1. DESCRIPCIÓN

Los tensoactivos entran en las aguas limpias y residuales principalmente por descarga de residuos acuosos del lavado doméstico e industrial de ropa y otras operaciones de limpieza. Un tensoactivo combina en una sola molécula un grupo hidrófobo con uno hidrófilo. Dichas moléculas tienden a congregarse en las interfases entre el medio acuoso y las otras fases del sistema, como aire, líquidos oleosos y partículas, impartiendo por tanto propiedades tales como formación de espuma, emulsificación y suspensión de partículas.

Los niveles actuales de uso de detergentes y agua, el contenido de tensoactivo en las aguas residuales domésticas sin tratar se encuentra en el rango de aproximadamente 1 a 20 mg/L. La mayoría de los tensoactivos en las aguas residuales domésticas están disueltos en equilibrio con cantidades proporcionales adsorbidas en partículas. En aguas ambientales la concentración de tensoactivos suele ser inferior a 0,1 mg/L excepto en las proximidades de una desembocadura u otra fuente de entrada puntual. Un alto contenido de detergentes en agua puede provocar formación de espuma, toxicidad para la vida acuática y crecimiento desmesurado de la flora acuática por el aporte de fosfatos.

2. ALCANCE

La determinación de detergentes (sustancias activas al azul de metileno) en aguas mediante la técnica espectrofotométrica de UV-Visible, de acuerdo a la experimentación base de la verificación correspondiente, es aplicable para las matrices: Superficial y Residuales, en concentraciones a partir del MRL (definido experimentalmente) en adelante, teniendo en cuenta como rango de trabajo lineal concentraciones entre 0,5 mg/L y 2,0 mg/L.

3. FUNDAMENTO DEL MÉTODO

3.1. Principio

Las Sustancias Activas al Azul de Metileno (SAAM, o MBAS por sus siglas en inglés) un colorante catiónico, transfieren el azul de metileno desde una solución acuosa a un líquido inmiscible en equilibrio. Esto ocurre durante la formación de un par iónico entre el anión (SAAM) y el catión (azul de metileno). La intensidad del color resultante es una medida de las sustancias activas al azul de metileno. Los

tensoactivos aniónicos se encuentran entre las muchas sustancias naturales y sintéticas activas al azul de metileno.

El método es relativamente simple y preciso, comprende tres extracciones sucesivas desde un medio acuoso ácido con exceso de azul de metileno a una fase orgánica de cloroformo, seguida de la lectura del color azul de dicha fase orgánica mediante espectrofotometría a 652 nm. El método es aplicable para la determinación de tensoactivos aniónicos en aguas superficiales y en aguas residuales, pero debe tenerse en cuenta la posible presencia de otro tipo de sustancias activas al azul de metileno. El Sulfonato de Alquilbenceno Lineal (LAS) es el tensoactivo aniónico más ampliamente utilizado, y se usa para estandarizar el método SAAM, sin embargo, no es el único, existen otros como el sulfato de sodio dodecilo ($C_{12}H_{25}NaO_4S$).

3.2. Interferencias

Las interferencias positivas resultan por la presencia de otras especies activas al azul de metileno. Los sulfonatos orgánicos, sulfatos, carboxilatos, fenoles, los tiocianatos inorgánicos, cianatos, nitratos y cloruros pueden en mayor o menor grado transferir el azul de metileno a la fase clorofórmica. Cuanto menor sea la extractabilidad de sus pares iónicos, más efectivo es el paso de lavado acuoso para eliminar estas interferencias positivas; la interferencia del cloruro se elimina casi por completo y la del nitrato en gran parte mediante el lavado posterior. Las interferencias negativas son causadas por la presencia de tensoactivos catiónicos y otros cationes como las aminas puesto que estas compiten con el azul de metileno en la formación de pares iónicos. El material particulado puede dar interferencia negativa por la absorción de sustancias activas al azul de metileno.

Tratamiento con peróxido: Si es necesario evitar la decoloración del azul de metileno por sulfuros, añádanse unas pocas gotas de peróxido de hidrógeno al 30%.

4. TOMA DE MUESTRA Y ALMACENAMIENTO

Tome muestras representativas en recipientes de 1000 mL de vidrio o de plástico. La muestra no debe contener espuma, en caso contrario se debe mezclar muy bien la muestra agitando suavemente después del muestreo. Se refrigera a 4°C y se almacena hasta 2 días.

5. INSTRUMENTAL Y EQUIPOS

- Espectrofotómetro (652 nm).
- Embudos de separación de 500 o 1000 mL con tapones y llave de paso.
- Vidriería volumétrica en general.
- Lana de vidrio.
- Cabina extractora de gases

6. REACTIVOS

- **Agua grado reactivo.**
- **Hidróxido de sodio (NaOH) 1 N:** Disuelva 40 g de NaOH en agua destilada en un balón aforado de 1000 mL.
- **Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 1 N:** Diluya 28 mL de H_2SO_4 concentrado en 1000 mL de agua destilada.
- **Ácido sulfúrico (H_2SO_4) 6 N:** Diluya 167 mL de H_2SO_4 concentrado en 1000 mL de agua destilada.
- **Cloroformo (CH_3Cl).**
- **Solución indicadora de fenolftaleína alcohólica:** Disuelva 0,5 g de fenolftaleína en 50 mL de alcohol etílico al 95% o isopropílico y 50 mL de agua destilada
- **Peróxido de hidrógeno (H_2O_2) 30%.**
- **Solución de azul de metileno:** Disuelva 100 mg de azul de metileno en 100 mL de agua destilada. Vierta 30 mL a un balón aforado de 1000 mL. Añada 500 mL de agua destilada, 41 mL de H_2SO_4 6 N y 50 g de fosfato de sodio monobásico monohidratado, $NaH_2PO_4*H_2O$. Agitar hasta que se disuelva. Aforar hasta 1000 mL.
- **Solución de lavado:** Añada 41 mL de H_2SO_4 6 N a 500 mL de agua destilada en un balón aforado de 1000 mL. Añada 50 g de fosfato de sodio monobásico monohidratado, $NaH_2PO_4.H_2O$ y agítese hasta que se disuelva. Aforar hasta 1000 mL.
- **Estándar de sulfato de sodio dodecilo:** utilice una fuente comercial, o disuelva 1.042 g de $C_{12}H_{25}NaO_4S$ en agua y afore a 1000 mL. Almacene refrigerado para minimizar la biodegradación. 1000 mg SAAM (MBAS) /L.
- **Solución de trabajo de sulfato de sodio dodecilo:** diluya 10 mL del estándar de 1000 mg SAAM/L en agua y afore a 1000 mL. Prepare esta solución a diario. Homogenice el estándar de 1000 mg SAAM/L a temperatura ambiente antes de usar.

7. PROCEDIMIENTO

I. Tome 100 mL de muestra en un beaker o Erlenmeyer.
II. Agregue una gota de indicador de fenolftaleína, adicione gota a gota NaOH 1 N, hasta color rosado persistente; luego, adicione gota a gota H_2SO_4 1 N hasta la desaparición del color rosado.
III. Adicione una gota de H_2O_2 al 30%, para evitar la decoloración del azul de metileno por sulfuros, agite.
IV. Lleve la muestra a un embudo de separación.
V. Añada 10 mL de cloroformo y 25 mL de reactivo de azul de metileno. Agite el embudo vigorosamente durante 30 segundos, despresurice. Deje que se separen las fases (una agitación excesiva puede causar la formación de emulsiones persistentes, para romperlas, agregue <10 mL de alcohol isopropílico; agregue el mismo volumen a todos los estándares).
VI. Antes de drenar la capa de cloroformo, mueva suavemente y deje reposar.
VII. Separe la capa de cloroformo vertiendo en un vaso de 100 mL. Repita la extracción dos veces más utilizando 10 mL de cloroformo cada vez.
VIII. Combine todos los extractos de cloroformo en el vaso de 100 mL.
IX. Vierta todos los extractos de cloroformo en un nuevo embudo de separación. Añada 50 mL de solución de lavado y agite vigorosamente durante 30 segundos, despresurice.
X. Deje reposar y extraiga la capa de cloroformo a través de un embudo de vidrio pequeño de vástago delgado que contenga un tapón de lana de vidrio en un balón aforado de 100 mL.
XI. Extraiga dos veces más la solución con 10 mL de cloroformo en cada ocasión. Recoja los extractos en el balón de 100 mL, afore con cloroformo y mezcle bien.

8. CÁLCULOS Y RESULTADOS

Prepare una curva de calibración que conste de al menos 5 estándares que cubran el rango de concentración de 0 a 2 mg/L, o hasta que se demuestre la linealidad. Trace una curva de calibración de absorbancia versus microgramos de LAS tomados, especificando el peso molecular del LAS utilizado.

Se recomienda el desarrollo de la curva a partir de un estándar de 10 mg/L y llevar los patrones a un volumen final de 100 mL:

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

Estándares (mg/L)	Volumen en mL del estándar de 10 mg/L
0	0
MRL (Límite de cuantificación)	Volumen correspondiente al MRL
1	10
1,5	15
2	20

- Se interpolan los datos en la curva de calibración para obtener los resultados. Si el resultado se sale del límite superior de la curva de calibración, se debe tomar una alícuota establecida y se repite el proceso hasta que el valor final quede en el intervalo de lectura.

- Los resultados se reportan como mg MBAS/L, calculado como LAS, masa molar 288,38 g/mol. Si los resultados se van a expresar por peso, como generalmente es deseable, se debe conocer el peso molecular promedio del tensoactivo medido o se debe usar una curva de calibración estándar particular para ese compuesto. Documente el peso molecular en los registros de laboratorio.

9. SEGUIMIENTO Y CONTROL DE CALIDAD

Para cada lote menor o igual a 20 muestras, se deben realizar y registrar en la captura de datos lo siguiente:

- Analizar un blanco de reactivo. Realizar una acción correctiva si su resultado es ≥½ MRL.
- Analizar un patrón equivalente al MRL. Error aceptado ≤25%.
- Analizar un patrón de 1 mg/L, preparado a partir de una segunda fuente. Error aceptado ≤10%.
- Analizar un patrón de un valor superior a la concentración de muestras esperadas. Error aceptado ≤10%.
- Analizar una muestra por duplicado. RPD aceptado ≤20%.
- Analizar una muestra enriquecida por duplicado. RPD aceptado ≤20%. Recuperación aceptada entre 80-120%.

- Se debe realizar curva nueva cada vez que los estándares de control y seguimiento estén por fuera del límite establecido o cuando el analista lo considere necesario.

- Cada vez que realice curva de calibración, compare cada punto de calibración con la curva y vuelva a calcular su concentración, teniendo en cuenta los siguientes criterios de aceptación:

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

10. MANTENIMIENTO

Se debe llevar un buen control del tiempo de agitación y reposo en cada lectura de muestra. Celdas en óptimo estado y espectrofotómetro calibrado.

11. BIBLIOGRAFÍA

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;2023Sección 5540 C.

12. CONTROL DE CAMBIOS

Fecha	Resolución	Versión	Detalle
09/06/2016	300-03-10-23-0649	01	Aprobación inicial con código y nombre D-5.4-15: MÉTODO ANALÍTICO TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA, SM 5540 C.
05/10/2016	300-03-10-23-1303	02	Se actualiza el logo corporativo. Se especifica el control de calidad por cada lote. Se especifica el tratamiento con peróxido en las interferencias para evitar la decoloración del azul de metileno. Se cambia el uso del coeficiente de variación por el RPD.
06/10/2017	300-03-10-23-01270	03	Documentación del procedimiento. Documentación del algoritmo.

15/08/2018	300-03-10-23-1436	04	Se incluyen los numerales: INSTRUMENTAL Y EQUIPOS, REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE REACTIVOS de acuerdo a lo señalado en la edición 23 de Standard Methods. En SEGUIMIENTO Y CONTROL se incluye, de acuerdo a lo señalado en la edición 23 de Standard Methods, lo siguiente: <u>Preparación de la curva de calibración</u>: • Prepare una curva con al menos 5 estándares de acuerdo al rango de trabajo. • Cada lote de muestras se debe analizar estándares de MRL y de un valor superior a las concentraciones esperadas, condicionando la realización de curva, en el momento en que éstos no cumplan con los % de error indicados.
19/11/2019	300-03-10-23-1429	05	Se adiciona dentro de la estructura del método la sección 2 – ALCANCE, así: "La determinación de detergentes (sustancias activas al azul de metileno) en aguas mediante la técnica espectrofotométrica de UV-Visible, de acuerdo a la experimentación base de la verificación correspondiente, es aplicable para las matrices: Superficial y Residual (doméstica e industrial), en concentraciones a partir del MRL (definido experimentalmente) en adelante, teniendo en cuenta como rango de trabajo lineal concentraciones entre 0,5 mg/L y 2,0 mg/L". En la sección 10 – CÁLCULOS Y RESULTADOS se indica que "Los resultados se reportan como mg MBAS/L, calculado como LAS, masa molar 288,37 g/mol". Se cambia la codificación del documento pasando de D-5.4-15 a D-7.2-15 de acuerdo a la nueva versión de la Norma – ISO/IEC 17025:2017.
06/10/2020	300-03-10-23-1125	06	Se elimina la condición de 4 meses para realizar nueva curva de calibración y se condiciona a cuando el analista lo considere necesario y se deja como una recomendación y no como obligación, preparar los estándares a partir de una solución madre de 10mg/L.
24/11/2023	300-03-10-23-2554	07	Se actualiza el documento para la determinación de TENSOACTIVOS ANIONICOS EN AGUA, de acuerdo con la metodología normalizada de Standard Methods 5540 C de 2022, edición 24.
09/07/2025	100-03-10-23-1338	08	Se corrigió el año de publicación de la versión vigente de Standard Methods (2023).

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