



TÍTULO: TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA – MÉTODO SAAM

CÓDIGO: TP0151

VERSIÓN: 02

COPIA N°: \_\_\_\_\_

ELABORADO POR:

\_\_\_\_\_  
CARLOS HERNAN RODRIGUEZ  
TECNICO QUÍMICO

REVISADO Y  
ACTUALIZADO POR:

\_\_\_\_\_  
ROCIO DEL PILAR BOJACA  
QUIMICA

APROBADO POR:

\_\_\_\_\_  
MARTA ELENA DUQUE SOLANO,  
Coordinadora Grupo Laboratorio de  
Calidad Ambiental

\* Este documento debe ser revisado por lo menos cada **dos** años.

Elaborado por:  
Fecha:

Revisado por:  
Fecha:

Autorizado por:  
Fecha:

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0151	Fecha de elaboración: 31/08/2007	Versión: 02
TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA - METODO SAAM			

## 1. INTRODUCCIÓN:

Las sustancias activas al azul de metileno (SAAM) 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.

Mediante este método es posible la determinación de concentraciones de SAAM A partir de 0.50 mg/L en las condiciones de trabajo del laboratorio.

## 2. DEFINICIONES:

SAAM = Sustancias Activas al Azul de Metileno.  
 mg SAAM/L = miligramos de SAAM por Litro  
 nm = nanómetros  
 CV = Coeficiente de Variación

## 3. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Durante las extracciones trabaje SIEMPRE en la cabina de extracción de vapores orgánicos.

Use guantes de nitrilo, gafas de seguridad y mascarilla de seguridad con cartucho para solventes orgánicos, blusa de laboratorio larga, pantalón y zapatos adecuados.

## 4. LIMITACIONES E 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.

Elaborado por: Fecha:	Revisado por: Fecha:	Autorizado por: Fecha:
--------------------------	-------------------------	---------------------------

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0151	Fecha de elaboración: 31/08/2007	Versión: 02
TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA - METODO SAAM			

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.

## 5. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DEL MÉTODO

Resultados de la validación del método llevada a cabo en las instalaciones del laboratorio del IDEAM.

CUADRO PARÁMETROS DE VALIDACION DEL MÉTODO

NOMBRE DEL METODO:	TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA – METODO SAAM		
CÓDIGO DEL PSO:	TP0151		
FECHA DEL INFORME DE VALIDACIÓN:	22/07/2004		
PARÁMETRO	VALOR	UNIDADES	OBSERVACION
LIMITE DE DETECCION	0.5	mg SAAM/L	Corresponde al límite de cuantificación.
PRECISION EN TÉRMINOS DE %CV	0.6	%	3.5 mg SAAM/L
	0.7	%	6.0 mg SAAM/L
EXACTITUD EXPRESADO COMO % DE ERROR RELATIVO	5.3	%	0.19 mg SAAM/L
	2.2	%	3.64 mg SAAM/L
RANGO DE TRABAJO (Lectura Directa)	0.5 – 3.0	mg SAAM/L	Sin dilución de la muestra
INTERVALO DE APLICACIÓN DEL METODO	0.5 - 300	mg SAAM/L	Con una dilución de 100 veces.
RECUPERACION EXPRESADO COMO %	94	%	2.5 mg SAAM/L

## 6. TOMA Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

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.

## 7. APARATOS, REACTIVOS Y MATERIALES

### 7.1. Aparatos

- Espectrofotómetro marca Hewlett Packard modelo 8453 para usar a 652 nm, con paso de luz de 1 cm.
- Rotavapor.

Elaborado por: Fecha:	Revisado por: Fecha:	Autorizado por: Fecha:
--------------------------	-------------------------	---------------------------

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0151	Fecha de elaboración: 31/08/2007	Versión: 02
TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA - METODO SAAM			

- Cabina de extracción de vapores orgánicos.

## 7.2. Reactivos

- Agua destilada, agua UP o agua desionizada. Utilícela para preparar todos los reactivos y diluciones.
- Solución patrón de 1000 mg/L de sulfato de dodecilo expresada como 1000 mg SAAM/L Utilice la sal sódica sulfato de dodecilo ( $C_{12}H_{25}NaO_4S$  PM = 288.38g) de pureza igual al 96%. Disuelva 1.042 g de la sal sódica en 500 mL de agua destilada, diluya a 1000 mL. Consérvese refrigerado.
- Solución de trabajo de 10 mg/L de la sal sódica. Tome 10 mL de la solución patrón de 1000 mg SAAM/L en un balón aforado clase A de 1000 mL y complete a volumen. Prepare esta solución a diario. Al preparar esta solución a partir del patrón de 1000 mg SAAM/L, es indispensable que lleve dicho patrón a 25 °C con el fin de homogenizarlo ya que este presenta una ligera precipitación de la sal cuando la temperatura es inferior a la temperatura de trabajo del laboratorio.
- Solución indicadora de fenolftaleína, alcohólica. Disuelva 80 mg de fenolftaleína en 100 mL de metanol absoluto.
- Hidróxido de sodio 1N. Disuelva 40 g de Hidróxido de Sodio al 100% en 1 litro de agua destilada.
- Ácido sulfúrico,  $H_2SO_4$ , 1N y 6N.
- Cloroformo,  $CHCl_3$ . PRECAUCIÓN: El cloroformo es tóxico y un probable cancerígeno: Mantenga las precauciones adecuadas contra la inhalación y la exposición a la piel (Trabaje siempre en la cabina de extracción y utilice elementos de seguridad)
- Azul de metileno 0.1 %. Disuelva 100 mg de azul de metileno (Eastman N° P573 o equivalente) en 100 mL de agua destilada.
- Reactivo de azul de metileno: Transfiera 30 mL de la solución de Azul de metileno 0.1 % a un balón de 1000 mL, agregue 500 mL de agua destilada, 41 mL de  $H_2SO_4$  6 N y 50 g de  $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$  previamente disueltos en 200mL de agua destilada, agite hasta disolver, complete a volumen.
- Solución de lavado. Agregue 41 mL de  $H_2SO_4$  6 N a 500 mL de agua destilada en un balón de 1000 mL. Añada 50 g de  $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ . Agite hasta disolver y diluya a 1000 mL.

Elaborado por: Fecha:	Revisado por: Fecha:	Autorizado por: Fecha:
--------------------------	-------------------------	---------------------------

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0151	Fecha de elaboración: 31/08/2007	Versión: 02
TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA - METODO SAAM			

- Peróxido de hidrógeno, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, al 30%.

### 7.3. Materiales

- Embudos de separación, de 250 y 500 mL, preferiblemente con tapones y llaves de TFE.
- Embudos de filtración de vidrio pequeños con vástago largo
- Balones aforados de 100, 200, 250, 500 y 1000 mL clase A
- Agitadores de vidrio grandes. 25 cm de largo por 0.5 cm de espesor
- Soporte de madera para los embudos
- Vasos de precipitados de 50, 100, 250 y 500 mL.
- Pipetas de 1, 2, 3, 4, 5, 10, 20, 25, 50 y 100 mL clase A.
- Algodón o lana de vidrio.

## 8. PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA DE VIDRIERÍA:

Para la toma de muestras lave los recipientes con jabón o detergente libre de sustancias activas al azul de metileno, páselos por solución diluida de ácido sulfúrico siguiendo el protocolo para el lavado de material, realice el mismo procedimiento para el lavado del material donde realizara los análisis de muestras, utilice únicamente a la que se le haya efectuado el control de calidad. Consultar el procedimiento [TP0125](#) PSO Lavado Material de Vidrio.

## 9. PROCEDIMIENTO DE PREPARACIÓN DE ESTÁNDARES

### 9.1. Preparación de la Curva de Calibración:

Prepare una serie de embudos de separación con 5, 10, 20 y 30 mL de solución de la sal sódica de trabajo de 10 mg SAAM/L, las concentraciones de estos estándares al final del proceso de extracción serán respectivamente de 0.5, 1.0, 2.0 y 3.0 mg SAAM/L. Para los ensayos utilice la sal sódica sulfato de dodecilo en lugar del sulfonato de alquilbenceno lineal sugerido en el Standard Methods. Añada suficiente agua destilada para completar un volumen aproximado de 100 mL en cada embudo. Procese cada estándar como se describe en el numeral 10, (procese las muestras de la misma manera) y grafique la curva de calibración de absorbancia contra mg SAAM/L de sal sódica tomados.

### 9.2. Estándares de control.

Elaborado por: Fecha:	Revisado por: Fecha:	Autorizado por: Fecha:
--------------------------	-------------------------	---------------------------



- Estándar de 0.50 mg SAAM/L Vierta un volumen de 5.0 mL de la solución de trabajo de 10 mg/L de SAAM en un embudo de separación de 250 mL, agregue suficiente agua destilada hasta un volumen aproximado de 100 mL y continúe el proceso de extracción como se indica en el numeral 10; como el volumen final del extracto en la fase clorofórmica es de 100 mL, la concentración de esta solución es de 0.50 mg SAAM/L.
- Estándar de 2.5 mg SAAM/L Vierta un volumen de 25 mL de la solución de trabajo de 10 mg SAAM/L en un embudo de separación de 250 mL y continúe el mismo procedimiento. La concentración final de esta solución es de 2.5 mg SAAM/L

## 10. PROCEDIMIENTO DE ANÁLISIS

### 10.1 Extracción de la Muestra

Solicite las muestras mediante el formato TF0061, deje aclimatar.

Vierta el volumen de estándar arriba indicado o el volumen de muestra conveniente así: 100 mL si la concentración de SAAM esperada es inferior a 3.0 mg SAAM/L o un volumen adecuado para que la concentración este entre 0.5 y 3.0 mg SAAM/L y adicione el volumen de agua UP necesario para completar 100 mL en un embudo de separación de 250 o 500 mL según convenga.

Agregue a cada muestra o estándar unas 3 gotas de indicador de fenolftaleína, adicione gota a gota NaOH 1 N, hasta color rosado persistente, a continuación adicione gota a gota H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 N justo hasta la desaparición del color rosado

Adicione tres gotas de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> al 30%, para evitar la decoloración del azul de metileno por sulfuros, agite.

Añada 25 mL de reactivo de azul de metileno y 25 mL de cloroformo. Agite el embudo vigorosamente durante 30 segundos despresurizando el embudo después de cada extracción y deje que se separen las fases. Una excesiva agitación puede provocar emulsión. Para romper las emulsiones persistentes, añada un pequeño volumen de isopropanol (<10 mL); agregue el mismo volumen de isopropanol a todos los estándares. Generalmente para las curvas de calibración no se forma ningún tipo de emulsión. Algunas muestras requieren un periodo más largo de separación de fases que otras. Antes de drenar la capa de cloroformo, mueva suavemente y deje reposar.

Separe la capa de cloroformo vertiendo en un segundo embudo de separación o en un vaso de 100 mL. Enjuague el vástago del primer embudo con una pequeña cantidad de cloroformo. Repita la extracción dos veces más utilizando 25 mL de

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0151	Fecha de elaboración: 31/08/2007	Versión: 02
TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA - METODO SAAM			

cloroformo cada vez. Si el color azul de la fase acuosa se debilita o desaparece, deséchela y repita con un volumen menor muestra.

Combine todos los extractos de cloroformo en el segundo embudo de separación. Añada 50 mL de solución de lavado y agite vigorosamente durante 30 segundos; En esta etapa no se forman emulsiones. Deje reposar; y extraiga la capa de cloroformo a través de un embudo de vidrio pequeño de vástago delgado que contenga un tapón de algodón en un balón aforado de 100 mL clase A; el filtrado debe ser claro. Extraiga una vez más la solución de lavado con 25 mL de cloroformo. Recoja los extractos clorofórmicos en el balón de 100 mL, complete a volumen hasta la línea de aforo con cloroformo y mezcle bien.

#### 10.2 Medición espectrofotométrica:

Encienda el Espectrofotómetro UV-VIS con la lámpara de tungsteno, 45 minutos antes de iniciar las lecturas, tenga en cuenta el manual TM0166, cuyo diagrama de flujo está ubicado en la pared al lado del equipo, para especificar los rangos de medición. La lectura de SAAM debe hacerse a 652 nm. Cargue la última curva de calibración.

Verifique que la celda de vidrio de 1 cm esté perfectamente limpia, si la observa manchada de color azul déjela en jabón, hágale un lavado con HCl al 5% y enjuáguela perfectamente con agua desionizada.

Almacene los datos en la carpeta del año correspondiente, en la sub carpeta Tensoactivos. Grabe la curva, los estándares y las muestras de dicha curva de calibración, archivándola por la fecha en que se realizó, dos dígitos para día, mes y año (dd/mm/aa), en las carpetas Curvas, Estándares y Muestras respectivamente. Imprima el reporte en papel y entréguelo al Líder de análisis para su aprobación.

Para iniciar las lecturas fotométricas, coloque Cloroformo en la celda, léalo como blanco, verifique la observación de una línea recta horizontal en el rango de la longitud de onda de los 652 nm, lea el blanco de reactivos y codifíquelo como BLANCO, la absorbancia debe registrar cifras exponenciales de  $10^{-3}$  y  $10^{-4}$ , continúe con los estándares de control en orden creciente desde el de más baja concentración, léalos como muestras.

Registre los resultados de los estándares con 2 cifras significativas en la carta de control, verifique que los valores se encuentren dentro del rango de 2 (S) desviaciones estándar por encima ó por debajo, respecto del valor teórico esperado.

Elaborado por: Fecha:	Revisado por: Fecha:	Autorizado por: Fecha:
--------------------------	-------------------------	---------------------------

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0151	Fecha de elaboración: 31/08/2007	Versión: 02
TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA - METODO SAAM			

Determine la absorbancia y concentración de SAAM en mg/L a 652 nm frente a un blanco de Cloroformo. Procese el blanco de la misma manera que los estándares o muestras utilizando agua en lugar de muestra o estándar

### 10.3 Manejo de Desechos

Una vez realizados los análisis, recupere en el rotavapor los residuos de cloroformo contenido en los balones de 100 mL.

Vierta los desechos de la fase acuosa en la caneca de Desechos Acuosos con Residuos de Solventes.

### 11. PROCESAMIENTO DE DATOS Y CÁLCULO DE RESULTADOS:

Los resultados se reportan como mg/L de SAAM como sulfato de dodecilo. A partir de la curva de calibración, los valores interpolados en esta tanto para muestras como para estándares corresponden a mg SAAM/L.

El espectrofotómetro arroja resultados en mg SAAM/L de acuerdo al factor de dilución digitado en el momento de la lectura, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{mg SAAM/L} = m \times \text{Absorbancia a 652 nm}$$

m = inverso de la pendiente de la curva de calibración.  
 Absorbancia = Lectura realizada por el espectrofotómetro.  
 mg SAAM/L = Concentración de Tensoactivos calculada y registrada por el espectrofotómetro UV-VIS

Escribir el resultado con dos cifras significativas, redondeando de acuerdo a los criterios establecidos en el procedimiento de lineamientos de control de calidad analítica TP0100.

### 12. CONTROL DE CALIDAD (CC) Y ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

Cuando realice la curva de calibración acéptela si tiene un coeficiente de correlación desde 0,999.

Por cada lote de muestras que analice, pase un Blanco, estándares de control de 0.50 y 2.5 mg SAAM/L y un Duplicado.

Los blancos se analizan para determinar si la calidad del agua y de los reactivos es óptima.

Elaborado por: Fecha:	Revisado por: Fecha:	Autorizado por: Fecha:
--------------------------	-------------------------	---------------------------

	Instituto de Hidrología, Meteorología y Estudios Ambientales Ministerio de Ambiente, Vivienda y Desarrollo Territorial – República de Colombia		
	SUBDIRECCIÓN DE HIDROLOGÍA - GRUPO LABORATORIO DE CALIDAD AMBIENTAL		
	Código: TP0151	Fecha de elaboración: 31/08/2007	Versión: 02
TENSOACTIVOS ANIÓNICOS EN AGUA - METODO SAAM			

Los duplicados evalúan la limpieza del material de vidrio, la purga adecuada de la celda, la replicabilidad del método. Analice por duplicado una de las muestras del lote procesado. El porcentaje de la diferencia entre los duplicados no debe ser mayor al 10%, si la variación excede este límite, debe repetirse el análisis.

Lleve los registros de los estándares de control de 0.50 mg /L y 2.5 mg /L en la carta de control para la determinación de Tensoactivos. Registre las iniciales del analista y la fecha de análisis en las celdas correspondientes y grafique el valor promedio diario de la concentración real del analito.

Cuando los resultados se encuentren entre el límite de alarma y control, revise todo el procedimiento para determinar que ocurre. Si cualquier dato cae fuera de los límites de control debe ser reexaminado y si es necesario, se debe repetir el análisis de todo el grupo de muestras, no realice más análisis hasta verificar que sucede; comuníquelo la anomalía al líder de análisis y revise, inicie nuevamente la marcha analítica cuando el líder lo ordene.

Verifique los estándares de control, si el resultado analítico cae fuera de los límites de control normales, deben revisarse estándares de calibración, material de vidrio, reactivos y blancos; el análisis solo se puede reanudar cuando se corrija el problema

### 13. SECCIÓN DE REFERENCIA

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. *American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation.* 21ed., New York, 2005

Methods for Chemical Analysis of Water and Wastes. United States Environmental Protection Agency. Cincinnati, 1983.

RODIER, J. Análisis de Aguas: aguas naturales, aguas residuales, agua de mar. Omega, Barcelona, 1981.

SAWYER, C.; McCARTY, P. Chemistry for Environmental Engineering. McGraw Hill, New York, 1996.

Elaborado por: Fecha:	Revisado por: Fecha:	Autorizado por: Fecha:
--------------------------	-------------------------	---------------------------