en aire

Se calcula la concentración de Cr(VI) en aire a partir de la cantidad de Cr(VI) en el filtro y el volumen de aire de acuerdo con la ecuación (4):

$$C = \frac{m}{V} \quad (4)$$

donde:

$C$  es la concentración de Cr(VI), en mg/m<sup>3</sup>, en aire;

$m$  es la cantidad de Cr(VI), en mg, en la muestra; y

$V$  es el volumen de aire en m<sup>3</sup>.

### 9.3 Expresión del resultado final

Se recomienda que la concentración de cromo hexavalente en aire se indique junto con su incertidumbre expandida,  $U$ , como:

$$C \text{ (mg/m}^3\text{)} \pm U \% \text{ (} k = 2\text{)}$$

donde:

$C$  es la concentración de Cr (VI) en aire, en mg/m<sup>3</sup>;

$U$  es la incertidumbre expandida, en %; y

$k$  es el factor de cobertura para un nivel de confianza dado ( $k = 2$  supone un nivel de confianza del 95%).

NOTA:

*Conviene indicar el procedimiento utilizado para calcular la incertidumbre expandida y el factor de cobertura seleccionado. El valor numérico de la incertidumbre debe expresarse, como máximo, con dos cifras significativas. El valor numérico de la concentración del agente químico en el aire debe redondearse a la menor cifra significativa de la incertidumbre expandida en valor absoluto.*

## 10 CARACTERÍSTICAS DEL METODO

Este método de toma de muestras y análisis minimiza las fuentes de error asociadas con los procesos de oxidación/reducción en los que pueden estar involucradas las especies Cr(VI) y Cr(III) durante el muestreo y/o la preparación de la muestra. Asimismo, este método elimina las principales interferencias químicas que reaccionan con 1,5-difenilcarbazida (11.1).

Las características de funcionamiento del método se han estimado a partir de los datos obtenidos en la validación utilizando filtros de PVC, preparados con un generador de aerosoles de lecho fluidizado (véase el anexo A).

**10.1** El intervalo de trabajo del método está comprendido entre 0,5 µg/muestra y 100 µg/muestra de Cr (VI). Para un volumen de muestreo de 500 litros de aire corresponde a un intervalo de 0,001 mg/m<sup>3</sup> a 0,2 mg/m<sup>3</sup> de Cr(VI) en aire.

**10.2** Los límites de detección (LOD) y cuantificación (LOQ) analíticos, estimados sobre filtros adicionados son, respectivamente, 0,112 µg/muestra y 0,375 µg/muestra (véase A.2).

**10.3** La recuperación analítica, para las distintas especies de Cr(VI), es del 91% con un coeficiente de variación del 3,3% (véase A.3).

**10.4** La precisión analítica es del 2,10% (véase A.4).

**10.5** La incertidumbre expandida asociada a la medida de la concentración de Cr(VI) en aire, en el intervalo de aplicación del método, es  $U = \pm 22 \% (k = 2)$ .

## 11 BIBLIOGRAFÍA

**11.1** ISO 16740. Workplace air – “Determination of hexavalent chromium in airborne particulate matter- Method by ion chromatography and spectrophotometric measurement using diphenyl carbazide”

**11.2** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. “Límites de Exposición Profesional a Agentes Químicos en España”

**11.3** UNE-EN 482. "Exposición en el lugar de trabajo. Requisitos generales relativos al funcionamiento de los procedimientos para la medida de agentes químicos"

**11.4** UNE-EN 689. "Atmósferas en los puestos de trabajo. Directrices para la evaluación de la exposición por inhalación de agentes químicos para la comparación con los valores límite y estrategia de medición"

**11.5** Reglamento (CE) nº 1272/2008 sobre clasificación, etiquetado y envasado de sustancias y mezclas, Reglamento (CLP).

**11.6** UNE-EN ISO 13137. "Atmósferas en los puestos de trabajo. Bombas para el muestreo personal de los agentes químicos. Requisitos y métodos de ensayo"

**11.7** UNE-EN 481. "Atmósferas en los puestos de trabajo. Definición de las fracciones por el tamaño de las partículas para la medición de aerosoles"

**11.8** UNE-EN 13205. "Atmósferas en los puestos de trabajo. Evaluación del funcionamiento de los instrumentos para la medición de concentraciones de aerosoles"

**11.9** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. Criterios y Recomendaciones. CR 03/2006. "Toma de muestras de aerosoles. Muestreadores de la fracción inhalable de materia particulada"

**11.10** International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC). "Harmonized guidelines for single-laboratory validation of methods of analysis" Technical Report. Pure Appl. Chem. Vol 74, Nº 5, pp 835-855, 2002.

**11.11** UNE-EN 13890. "Exposición en el lugar de trabajo. Procedimientos para la medida de metales y no metales en partículas en suspensión en el aire. Requisitos y métodos de ensayo"

**11.12** Currie, L. A. "Nomenclature in evaluation of analytical methods including detection and quantification capabilities" Pure & Appl Chem, 6, 10, 1995, pp 1699 – 1723. International Union of Pure and Applied Chemistry (IUPAC-Recommendations 1995).

**11.13** Comité Europeo de Normalización (CEN). Project BC/CEN/ENTR/000/2002-16—Analytical Methods for Chemical Agents—Final Report, Sankt Augustin, Germany, 27 June 2005. Brussels: CEN, 2005.

**11.14** Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. "Guía técnica para la evaluación y prevención de los riesgos relacionados con los agentes químicos presentes en los lugares de trabajo"

**11.15** UNE - EN 1540 "Exposición en el lugar de trabajo – Terminología"

**11.16** CEN/TR 15230:2005. "Workplace atmospheres – Guidance for sampling of inhalable, thoracic and respirable aerosol fractions"

## ANEXO A

### Validación del método

En este anexo se describen los ensayos llevados a cabo y los datos obtenidos en la validación del método para la determinación de Cr(VI) en aire. Los filtros utilizados para la validación han sido filtros de policloruro de vinilo (PVC) de 25 mm de diámetro y 0,45 µm de tamaño de poro. La pureza de los cromatos utilizados (cromato potásico y cromato de plomo) para la generación de las muestras es mayor del 99%.

Las muestras de los ensayos de validación han sido preparadas en el laboratorio utilizando un generador de aerosoles de lecho fluidizado con caudal de aire de entrada regulable hasta 10 l/min, y un molino de bolas horizontal.

Las muestras consisten en filtros adicionados con cromato potásico ( $K_2CrO_4$ ) para la determinación de Cr(VI) soluble, cromato de plomo ( $PbCrO_4$ ) para la determinación de Cr(VI) insoluble, y de ambos cromatos ( $K_2CrO_4$  y  $PbCrO_4$ ) para la determinación de Cr(VI) total.

La validación del método se ha llevado a cabo siguiendo los criterios establecidos en la norma UNE-EN 13890 (11.11).

A continuación se recogen los resultados obtenidos en los ensayos de validación y el procedimiento de cálculo de la incertidumbre asociada a la determinación de la concentración de Cr(VI) en aire.

#### A.1 Preparación de muestras

Para la preparación de las muestras se trituran durante 1 hora, mediante el empleo del molino de bolas, tres gramos de los cromatos anteriormente citados hasta su completa reducción a polvo fino. El polvo 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 hacia un filtro de PVC previamente pesado, donde quedan retenidas las partículas de la sal de cromo.

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

#### A.2 Estimación de los límites de detección y cuantificación

El límite de detección (LOD) y el límite de cuantificación (LOQ) analíticos se han determinado siguiendo los criterios de la IUPAC (11.12), como tres y diez veces respectivamente la desviación típica de los resultados obtenidos del análisis de 20 filtros adicionados con 50 µl de una disolución de 16 mg/l de Cr(VI). La mitad de los filtros se ha analizado siguiendo el procedimiento descrito para la determinación de compuestos solubles y la otra mitad se ha analizado siguiendo el procedimiento descrito para compuestos insolubles.

Los resultados obtenidos muestran que no existen diferencias entre ambos procedimientos de determinación.

La tabla A.1 muestra los límites de detección y cuantificación para el análisis de Cr(VI).

Tabla A.1

#### Límites de detección y cuantificación analíticos

m	n	s (µg/filtro)	LOD (µg/filtro)	LOQ (µg/filtro)
0,80	10	0,0375	0,112	0,375

m es la cantidad de Cr(VI) adicionada a los filtros;

n es el nº de filtros; y

s es la desviación típica.

#### A.3 Recuperación analítica

La determinación de la recuperación analítica se ha llevado a cabo con filtros adicionados, preparados de acuerdo con el procedimiento de preparación de muestras descrito en el apartado A.1, y sometidos a los procesos de preparación de muestras descritos en el apartado 7.1 en función de la especie de Cr(VI) a determinar.

Las tablas A.2, A.3, A.4 y A.5 muestran los resultados de recuperación analítica (RA) obtenidos como el cociente entre la masa recuperada de los filtros adicionados ( $m_2$ ) y la masa adicionada ( $m_1$ ).

Tabla A.2

## Recuperación analítica de Cr(VI) soluble

Filtros adicionados con $K_2CrO_4$		
Procedimiento de extracción (véase apartado 7.1.1)		
$m_1$	$m_2$	RA (%)
7,50	6,60	88,0
8,84	7,83	88,6
14,19	12,36	87,0
14,80	13,31	89,9
15,53	14,41	92,8
16,87	14,46	85,7
19,55	17,55	89,8
19,82	17,74	89,5
21,69	18,77	86,5
21,69	19,47	89,8
22,50	22,03	97,9
23,30	20,21	86,7
28,65	26,10	91,1
33,21	30,49	91,8
34,01	31,09	91,4
36,15	33,30	92,1
42,85	39,75	92,8
43,11	39,02	90,5
60,79	53,92	88,7
67,75	62,13	91,7
Recuperación media		90,1%
Coeficiente de variación		3,0%

Tabla A.3

## Recuperación analítica de Cr(VI) insoluble

Filtros adicionados con $PbCrO_4$		
Procedimiento de extracción (véase apartado 7.1.2)		
$m_1$	$m_2$	RA (%)
2,41	2,17	90,1
2,57	2,29	89,0
3,38	3,05	90,4

<b>Filtros adicionados con PbCrO<sub>4</sub></b>		
Procedimiento de extracción (véase apartado 7.1.2)		
m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	RA (%)
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
12,87	12,30	95,6
14,32	12,73	88,9
Recuperación media		91,6%
Coeficiente de variación		3,5%

Tabla A.4

## Recuperación analítica de Cr(VI) soluble e insoluble en muestras que contienen ambas especies

<b>Filtros adicionados primero con K<sub>2</sub>CrO<sub>4</sub> y a continuación con PbCrO<sub>4</sub></b>					
Cromo soluble			Cromo insoluble		
1ª extracción (véase apartado 7.1.1)			2ª extracción (véase apartado 7.1.2)		
m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	RA (%)	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	RA (%)
4,82	4,64	96,3	4,51	4,12	91,3
5,09	4,62	90,8	5,15	4,91	95,3
6,69	6,27	93,7	16,89	14,93	88,4
7,50	7,13	95,1	7,08	6,33	89,4
9,10	7,95	87,4	18,02	16,33	90,6
9,91	9,31	93,9	10,14	8,86	87,4
10,44	9,73	93,2	7,24	6,85	94,6
12,32	11,33	91,7	13,03	11,42	87,6
14,73	13,19	89,5	9,81	8,85	90,2
16,33	14,93	91,4	11,58	10,69	92,3
Recuperación media		92,3%	Recuperación media		90,7%
Coeficiente de variación		2,90%	Coeficiente de variación		3,1%

**Tabla A.5**  
**Recuperación analítica de Cr(VI) total**

<b>Filtros adicionados primero con <math>K_2CrO_4</math> y a continuación con <math>PbCrO_4</math></b>				
Procedimiento de extracción (véase apartado 7.1.2)				
$\mu g$ adicionados Cr (VI) soluble	$\mu g$ adicionados Cr (VI) insoluble	$m_1$ Cr (VI)	$m_2$ Cr (VI)	RA (%)
3,48	3,70	7,18	6,96	96,9
4,28	5,31	9,59	8,53	88,9
4,82	8,20	13,02	12,02	92,3
5,62	8,85	14,47	13,57	93,8
6,43	7,08	13,51	12,35	91,4
7,50	4,34	11,84	10,85	91,6
8,84	7,40	16,24	14,43	88,8
10,44	2,90	13,34	11,74	88,0
10,98	6,11	17,09	16,11	94,3
12,58	2,41	14,99	13,81	92,1
Recuperación media				91,8%
Coeficiente de variación				3,0%

$m_1$  es la cantidad de Cr(VI) adicionada (soluble + insoluble).

El tratamiento estadístico de los resultados obtenidos no muestra diferencias significativas. La recuperación analítica, para todas las especies de Cr(VI), se considera constante e igual a 91,0% en el intervalo de aplicación del método, con un coeficiente de variación de 3,3%.

#### A.4 Precisión analítica

La precisión analítica se ha determinado a partir de los resultados de 24 filtros (cuatro niveles de carga, seis filtros por nivel), adicionados con volúmenes apropiados de la disolución estándar para cubrir el intervalo de 1,3  $\mu g$  a 110  $\mu g$  de Cr (VI). La precisión analítica, estimada como el coeficiente de variación promediado, es 2,10%.

La tabla A.6 recoge los resultados obtenidos en el ensayo.

**Tabla A.6**  
**Precisión analítica**

<b>Cantidad adicionada (<math>\mu g</math>)</b>	<b>1,30</b>	<b>22,44</b>	<b>67,33</b>	<b>112,22</b>
Nº de filtros analizados	5	6	6	5
Coeficiente de variación (%)	3,18	1,01	1,32	2,49

#### A.5 Almacenamiento de las muestras

El efecto del almacenamiento de las muestras se ha estimado a partir de los resultados obtenidos en muestras analizadas inmediatamente después de su preparación y muestras analizadas después del periodo de almacenamiento.

El estudio se ha llevado a cabo con 24 filtros de PVC adicionados solo con  $K_2CrO_4$  y preparados de acuerdo con el procedimiento de generación de muestras descrito en el apartado A.1.

- doce filtros se analizan tras 25 días almacenados a temperatura ambiente; y
- doce filtros se analizan después de 60 días almacenados a temperatura ambiente.

Los resultados correspondientes a las muestras analizadas inmediatamente forman parte del ensayo descrito en A.3.

La tabla A.7 recoge los resultados obtenidos del ensayo de almacenamiento.

**Tabla A.7**

**Efecto del almacenamiento**

Análisis inmediato			RA = 90,1%			CV = 3,0 %		
Almacenamiento a T <sup>a</sup> ambiente								
25 días			60 días					
m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	RA (%)	m <sub>1</sub>	m <sub>2</sub>	RA (%)			
8,49	7,95	93,6	10,60	8,67	88,2			
10,96	9,91	90,4	15,20	14,19	93,4			
12,37	10,66	86,2	15,55	14,02	90,3			
12,73	10,91	85,7	17,67	14,88	84,2			
15,55	14,10	90,7	18,03	15,74	87,5			
16,97	14,97	88,2	18,38	15,48	84,3			
19,44	17,54	90,2	18,73	16,42	87,7			
19,80	17,46	88,2	21,21	18,23	85,8			
20,86	18,53	88,8	24,74	21,51	87,1			
25,10	22,57	89,9	29,69	26,71	89,9			
27,93	25,61	91,7	33,58	30,12	89,6			
28,68	25,64	89,4	58,68	52,68	89,8			
Recuperación media		89,4%	Recuperación media		88,2%			
Coeficiente de variación		2,2%	Coeficiente de variación		2,6%			

m<sub>1</sub> es la cantidad de Cr(VI) adicionada; y  
m<sub>2</sub> es la cantidad de Cr(VI) recuperada.

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

#### A.6 Incertidumbre de medida

Las principales componentes de incertidumbre en la medida de la concentración de Cr(VI) en aire son las asociadas al muestreo y al análisis. La incertidumbre, en %, asociada a dicha concentración se ha estimado haciendo uso de la información obtenida durante la validación del método y siguiendo los criterios y recomendaciones establecidos en la norma UNE-EN 13890 (11.11).

La tabla A.8 recoge la incertidumbre de medida obtenida en la validación del método.

Tabla A.8

## Incertidumbre de medida obtenida en la validación del método

Componente de incertidumbre		Observaciones
<b>Incertidumbre asociada al muestreo</b>		
<b>Volumen de aire muestreado</b>		
Medida del caudal	1,13 %	Certificado de calibración del medidor
Estabilidad del caudal	2,80 %	Estabilidad del 5 % asumida de (11.6)
Tiempo de muestreo	0,00 %	para muestreos > 2 h
<b>Eficacia de muestreo</b>	8,50 %	Muestreadores de la fracción inhalable (apartado B.3.4.1 de 11)
<b>Transporte</b>	2,80 %	Asumida (apartado B.4.2 de 11.11)
<b>Almacenamiento</b>	1,13 %	Resultados obtenidos en A.5
<b>Incertidumbre asociada al análisis</b>		
<b>Recuperación analítica</b>		Resultados obtenidos en A.3
Sesgo	4,41 %	
Variabilidad del sesgo	0,39 %	
Valor de referencia	1,04 %	
<b>Variabilidad analítica</b>		
Precisión analítica	2,10 %	Resultados obtenidos en A.4
Patrones de calibración	1,30 %	
Función de calibración	2,00 %	
Deriva instrumental	1,15 %	Criterio interno del laboratorio
<b>Incertidumbre de medida</b>		
<b>Incertidumbre combinada (<math>u_c</math>)</b>	<b>11 %</b>	
<b>Incertidumbre expandida U (K = 2)</b>	<b>22 %</b>	





MTA-MA-063/A14



GOBIERNO  
DE ESPAÑA

MINISTERIO  
DE EMPLEO  
Y SEGURIDAD SOCIAL



INSTITUTO NACIONAL  
DE SEGURIDAD E HIGIENE  
EN EL TRABAJO