	<b>MÉTODO ANALÍTICO HIERRO TOTAL – MÉTODO DE FENANTROLINA: COLORIMÉTRICO, SM 3500-Fe B.</b>	
	Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá	
	Código: D-7.2-37	Versión: 06
	Revisó: Subdirector de Planeación y O.T.	Aprobó: Director General (E).
	Fecha: 09 de Julio de 2025	Fecha: 09 de Julio de 2025
	Resolución: 100-03-10-23-1338-2025	Páginas: 1 de 7

## 1. DESCRIPCIÓN

El Hierro (símbolo químico: Fe, del latín ferrum) es un elemento metálico. Se lo puede encontrar en la naturaleza presentando dos estados de oxidación que son,  $2^+$  (ferroso) y  $3^+$  (férico), aunque pueden ocurrir otros estados de oxidación más altos, como intermediarios transitorios en algunas reacciones de tipo redox.

El hierro forma parte de los llamados “metales pesados”; se denomina metales pesados a aquellos elementos químicos que poseen un peso atómico comprendido entre 63.55 (Cu) y 200.59 (Hg), y tienen un peso específico superior a 4 ( $\text{g/cm}^3$ ). Cabe destacar que en esta categoría entran prácticamente todos los elementos metálicos de interés económico, por tanto, de interés minero. La mayoría de los metales pesados son tóxicos, en general, y lo que los hace tóxicos no son sus características esenciales, sino las concentraciones en las que pueden presentarse y el tipo de especie que forman en un determinado medio. Sin embargo el Hierro solo es tóxico a muy elevada concentración, ya que el hierro se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza y es uno de los elementos más importantes para los sistemas biológicos. Su importancia biológica se encuentra influenciada por sus propiedades químicas, tales como valencia, solubilidad y grado de quelación o de complejación en la muestra en la que se encuentre. La interconversión entre  $\text{Fe}^{2+}$  y  $\text{Fe}^{3+}$  es una propiedad química esencial del hierro, que es utilizada por los microorganismos, plantas y animales, para sus metabolismos oxidativos y para la asimilación del metal.

El agua químicamente pura no existe en la naturaleza, las aguas naturales contienen la mayoría de los metales pesados disueltos en ella, aunque sus concentraciones son muy bajas. Al hierro se lo puede encontrar en las aguas formando diferentes especies: coloides, partículas minerales (sólidos en suspensión), o fases disueltas (cationes o iones complejos).

En las muestras filtradas de aguas superficiales oxigenadas, el hierro raramente alcanza concentraciones de 1 mg/L. Algunas aguas subterráneas y drenajes superficiales ácidos pueden contener una cantidad de hierro bastante mayor. El hierro del agua puede ocasionar manchas en la ropa de lavado y en la porcelana.

El Hierro disuelto que alcanza aguas superficiales reacciona con oxígeno para formar herrumbre (capa de color rojiza, generada por oxidación del Fe) y precipita en el fondo del flujo de agua. Hierro disuelto es común en aguas subterráneas porque oxígeno disuelto es típicamente bajo. Cuando aguas subterráneas con hierro disuelto es traída a la superficie en un pozo, el hierro reacciona con el oxígeno y es convertido en visibles partículas de herrumbre rojo. También es posible que el hierro entre al agua potable si éste es disuelto en tuberías de metal.

En condiciones reductoras el hierro existe en estado ferroso. En ausencia de iones que forman complejos, el hierro férrico no es significativamente soluble a menos que el pH sea muy bajo. Al exponerlo al aire o al añadir oxidantes el hierro ferroso se oxida en estado férrico y puede hidrolizarse para formar óxido férrico hidratado insoluble.

El objetivo del método aquí planteado desarrollar una técnica analítica, de elevada sensibilidad y fácil aplicación, que nos permite determinar en forma simultánea la concentración de hierro en sus diferentes estados de oxidación, utilizando técnicas de formación de complejos con cada una de las especies del hierro presentes.

El hierro es un nutriente esencial en la dieta humana y no posee ningún riesgo en la salud, pero esto depende de la cantidad de hierro, por lo que grandes cantidades pueden producir anemia. Por otro lado, puede causar problemas con sedimentos en tuberías, sabor metálico, y problemas estéticos por manchas rojas en accesorios y ropa.

## 2. ALCANCE

Este método es aplicable en las matrices acuosas superficiales, potables, subterráneas y residuales tanto industriales como domésticas, en concentraciones a partir del MRL (definido experimentalmente) en adelante, teniendo en cuenta como rango de trabajo lineal concentraciones entre 0.08 mg/L y 1 mg/L.

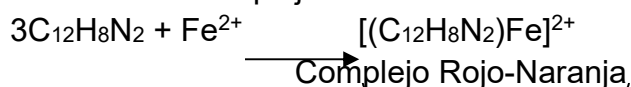
## 3. FUNDAMENTOS DEL MÉTODO

### 3.1 Principio

Se disuelve el hierro, se reduce al estado ferroso por ebullición con ácido e hidroxilamina y se trata con 1.10 – Fenantrolina a pH de 3.2 a 3.3. El complejo rojo-naranja que se forma es un quelato de tres moléculas de fenantrolina por cada átomo de hierro ferroso. La solución coloreada obedece a la ley de Beer; su intensidad es independiente del pH entre 3 y 9. Un pH entre 2.9 y 3.5 asegura un rápido desarrollo del color en presencia de un exceso de fenantrolina. Los patrones del color son estables durante al menos 6 meses.

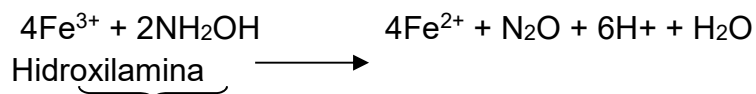
Note en su estructura (mostrada abajo) que la fenantrolina tiene dos pares de electrones desapareados que se pueden usar en formar enlaces covalentes coordinados.

La ecuación para la formación del complejo es:



Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá		
D-7.2-37	Versión: 06	Página: 2 de 7

Sin embargo, antes de que se forme el complejo de hierro II colorido, todo el  $\text{Fe}^{3+}$  presente se deben reducir a  $\text{Fe}^{2+}$ . Esta reducción se alcanza usando un exceso de clorhidrato de hidroxilamina:



### 3.2 Interferencias

Entre las sustancias que interfieren están los oxidantes fuertes, cianuro, nitrito y fosfatos (más los polifosfatos que el ortofosfato), cromo, zinc en concentración 10 veces superior a la del hierro, cobalto y cobre por encima de 5 mg/L y níquel por encima de 2 mg/L. El bismuto, el cadmio, el mercurio, el molibdato y la plata precipitan la fenantrolina. La ebullición inicial con ácido convierte los polifosfatos en ortofosfato y elimina el cianuro y el nitrito, que por otra parte, podrían interferir. La adición de un exceso de hidroxilamina elimina los errores causados por concentraciones excesivas de reactivos fuertemente oxidantes. En la presencia de iones metálicos que interfieran, utilícese un mayor exceso de fenantrolina para sustituir la parte compleja debida a los metales que interfieren. Cuando existen concentraciones excesivas de iones metálicos que interfieren, puede emplearse el método de extracción.

Si existen cantidades apreciables de materia colorante u orgánica, es necesario correr un blanco de dicha muestra (es decir, sin adición de fenantrolina), con el objetivo de restar a la lectura obtenida por el procesamiento normal de la muestra, la absorción propia de la muestra coloreada.

Previo al desarrollo del ensayo en cuestión, es importante lavar la vidriería de trabajo con HCl y luego con agua destilada, con el objetivo de eliminar interferencias por óxidos de hierro o cualquier otra suciedad presente.

## 4. TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

El valor de la determinación de hierro depende en gran parte del cuidado puesto en la obtención de una muestra representativa. El hierro de las muestras de agua de pozo o del grifo puede variar en concentración y forma con la duración y el grado de afluencia antes y durante la toma de muestra. Cuando se tome una porción de muestra para determinar el hierro en suspensión, sacúdase la botella de la muestra vigorosamente y con frecuencia para obtener una suspensión uniforme del hierro precipitado. Es necesario poner el máximo cuidado cuando el hierro coloidal se adhiere a la botella de la muestra, este problema puede agudizarse cuando se utilizan botellas de plástico.

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá		
D-7.2-37	Versión: 06	Página: 3 de 7

Para obtener una determinación precisa del hierro total, utilícese un recipiente separado para la toma de la muestra. Trátase con ácido  $\text{HNO}_3$  (para obtener  $\text{pH} < 2$ ) en el momento de la toma para disolver el hierro y evitar la adsorción o depósito sobre las paredes del recipiente de muestra. Téngase en cuenta el ácido añadido al medir porciones para análisis.

## 5. MATERIALES Y EQUIPOS

- Equipo colorimétrico: Espectrofotómetro (510 nm).
- Vidriería volumétrica en general. (lavada con ácido ( $\text{HNO}_3$  o  $\text{HCl}$ , preparados en concentración 1:1) y abundante agua destilada)
- Plancha de calentamiento.

## 6. REACTIVOS

- **Agua desionizada y/o destilada:** preparar todas las soluciones de referencia y agua de dilución con agua desionizada y/o destilada que haya sido recientemente llevada a ebullición durante 15 min y enfriada a temperatura y enfriada a temperatura ambiente, el recipiente debe taparse para asegurar esta condición.
- **Ácido clorhídrico concentrado (HCl) 37%:** alícuota directa del ácido concentrado grado analítico, con concentración de hierro menor de **0,00005%**.
- **Solución Buffer de Acetato de Amonio:** disolver 250 g de Acetato de Amonio ( $\text{NH}_4\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2$ ) en 150 mL de agua destilada, añadir 700 mL de Ácido Acético concentrado (glacial).

NOTA 1: cada vez que se prepare solución tampón, es necesario recalcular con patrones de referencia y determinar si es necesario realizar nueva curva de trabajo.

- **Solución de fenantrolina:** disolver 100 mg de monohidrato de 1,10 – fenantrolina ( $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ) en 100 mL de agua, y añadir 2 gotas de  $\text{HCl}$  concentrado y agitar brevemente.
- **Solución de hidroxilamina:** disolver 10 g de hidroxilamina ( $\text{NH}_2\text{OH} \cdot \text{HCl}$ ) en 100 mL de agua destilada.

**NOTA 2:** los volúmenes de las soluciones pueden cambiar, en este caso la cantidad de reactivo usado para prepararlos debe ser proporcional al volumen.

## 7. PROCEDIMIENTO

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá		
D-7.2-37	Versión: 06	Página: 4 de 7

- 1) Mézclese cuidadosamente la muestra y mézcase 50 mL en un Erlenmeyer de 125 mL.
- 2) Adicionar 2 mL de HCl concentrado y 1 mL de solución de hidroxilamina.
- 3) Llevar la muestra a digestión en una plancha de calentamiento hasta que el volumen se reduzca a una porción entre 15 y 20 mL.
- 4) Enfriar hasta temperatura ambiente y llevar el resultante a un balón aforado de 100 mL.
- 5) Añadir 10 mL de solución buffer, 4 mL de solución de fenantrolina y aforar a 100 mL con agua destilada.
- 6) Agitar cuidadosamente la solución final, dejarse reposar durante 10 a 15 minutos, leer en espectrofotómetro a 510 nm, registrar en la captura de datos la respectiva absorbancia y calcular la concentración correspondiente de hierro total.

## 8. CÁLCULOS Y RESULTADOS

Se interpolan los datos en la curva de calibración para obtener los resultados. No se debe hacer resta de blanco debido al alto valor de la absorbancia. La curva de calibración debe ir de 0 a mínimo 1 mg/L o hasta que muestre una linealidad confiable, para ello se realiza con los patrones todo el procedimiento que se realiza con las muestras.

Desarrollo de la curva a partir del estándar de 100 mg/L, los estándares son llevados a un volumen final de 50 mL.

**Tabla 1.** Preparación de estándares para curva de calibración.

ESTÁNDARES (MG/L)	VOLUMEN EN ML DE ESTÁNDAR DE 1000 MG/L
0	0
Límite de cuantificación (MRL)	Volumen correspondiente al MRL (mL)
0.3	0.15
0.6	0.30
0.8	0.40
1.0	0.50

## 9. SEGUIMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD

Por cada lote de máximo 20 muestras analizadas, ejecute los siguientes controles de calidad:

- Analizar un blanco de reactivo. Realizar una acción correctiva si su resultado es  $> \frac{1}{2}$  MRL.
- Analizar un estándar igual al MRL, que cumpla con un %Error de  $\pm 30\%$ , preparado a partir del estándar primario con el que se realizó la curva de calibración.
- Analizar un estándar correspondiente al punto medio de la curva, preparado a partir de una segunda fuente, teniendo en cuenta que la diferencia no debe ser mayor del 10%.
- Analizar un estándar correspondiente al 90% del rango lineal trabajado (0,9 mg/L), donde % Error  $\leq 10$ .
- Analizar una muestra por duplicado donde se cumpla que  $RPD \leq 20\%$ .
- Analizar una muestra enriquecida por duplicado, teniendo en cuenta un valor de  $RPD \leq 20\%$ . % Recuperación aceptado  $\leq 80-120\%$ .

Se debe realizar curva nueva cada vez que los estándares de control y seguimiento estén por fuera del límite establecido y/o cada 4 meses. Además, cada vez que se realice la curva de calibración se debe comparar cada punto de dicha calibración con la curva, y volver a calcular su concentración, teniendo en cuenta el siguiente criterio de aceptación:

- Para estándares hasta el doble del MRL,  $\pm 50\%$  de error.
- Para estándares entre 3 y 5 veces el MRL,  $\pm 20\%$  de error.
- Para estándares de más de 5 veces el MRL,  $\pm 10\%$  de error.

En caso de no cumplir con lo anterior, analizar nuevamente el respectivo patrón y corregir, antes de la cuantificación de las muestras.

## 10. MANTENIMIENTO

Se debe llevar un buen control del tiempo de calentamiento y de la seguridad durante la digestión. Celdas en óptimo estado, balones y matraces sin fisuras y espectrofotómetro y digestor ajustados y calibrados de manera periódica según criterios de calidad.

## 11. BIBLIOGRAFÍA

Corporación para el Desarrollo Sostenible del Urabá		
D-7.2-37	Versión: 06	Página: 6 de 7

American Public Health Association, American Water Works Association, Water Environment Federation. In: Lipps Wc, Braunt-Howland Eb, Baxter Te. Eds. Standard Methods For The Examination Of Water And Wastewater, 24th Ed. Washington Dc: APHA PRESS;2023. Sección Sección 3500-Fe B.

## 12. CONTROL DE CAMBIOS

Fecha	Resolución	Versión	Detalle
11/08/2017	300-03-10-23-0990	01	Aprobación inicial con código y nombre D-5.4-76: MÉTODO ANALÍTICO PARA DETERMINACIÓN DE HIERRO TOTAL.
06/10/2017	300-03-10-23- 01270	02	Se modificaron los patrones del control de seguimiento interno del método.
15/08/2018	300-03-10-23-1436	03	De acuerdo al Standard Methods Ed.23 de 2017 se especifican los siguientes cambios: Se indicó de manera exacta la referencia del método en el título según el SM 3500-Fe A B. En la sección de INTERFERENCIAS se adicionó claridad sobre el tratamiento para muestras coloreadas, además de una descripción del lavado previo de la vidriería de trabajo. Se eliminó la mención de la edición del SM de manera textual a lo largo del documento. En la sección de SEGUIMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD se especificó análisis de un patrón de seguimiento equivalente al LCM a cambio del que se venía trabajando de 0,2 mg/L y se añadió un estándar de 0,5 mg/L (de segunda fuente) para control medio, además de un estándar del 90% del rango lineal; y también se indicó verificación de los puntos de la curva cada vez que deba realizarse por concepto de incumplimiento de los estándares de evaluación periódicos o cuatrimestralmente.
19/11/2019	300-03-10-23-1429	04	En la sección 3 - FUNDAMENTOS DEL MÉTODO se eliminó el numeral 3.2 <i>Definición</i> , donde parte de esa información se adicionó a la sección 1 – DESCRIPCIÓN y la otra se utilizó para crear el ítem 2 – ALCANCE, así: “Este método es aplicable en las matrices acuosas superficiales, potables, subterráneas y residuales tanto industriales como domésticas, en concentraciones a partir del MRL (definido experimentalmente) en adelante, teniendo en cuenta como rango de trabajo lineal concentraciones entre 0,08 mg/L y 1 mg/L”. Por otro lado, se agregó el numeral 12 – Mantenimiento, donde se especificaron condiciones importantes de trabajo. Se cambia la codificación del documento pasando de D-5.4-76 a D-7.2-37 de acuerdo a la nueva versión de la Norma – ISO/IEC 17025:2017.
24/11/2023	300-03-10-23-2554	05	Se actualiza el documento para la determinación de pH de acuerdo con la metodología normalizada de Standard Methods 3500 Fe B de 2022, edición 24.
09/07/2025	100-03-10-23-1338	06	Se corrigió el año de publicación de la versión vigente de Standard Methods (2023).

Última línea-----última línea-----última línea