



Application Note AN-M-013

Especiación de cromo por IC-ICP-MS

Análisis de Cr(III) y Cr(VI) en agua mediante un IC Metrohm acoplado a un ICP-MS de Agilent operado íntegramente en un ICP-MS MassHunter

La diferenciación entre cromo trivalente (Cr(III)) y hexavalente (Cr(VI), cromato) es crucial debido a sus perfiles toxicológicos contrastantes. El Cr(III) es un nutriente esencial para el metabolismo de la glucosa y los lípidos, mientras que el Cr(VI) es altamente tóxico y cancerígeno, incluso en niveles bajos [1,2]. Por lo tanto, determinar el contenido total de cromo por sí solo suele ser insuficiente para realizar una evaluación de riesgos precisa. Para distinguir entre estas dos especies, se han desarrollado diversas técnicas analíticas. Además de la cromatografía que utiliza apareamiento iónico en columnas C8 o C18 [3], el acoplamiento de la cromatografía iónica (CI) con la

espectrometría de masas con plasma acoplado inductivamente (ICP-MS) ha ganado importancia debido a su alta sensibilidad y precisión.

Esta nota de aplicación detalla el enfoque tal como se establece en la norma ISO 24384 [4], mediante un tratamiento quelante con EDTA, posterior separación de Cr(III) y Cr(VI) mediante cromatografía de intercambio aniónico y detección de masas mediante ICP-MS. La incorporación de Metrohm IC en el software ICP-MS MassHunter de Agilent a través del controlador Metrohm IC agiliza el proceso, ahorra tiempo y mejora la eficiencia y la seguridad de todo el procedimiento analítico.

MUESTRA Y PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

Las muestras (agua del grifo de Herisau, Suiza) y los estándares (de 0,1 a 20 µg/L, que contienen Cr(III) y Cr(VI)) se prepararon como se describe en **ISO 24384 [4]** mediante un tratamiento quelante antes de su análisis con IC-ICP-MS.

Para el tratamiento quelante se utilizó una solución de EDTA 0,025 mol/L (9,31 g de sal disódica del ácido etilendiamino-N,N,N',N'-tetraacético (Supelco) en 1000 mL de agua ultrapura (UPW)). Un 2 Se transfirió una porción de mL de la solución de EDTA a un matraz volumétrico de 20 mL y luego se llenó hasta la

marca con los respectivos volúmenes estándar de soluciones madre de 100 µg/L para Cr(III) (preparado a partir de cloruro de cromo(III) hexahidrato, Sigma-Aldrich), Cr(VI) (preparado a partir de cromato estándar para Cl, Supelco) y UPW o solución de muestra. El pH se ajustó a pH $6,9 \pm 0,1$ con ácido nítrico o hidróxido de sodio. Después de mezclar suavemente, las soluciones se transfirieron a tubos de ensayo con tapa de rosca y se calentaron a 70 ± 3 °C durante 60 minutos.

EXPERIMENTO

Después del pretratamiento quelante para la muestra y los estándares, se realizó un análisis de especiación mediante el acoplamiento de IC con ICP-MS (**Figura 1**).

El control de ambos dispositivos en ICP-MS MassHunter (Agilent ICP-MS MassHunter 5.3, versión D.0103) se habilita utilizando el controlador Metrohm para IC (Metrohm IC Driver 1.0, ICP-MS MassHunter) (**Figura 2**). La caja remota (Remote Box MSB, 6.2148.010) y la caja de conexión (equipo IC, conexión Agilent ICP-MS, 6.05330.400) son obligatorias para garantizar la comunicación bidireccional (por ejemplo, para detener ambos instrumentos en caso de emergencia).

La manipulación de muestras y estándares se realizó utilizando el Centro de muestras IC 889 – frío (**Figura 1**), aumentando la estabilidad de los líquidos a medir. Se realizó una inyección de circuito completo (250 µL) en la columna de separación mediante el muestreador automático 889 extremadamente rápido.



Figure 1. Configuración para la especiación de cromo en agua con un IC Metrohm 940 Professional, un Sample Center 889 IC – cool y un ICP-MS 7850x de Agilent Technologies.



Figure 2. Con la ayuda del Metrohm IC Driver 1.0, ICP-MS MassHunter (6.6090.100), es posible el control total de ambos dispositivos (IC e ICP-MS) en ICP-MS MassHunter como una solución de software única.

La separación de Cr(III) y Cr(VI) se logró en una columna de separación Metrosep Carb 2 - 100/4.0 (equipada con una columna de protección Metrosep Carb 2) utilizando condiciones isocráticas y un eluyente de nitrato de amonio (ácido nítrico 150 mmol/L, Sigma-Aldrich, puriss. p.a., $\geq 65\%$) y solución de amoníaco 234 mmol/L (reactivo ACS, 28–30%, Sigma-Aldrich) a pH $9 \pm 0,1$.

La calibración (0,5–20,0 $\mu\text{g/L}$) se realizó mediante la inyección de estándares individuales en el rango dado. Al utilizar la técnica de inyección de bucle parcial inteligente de Metrohm (MiPT), el rendimiento general podría mejorar al producir la calibración a partir de un único estándar.

RESULTADOS

Con la mayor resistencia del eluyente en comparación con el ejemplo de la norma ISO 24384 y un caudal de eluyente de 1,0 ml/min, Cr(III) y Cr(VI) se separaron en menos de cuatro minutos (**Figura 3**). En comparación con un Columna de 2 mm, la versión de 4 mm (con la misma longitud) tiene una mayor capacidad. Especialmente para fuentes de agua con una mayor carga de matriz, el análisis es más sólido y no sufre una sobrecarga de matriz de la columna.

Las pruebas de pico con recuperaciones del 99,7% y

El ICP-MS (7850x, G8422A) se operó en modo TRA (análisis resuelto en el tiempo) utilizando He (4,2 mL/min) como gas de colisión para reducir las interferencias de masa [4]. Los isótopos ^{52}Cr y ^{53}Cr se monitoreó Cr (potencia de RF 1550 W, flujo de gas del nebulizador 1,07 L/min) con un tiempo de integración por masa de 0,3 segundos. Sólo los datos para ^{52}Cr se utilizaron para la evaluación de datos y cuantificación de Cr(III) y Cr(VI). Para garantizar la capacidad total para la evaluación de datos cromatográficos en Agilent ICP-MS MassHunter 5.3, el software se actualizó con el paquete de software cromatográfico.

114,0% para Cr(III) y Cr(VI), respectivamente, muestran la confiabilidad de todo el análisis (**Tablas 1 y 2**). La calibración en el rango de 0,1 a 20 $\mu\text{g/L}$ arrojó valores de R entre 1,0 y 0,998 para ambas especies (Cr(III) y Cr(VI)). Las alturas de pico para el estándar más bajo (0,1 $\mu\text{g/L}$) fueron superiores a 2500 cps (con el blanco inferior a 150 cps) y muestran que es posible la calibración por debajo del nivel adaptado de la norma ISO 24384.

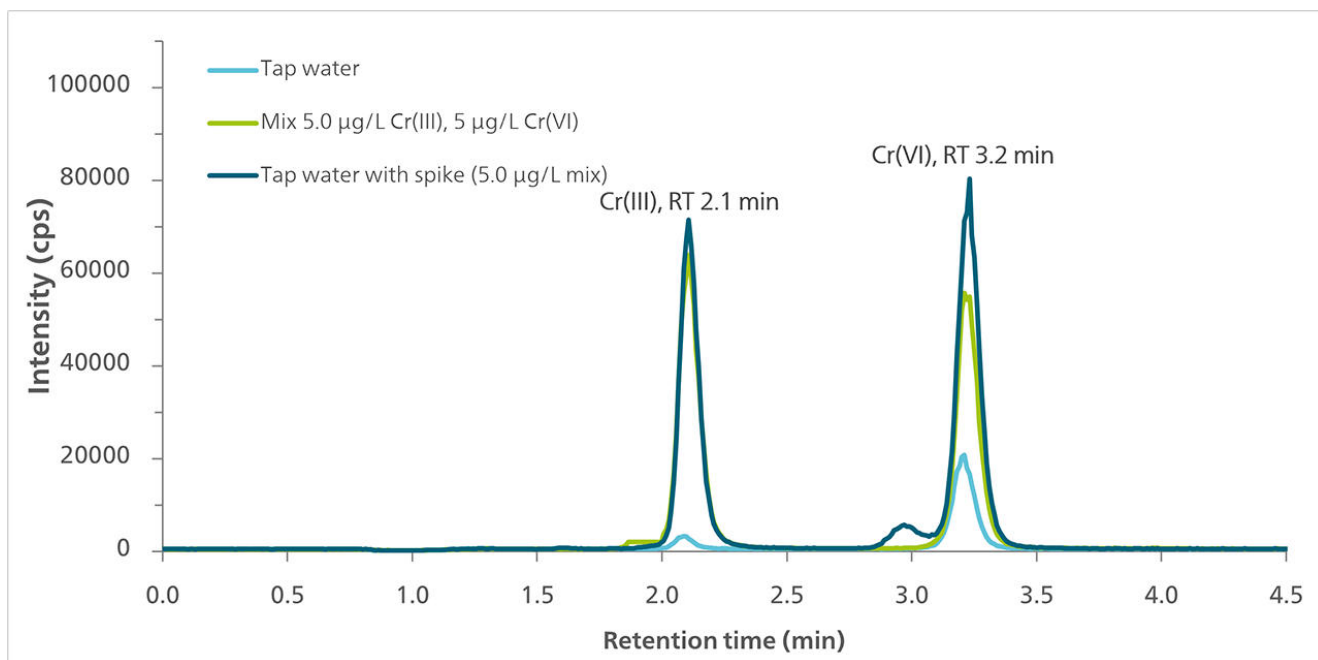


Figure 3. Superposición de cromatograma de un estándar mixto de 5 µg/L y una muestra de agua del grifo adulterada y no adulterada (volumen de inyección de 250 µL). Los cromatogramas muestran las intensidades medidas para m/z 52. La elución se realizó en una columna de separación Metrosep Carb 2 - 100/4.0 utilizando un eluyente de nitrato de amonio en condiciones isocráticas con un caudal de 1,0 mL/min.

Tabla 1. Resultados del análisis de $^{52}\text{Cr(III)}$ en agua del grifo y agua del grifo adulterada. La recuperación rindió un 99,7% para $^{52}\text{Cr(III)}$.

$^{52}\text{Cr (III)}$			
Muestra	Tiempo de reacción (mín.)	Área	Concentración (µg/L)
Estándar mixto de 5 µg/L	2,11	380574	5,0
Agua del grifo	2,10	15018	0,2
Agua del grifo enriquecida (mezcla de Cr(III) y Cr(VI) de 5 µg/L)	2,11	394429	5,2

Tabla 2. Resultados del análisis de $^{52}\text{Cr(VI)}$ en agua del grifo y agua del grifo adulterada. La recuperación de ^{52}Se calculó que Cr(VI) era del 114%.

$^{52}\text{Cr(VI)}$			
Muestra	Tiempo de reacción (mín.)	Área	Concentración ($\mu\text{g/L}$)
Estándar mixto de 5 $\mu\text{g/L}$	3,21	362578	5,0
Agua del grifo	3,22	129449	1,8
Agua del grifo enriquecida (mezcla de Cr(III) y Cr(VI) de 5 $\mu\text{g/L}$)	3,23	542830	7,5

CONCLUSIÓN

Esta Nota de Aplicación especifica un método sensible y confiable para la determinación de cromo hexavalente y trivalente en agua mediante cromatografía iónica acoplada a espectrometría de masas de plasma acoplado inductivamente después de un pretratamiento quelante como se describe en ISO 24384.

El EDTA se utiliza como agente complejante para formar un complejo aniónico estable con Cr(III) , facilitando su separación de Cr(VI) mediante cromatografía de intercambio aniónico. El uso de una columna de intercambio aniónico de alta capacidad, es decir, la Metrosep Carb 2, permite la separación de referencia de las dos especies y garantiza robustez, altas recuperaciones y precisión incluso para fuentes de agua con una mayor carga de matriz. Se prefiere el

eluyente de nitrato de amonio sin aditivos adicionales para mantener la sensibilidad y selectividad de la detección ICP-MS en $m/z = 52$.

Todo el análisis se gestiona mediante ICP-MS MassHunter de Agilent con el **Controlador IC 1.0 de Metrohm para ICP-MS MassHunter**, proporcionando una solución de software unificada para **Cr(III) y Cr(VI) sensibles y fáciles de usar especiación**. Esta configuración garantiza la máxima seguridad analítica a través de la comunicación bidireccional. También es menos propenso a errores manuales (por ejemplo, durante el control del dispositivo o al ingresar datos en el software), garantiza la integridad de los datos y mejora la eficiencia general a través de una carga de trabajo reducida.

REFERENCIAS

1. Zhitkovich, A. Chromium in Drinking Water: Sources, Metabolism, and Cancer Risks. *Chem. Res. Toxicol.* **2011**, 24 (10), 1617–1629.
[DOI: /10.1021/tx200251t](https://doi.org/10.1021/tx200251t)
2. Costa, M.; Klein, C. B. Toxicity and Carcinogenicity of Chromium Compounds in Humans - PubMed. *Crit. Rev. Toxicol.* **2006**, 36 (2), 155–163.
[DOI:10.1080/10408440500534032](https://doi.org/10.1080/10408440500534032)
3. Chang, Y.-L.; Jiang, S.-J. Determination of Chromium Species in Water Samples by Liquid Chromatography-Inductively Coupled Plasma-Dynamic Reaction Cell-Mass Spectrometry. *J. Anal. At. Spectrom.* **2001**, 16 (8), 858–862.
[DOI:10.1039/B103509F](https://doi.org/10.1039/B103509F)
4. International Organization for Standardization (ISO). *ISO 24384:2024 Water Quality — Determination of Chromium(VI) and Chromium(III) in Water — Method Using Liquid Chromatography with Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry (LC-ICP-MS) after Chelating Pretreatment*; Vernier, CH, 2024.

CONTACT

Metrohm Hispania
Calle Aguacate 15
28044 Madrid

mh@metrohm.es

CONFIGURACIÓN



Metrohm IC Driver 1.0, MassHunter para ICP-MS

Controlador de software para la integración de aparatos CI de Metrohm en MassHunter 5.3 y versiones superiores para ICP-MS de Agilent.

[Más información sobre el acoplamiento de la cromatografía iónica y espectrómetros de masas](#)



Juego de accesorios CI, conexión para ICP-MS de Agilent

Juego de accesorios CI para la conexión y el control bidireccional de aparatos CI de Metrohm y los sistemas ICP-MS (IC-ICP/MS) de Agilent



Metrosep Carb 2 - 100/4,0

La columna CI Metrosep Carb 2 - 100/4,0 es particularmente apta para la determinación de carbohidratos empleando eluyentes alcalinos y la detección amperométrica por impulsos. El material de la columna de intercambio de aniones de alta capacidad ha sido realizado a base de un copolímero de estireno-divinilbenceno. Es estable dentro de la gama de pH = 0-14 y separa la glucosa, la fructosa y la sacarosa. Además, también es apta para el análisis de algunos alcoholes de azúcar y oligosacáridos. En la versión de 100 mm de la columna de separación Metrosep Carb 2 se pueden alcanzar tiempos cortos de análisis.



940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP

El 940 Professional IC Vario TWO/SeS/PP es un aparato inteligente CI **bicanal** con **supresión secuencial** (un canal) y una **bomba peristáltica** para la regeneración de supresores. El aparato se puede emplear con cualquier método de separación o de detección.

Ámbitos típicos de aplicación:

- Aparato estándar para determinaciones en paralelo de cationes y aniones
- Análisis de trazas para aniones y cationes
- Supervisión online para aniones y cationes



889 IC Sample Center – cool

El 889 IC Sample Center - cool es la solución de automatización perfecta para cuando se dispone de muy poca cantidad de muestra. A diferencia del 889 IC Sample Center, también dispone de una función de refrigeración que lo convierte en el cambiador de muestras ideal para muestras inestables térmicamente o bioquímicamente relevantes.