



VALIDACIÓN DEL MÉTODO GRAVIMÉTRICO PARA DETERMINAR ACEITES Y GRASAS EN MUESTRAS DE AGUAS RESIDUALES VALIDATION OF GRAVIMETRIC METHOD TO DETERMINE OILS AND GREASE IN WASTEWATER SAMPLES

Sandra Crombet-Grillet^{1*} <https://orcid.org/0000-0002-3887-4286>

Arelis Ábalos-Rodríguez² <https://orcid.org/0000-0002-0007-5825>

Norma E. Pérez-Pompa¹ <https://orcid.org/0000-0002-4279-9709>

Jesús A. Bolaños-Campos³ <https://orcid.org/0000-0003-3830-3149>

Osmany Espinel-Hernández⁴ <https://orcid.org/0000-0002-5071-7961>

¹Departamento de Química, Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

²Centro de Estudios de Biotecnología Industrial (CEBI), Facultad de Ciencias Naturales y Exactas, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, Cuba

³Empresa Nacional de Análisis y Servicios Técnicos (ENAST), Santiago de Cuba, Cuba

⁴Empresa Geominera de Oriente-Geominsal, Santiago de Cuba, Cuba

*Autores para la correspondencia: scrombetg@gmail.com; scrombet@uo.edu.cu

Recibido: 10 de noviembre de 2024

Aprobado: 15 de diciembre de 2024

RESUMEN

Este trabajo se desarrolló en el laboratorio químico de la Empresa Nacional de Análisis y Servicios Técnicos de Santiago de Cuba. Consiste en validar e implementar el método gravimétrico para la determinación de aceites y grasas, mediante extracción líquido-líquido en muestras de aguas residuales. Los parámetros de desempeño determinados fueron: precisión, veracidad, límite de detección, límite de cuantificación e incertidumbre. Se siguió el protocolo establecido en las normas cubanas: NC TS 368:2010: "Guía para la validación de métodos analíticos de ensayos químicos para alimentos", y NC TS 367:2008: "Guía para la estimación y expresión de la Incertidumbre de la medición en análisis químico", empleando el *software* Statgraphics Centurion XV 15.2.4. La incertidumbre del método fue de 10,28 %, para un nivel de confianza del 95 %. La aplicabilidad en muestras reales mostró una concentración de $18,752\ 9 \pm 0,017\ 6$ mg/L y un coeficiente de variación de un 0,9376 %. El estudio evidenció que son aceptables los resultados, garantizando la rapidez y confiabilidad del método.

Palabras clave: validación; parámetros de desempeño; método gravimétrico; aceites y grasas; extracción.

ABSTRACT

This work was developed in chemical laboratory of the National Company of Analysis and Technical Services of Santiago de Cuba. It consists of validating and implementing the gravimetric method for determination of oils and grease, by liquid-liquid extraction in wastewater samples. The performance parameters determined were: precision, veracity, detection limit, quantification limit and uncertainty. The protocol established in Cuban standards was followed: NC TS 368:2010: Guide for validation of analytical methods of chemical tests for food and NC TS 367:2008: Guide for estimation and expression of measurement uncertainty in chemical analysis, using the software Statgraphics Centurion XV 15.2.4. The uncertainty of method was 10,28 %, for a confidence level of 95 %. The applicability in real samples showed a concentration of $18,752\ 9 \pm 0,017\ 6$ mg/L and a variation coefficient of 0,937 6 %. The study showed that results are acceptable, guaranteeing the speed and reliability of method.

Keywords: validation; performance parameters; gravimetric method; oils and grease; extraction.

INTRODUCCIÓN

Los aceites y grasas son algunos de los contaminantes que causan un mayor impacto negativo al medio ambiente, y que más problemas ocasionan en el tratamiento de aguas residuales en la actualidad. Estos ocasionan un recubrimiento en la superficie del agua en forma de nata o película impermeable, al ser compuestos orgánicos insolubles, no biodegradables y altamente estables. Impiden el paso del oxígeno y afectan el desarrollo de la vida acuática, causan problemas de mantenimiento en la red de alcantarillado y en los sistemas de tratamiento biológico o físico-químico, utilizados para la depuración del agua.^(1,2) Los aceites y grasas son componentes que están, generalmente, presentes en las aguas residuales domésticas, en aguas residuales industriales o actividades comerciales, donde se usan productos a base de aceites y grasas. Es importante, que las empresas tengan conocimiento de la cantidad de aceites y grasas presentes en sus vertidos, lo cual les permite realizar un tratamiento adecuado antes de su disposición final.^(2,3,4)

La determinación de aceites y grasas puede aplicarse a casi todas las aguas, incluyendo: agua contaminada, aguas residuales y efluentes de plantas de tratamiento. Es importante hacer una selección correcta del método a utilizar, de acuerdo a las características de las muestras y las posibilidades reales de acometer este procedimiento analítico. Los métodos que más se han empleado son: partición gravimétrica, partición infrarrojo y el método Soxhlet. El método de partición infrarrojo está diseñado para muestras que podrían contener hidrocarburos volátiles, que de otra manera, se perderían en las operaciones de eliminación de solventes del procedimiento gravimétrico.⁽⁵⁾ Está diseñado para muestras con niveles bajos de aceite y grasa (< 10 mg/L) porque los métodos gravimétricos no brindan la precisión necesaria a estos niveles de concentración. El método Soxhlet es el método de elección cuando están presentes fracciones de petróleo pesadas relativamente polares, o cuando los niveles de grasas no volátiles pueden desafiar el límite de solubilidad del solvente. En este estudio, se opta por seleccionar el método gravimétrico por el contenido de aceites y grasas que presentan las muestras de agua (> 10 mg/L), por la disponibilidad, costos y números de análisis, la infraestructura, materiales y reactivos.^(4,6)

El método gravimétrico se basa en la determinación cuantitativa de la masa de un producto puro, que está

relacionado químicamente con el analito. Los métodos gravimétricos por extracción se fundamentan en la separación previa del analito del resto de los componentes de la muestra, mediante un proceso de extracción y luego la cuantificación gravimétrica; ya sea con el empleo de solventes orgánicos que solubilizan el compuesto objeto de estudio,⁽⁷⁾ o con solución ácida, básica o neutra, que separe compuestos interferentes.⁽⁸⁾

Estos métodos se fundamentan en una extracción basada en las diferencias de solubilidad de los componentes de la muestra (matriz) en un solvente particular dado. Aprovechando la naturaleza apolar de los lípidos, se lleva a cabo la extracción con un solvente orgánico que solubiliza no solo aceites y grasas, sino también otras sustancias orgánicas, esteroides, fosfolípidos, vitaminas liposolubles, y otros compuestos que son también solubles en solventes apolares. El método no es aplicable para la determinación de materiales de bajo punto de ebullición, que se volatilicen a menos de 85 °C.^(6,8,9)

La validación de un método analítico implica la demostración de la determinación de fuentes de variabilidad y de errores sistemáticos de un procedimiento, no solo dentro de la calibración, sino en el análisis de muestras reales.⁽¹⁰⁾ Tiene como objetivo establecer, por medio de estudios científicos, que un método tiene las características de desempeño adecuadas para cumplir los requerimientos de las aplicaciones analíticas pretendidas y las normas internacionales, que permita emitir resultados exactos y precisos que sean reproducibles para generar la confianza en nuestros clientes.

Una vez validada una metodología analítica, el laboratorio de ensayo deberá fijar los intervalos de aceptabilidad para el control de calidad de cada una de las propiedades analíticas del método. Una metodología, aun cuando tenga el carácter de método estándar u oficial, debería ser validada antes de ser utilizada en forma rutinaria.⁽¹¹⁾

El laboratorio químico perteneciente a la Empresa Nacional de Análisis y Servicios Técnicos (ENAST) de Santiago de Cuba, se dedica a prestar servicios de análisis físico-químico, biológico y microbiológico en agua y aguas residuales. La validación del método gravimétrico para la determinación de aceites y grasas en el recurso agua en esta empresa, será utilizado como una técnica que permita conocer el estado en que se encuentra este indicador en las aguas residuales y los cuerpos receptores de las mismas. Esto permite respaldar a los clientes, con el fin de tomar acciones

pertinentes frente a las descargas industriales y a la calidad de las masas de agua receptoras.⁽¹²⁾ El objetivo de este trabajo es evaluar los parámetros de desempeño para la determinación de aceites y grasas en muestras de aguas residuales, mediante el método gravimétrico por extracción líquido-líquido.

MATERIALES Y MÉTODOS

Fueron utilizados los materiales y equipos disponibles en el Laboratorio de ensayos físico-químicos ENAST-Santiago de Cuba, verificados por la Oficina Territorial de Normalización. Los reactivos empleados poseían calidad puro para análisis, según certificado de calidad de los proveedores. Los parámetros de validación evaluados se determinaron según la metodología establecida por las Norma Cubana: NC TS 368:2010: "Guía para la validación de métodos analíticos de ensayos químicos para alimentos",⁽¹³⁾ y la NC TS 367:2008: "Guía para la estimación y expresión de la incertidumbre de la medición en análisis químico".⁽¹⁴⁾ El método empleado para la determinación de aceites y grasa está reportado en la sección 5520 B del Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater 23rd Edition⁽⁶⁾ y asentado en el manual de laboratorio SIG-ENAST: PA29 (2020).⁽⁹⁾

Preservación y almacenamiento de las muestras

Las muestras ingresaron al laboratorio en envase de vidrio de 1 L, siguiendo la metodología establecida en la Guía para la conservación y manipulación de las muestras de agua (ISO 5667-3: 2024).⁽¹⁵⁾ Una vez registradas, si se analizan dentro de las primeras 2 h, solo necesitan refrigeración si no, preservación con ácido sulfúrico 1:1. Las muestras no deben guardarse más de 28 días.^(6,9)

Preparación de la muestra

Se determinó el volumen inicial de la muestra original, y se acidificó con ácido sulfúrico 1:1 hasta $\text{pH} \leq 2$, con el fin de romper las emulsiones e hidrolizar los jabones y detergentes, los cuales pierden su componente polar y revierten a una estructura hidrocarbonada que es incluida en la determinación.^(6,9)

Para el estudio de reproducibilidad, se tomaron durante 15 días, por duplicado, muestras de aguas residuales analizadas con cotidianidad en el laboratorio de análisis químico-físico. Las mismas fueron dosificadas con aceite de cocina para obtener una concentración aproximada de 21 mg/L. El criterio de selección de esta concentración fue intencional, teniendo en cuenta el

rango de límites máximos permisibles promedio para las descargas de aguas residuales, según la clasificación del cuerpo receptor (de 0-30 mg/L) establecidos en la NC 27: 2012.⁽¹⁶⁾ Se analizaron diez muestras de agua residual doméstica reales, preparadas y preservadas, según lo explicado anteriormente.

Preparación del patrón de referencia interno

Solución patrón de referencia interno de ácido esteárico-ácido palmítico

Se pesó 20 mg de ácido esteárico y 20 mg de ácido palmítico en balanza analítica. Se agregó 30 mL de solvente n-hexano para disolver la mezcla de ácidos. La disolución obtenida se transfirió a un matraz aforado de 100 mL, se enrasó con el solvente y se almacenó en un frasco de vidrio ámbar con tapa de rosca de TFE.⁽⁹⁾

Procedimiento del método gravimétrico

Para el método gravimétrico, se preparó el tarado de un grupo de balones, introduciéndolos en la estufa a una temperatura de 103-105 °C durante una hora, luego se enfrió en la desecadora durante 30 min; se pesó, y se repitió el procedimiento hasta obtener el peso constante.

La muestra se transfirió a un embudo separador de 2 L, empleando un embudo de cristal. Para arrastrar los aceites y grasas que pudieron haber quedado en el frasco original de la muestra, se añadió 30 mL de solvente n-hexano, y luego se incorporó al embudo separador. Se agitó el embudo vigorosamente durante dos minutos, y se dejó en reposo quince minutos, para que las fases inmiscibles se separaran. La fase acuosa y una pequeña cantidad de la fase orgánica, se drenaron dentro del frasco original de la muestra. La fase orgánica, que quedó en el embudo separador de 2 L, se pasó a través de un embudo cristal con papel de filtro, previamente humedecido con el solvente, y que contenía 10 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4). El filtrado se llevó al balón de destilación previamente tarado y secado.

El proceso de extracción se repitió tres veces más con la muestra que queda en el recipiente original, y se utilizaron 30 mL de solvente por vez. La fase orgánica de cada una de estas extracciones se llevó al balón de destilación. Se enjuagó el papel de filtro y el Na_2SO_4 con 15 mL adicionales de n-hexano. El filtrado se adicionó al balón de destilación, el cual se llevó a la cámara para la evaporación del solvente, con una manta de calentamiento eléctrica a la temperatura de 69 °C (temperatura de ebullición del n-hexano).

Cuando visualmente la condensación del solvente culminó, el balón se retiró, se enfrió en desecadora durante treinta minutos, a una temperatura ambiente de 17 °C, y se pesó en balanza analítica. El procedimiento se repitió, desde la evaporación del solvente hasta la pesada, hasta lograr un peso constante.

El cálculo de la concentración de los aceites y grasas se determinó según la siguiente ecuación (1):

$$\text{mg de aceites y grasas/L} = \frac{A - B}{\text{mL de muestra}} * 1\ 000 \quad (1)$$

donde

A: peso final del balón después de la evaporación, en g.

B: peso inicial del balón previamente tarado, en g.

Parámetros de desempeño determinados

Precisión: se estableció en términos de repetibilidad y reproducibilidad interna. Para estimar la precisión, se analizó un cierto número de muestras paralelas del mismo material.^(17,18,19)

Repetibilidad: esta prueba se realizó sobre muestras representativas de la solución patrón (mezcla de ácido esteárico y ácido palmítico preparada anteriormente). Se analizaron durante quince días diferentes y un mismo analista, con un adecuado número de repeticiones cada día, en este caso, dos repeticiones a corto intervalo de tiempo, obteniendo un total de treinta resultados. Para la prueba de repetibilidad, se realizó un análisis de varianzas en todo el dominio de aplicación del método a validar mediante un test de Cochran. Se espera, que las varianzas sean estadísticamente iguales entre sí. Se calculó la desviación típica de la repetibilidad (S_r) y la desviación típica relativa (RSDr) o (Coeficiente de Variación). El valor (RSDr) también es el valor de la incertidumbre típica relativa de la repetibilidad (U_r), y se expresa en %.⁽¹³⁾ Para este caso, el RSDr estimado por el laboratorio es de un 5 %.⁽¹⁹⁾

Reproducibilidad interna: la prueba se realizó sobre muestras reales, con una concentración conocida de 21 mg/L de aceites y grasas; las determinaciones fueron realizadas bajo condiciones de precisión intermedia (diferentes técnicos (2) durante quince días). Se utilizó el análisis de varianzas en el análisis estadístico. Se calcularon las desviaciones estándares de la repetibilidad y la reproducibilidad interna para establecer sus relaciones, de acuerdo con lo establecido en la norma de validación, se espera que la repetibilidad esté en el intervalo de 1/2 a 2/3 de la

reproducibilidad interna. Para este caso, el porcentaje de coeficiente de variación (RSD_R) estimado por el laboratorio, es de máximo 5 %.^(13,19)

Veracidad: se evaluó mediante un experimento de recuperación.^(13,20) La gran ventaja de utilizar ensayos de recuperación es, que la matriz es representativa de muestras auténticas. Se usó esta vía porque el laboratorio no cuenta con materiales de referencia certificados (MRC), ni un método estándar validado para comparación. Si el resultado de recuperación cae dentro de los límites de 80-110 %, se considera satisfactoria la recuperación.^(13,19) Para la determinación del por ciento de recuperación, fue medida una solución de concentración conocida 9,2 mg/L de aceite sin adición, por triplicado. Luego, se realizó la fortificación de la misma mediante soluciones con adición del estándar ácido esteárico a diferentes concentraciones de 10 mg/L, 30 mg/L, 60 mg/L; se realizaron tres repeticiones para reportar el por ciento de recuperación. Se espera, que el rendimiento promedio sea estadísticamente igual al 100 % de recuperación, para una evaluación del sesgo, para comprobarlo es posible utilizar una prueba-t simple ([Ecuación 2](#)).

$$R(\%) = \left[\left(\frac{Q_{\text{hallada}} - Q_{\text{original}}}{Q_{\text{añadida}}} \right) * 100 \right] \quad (2)$$

donde

R (%): valor del % recuperación.

Q_{hallada} : concentración promedio determinada para la muestra fortificada.

Q_{original} : concentración promedio de la muestra original sin adición.

$Q_{\text{añadida}}$: Concentración promedio la muestra añadida.

Límites de detección (LD) y cuantificación (LC): se calcularon, analizando veinte réplicas independientes de blancos.^(13, 19) Para cada blanco, se determinó la concentración de aceites y grasas, correspondiente al valor de masa obtenida, teniendo en cuenta la ecuación (1). Se calculó el promedio (m) y la desviación estándar (S) de las concentraciones halladas, y luego se determinó el (LD) y el (LC) mediante las [Ecuaciones 3](#) y [4](#), respectivamente:

$$LD = m + 3 * S \quad (3)$$

$$LC = m + 10 * S \quad (4)$$

Incertidumbre: la evaluación de la incertidumbre de la medición en análisis químico es una actividad fundamental, que realiza cualquier laboratorio que desee emitir resultados confiables, y debe basarse en normas reconocidas.^(20,21) Es un parámetro asociado con el resultado de una medición, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían atribuirse, razonablemente, al mesurando.⁽¹³⁾

La incertidumbre del método se realiza de la siguiente manera: primero se determinan los componentes o fuentes de la incertidumbre; luego se convierten los componentes en incertidumbre estándar (U); tercero, se determina la incertidumbre combinada (U_c), y finalmente se procede a determinar la incertidumbre expandida (U %),^(14,22) que se multiplica por un factor de cobertura $k=2$, con el propósito de entregar los resultados con un 95 % de confianza, siendo esta última la incertidumbre del método.^(13, 22) La incertidumbre debe ser $\leq 30\%$.^(14,19)

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La evaluación de los parámetros de desempeño de un método analítico permite conocer la precisión y exactitud del mismo. El conocimiento de si una técnica de análisis cumple con lo normativo, permite brindar un mejor servicio, y proporcionar datos confiables para el uso del compuesto o producto de interés.

Los resultados obtenidos en esta investigación se basan en el análisis de los parámetros de validación interna: precisión expresada como repetibilidad y reproducibilidad interna, veracidad, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC) e incertidumbre de validación, aplicados al método gravimétrico para la determinación de aceites y grasas en matrices de aguas residuales. La determinación de estos parámetros permitirá evaluar si el método empleado por el Laboratorio de Ensayos Físico-Químicos, perteneciente a la Empresa Nacional de Análisis y Servicios Técnicos (ENAST) de Santiago de Cuba, cumple con los requisitos propuestos por la Norma Cubana de Guía para la validación de métodos analíticos de ensayos químicos para alimentos (NC TS 368:2010)⁽¹²⁾, y Guía para la estimación y expresión de la Incertidumbre de la medición en análisis químico (NC TS 367:2008).⁽¹³⁾

Precisión

La determinación de la precisión de un método se puede realizar, calculando a través del análisis simple

de varianza (ANOVA de un factor), las desviaciones estándares de repetibilidad (S_r) y de reproducibilidad (S_R), para cada uno de los niveles de ensayo.

De acuerdo con los resultados obtenidos en la [Tabla 1](#), el valor C calculado es 0,356 0, siendo este menor que la C crítica o tabulada (1,761 3) para un $\alpha = 5\%$; $p = 0,95$, y $GL = 14$, demostrando que no hay diferencia significativa entre las varianzas en el rango de concentraciones evaluadas con un 95 % de confianza, evidenciando que existe una distribución normal.

Tabla 1- Resultados para la prueba de repetibilidad del método

Parámetro	Resultado	Criterio de aceptación
Media general (mg/L)	0,45	
ΣR^2	0,002	
S_r	0,007	
S_r^2	0	
RSD _r (%)	1,62	5,3
Test de Cochran (C) calculado	0,356	1,761 3

Legenda: S_r : desviación estándar de repetibilidad, S_r^2 : varianza de repetibilidad, RSD_r (%): coeficiente de variación de repetibilidad.

El RSD_r (1,62 %) es aceptable, teniendo en cuenta que es menor que el RSD_r máximo (5,3 %), reportado en la NC-TS 368: 2010. Según SIG-ENAST: PT09,⁽¹⁹⁾ la precisión del método gravimétrico para aceites y grasas, se considera buena para valores inferiores al 5 % del RSD_r, corroborando la aceptación del método evaluado. Los experimentos para el cálculo de la reproducibilidad interna ([Tabla 2](#)) se realizaron por duplicado, utilizando muestras de agua procesadas en el laboratorio. Para analizar si existe diferencia significativa entre los resultados obtenidos por ambos analistas, se realizó una prueba ANOVA o análisis de varianza ([Tabla 3](#)).

De acuerdo con los resultados presentados en la [Tabla 3](#), el F calculado es 7,850 mayor que el F crítico (2,424), demostrando que existe diferencia significativa entre los datos para una concentración (21,33 mg/L), como se aprecia en la [Tabla 2](#). Este resultado puede estar influenciado por la diferencia de experiencia entre los analistas 1 y 2.

Una diferencia estadística puede no ser una diferencia significativa químicamente (consideración práctica). Al existir diferencia significativa entre los días (F calculado > F crítico), se hace necesario analizar la conexión entre S_R ([Tabla 4](#)) y la reproducibilidad interna expresada como repetibilidad (S_r), representa en la [Tabla 2](#).⁽¹³⁾

Tabla 2. Resultados para la prueba de reproducibilidad interna del método

Parámetro	Resultado		Criterio de aceptación
Aceites y grasas (mg/L)	Analista 1	Analista 2	
Réplica 1	21,37	21,29	
Réplica 2	21,34	21,33	
Promedio general	21,33		
ΣR^2	0,04		
S_r	0,04		
S_r^2	0		
RSD_r (%)	0,17		5,3

Leyenda: S_r : desviación estándar de repetibilidad; RSD_r (%): coeficiente de variación de la repetibilidad; S_r^2 : varianza de repetibilidad.

Tabla 3- Análisis estadístico para la prueba de reproducibilidad interna

Fuente	Suma de cuadrados	GL	Cuadrado medio	Razón-F calculado	Razón-F crítico
Entre grupos	0,144	14	0,01		
Intra grupos	0,02	15	0,001	7,85	2,424
Total (Corr)	0,164	29	0,011		

Tabla 4- Cálculo de estadígrafos vinculados con la reproducibilidad

Parámetro	Resultado	Criterio de aceptación
Aceites y grasas (mg/L)	21,33	
S	0,00555	
S_d^2	0,01	
S_L^2	0	
S_R^2	0,01	
S_R	0,08	1/2 a 2/3 de S_r
RSD_R (%)	0,36	5

Leyenda: S_d^2 : varianza de las diferencias de las medias aritméticas del laboratorio respecto a la media; S_L^2 : varianza interlaboratorio; S_R : desviación estándar de reproducibilidad; S_R^2 : varianza de la reproducibilidad; RSD_R (%): coeficiente de variación de la reproducibilidad.

Analizando las S_r (Tabla 2) y S_R (Tabla 4), y siguiendo los criterios de la NC-TS 368: 2010,⁽¹³⁾ de que la repetibilidad debe caer en el intervalo de 1/2 a 2/3 de la reproducibilidad interna, por tanto, se acepta el valor de 0,04 mg/L para la reproducibilidad interna expresada como repetibilidad, y de 0,08 mg/L para la reproducibilidad interna. Además, el RSD_R es 0,36 % (Tabla 4), siendo aceptable teniendo en cuenta que para ensayos físico-químicos, el valor de RSD_R no debe excederse del 5%.⁽¹⁹⁾ Los resultados obtenidos demuestran que el método es preciso en condiciones de reproducibilidad.

Veracidad

La Tabla 5 muestra los valores del (% R) recuperación, obtenidos en este análisis mediante la ecuación (2). al medir el recobrado del método, y el análisis estadístico a través de una prueba t-student, son reportados en la Tabla 6.

La prueba de recuperación con el estándar de ácido esteárico, a diferentes concentraciones 10, 30 y 60 mg/L (Tabla 5), arrojó que las concentraciones determinadas son ideales, ya que los porcentajes de recuperación para los tres niveles de concentración son superiores al 80 % y menores que el 110 %, límites mínimo y máximo establecidos por la NC-TS: 368: 2010.⁽¹³⁾ Se realizó una prueba t-student para demostrar si había o no diferencias significativas entre el % R obtenido y el 100 % de recuperación (Tabla 6).

Se evidenció, que para los tres rangos de concentración evaluados la t experimental, siempre fue menor que la t crítica, comprobando que no hay diferencia significativa para un 95 % de confianza. Siguiendo los criterios de la norma, se puede concluir, que los resultados obtenidos demuestran que el método es veraz.

Tabla 5- Resultados para la prueba de veracidad del método

CSA (mg/L)	CCA (mg/L)	CA (mg/L)	CD (mg/L)	Qh	% R	Qo	Qa
9,2	19,2	10	19,42	19,844	106,44	9,2	10
		10	19,164				
		10	20,949				
		30	37,977				
	39,2	30	39,447	38,669	98,23	9,2	30
		30	38,583				
		60	69,806				
		60	68,193				
69,2	60	60	69,706	69,706	100,8	9,2	60
		60	71,119				

Leyenda: CSA: concentración sin adición; CCA: concentración con adición, CA: concentración añadida; CD: concentración determinada; % cR: porcentaje de recuperación; Qh: concentración promedio determinada para la muestra fortificada; Qo: concentración promedio de la muestra original sin adición; Qa: concentración promedio de la muestra añadida.

Tabla 6- Análisis estadístico de los resultados de la veracidad mediante una prueba t-student

Qa	RSD (%)	S	t experimental	t crítica
10	4,863	0,965	2,294	2,92
30	1,91	0,738	1,604	2,92
60	2,102	1,465	0,694	2,92

Límites de detección (LD) y cuantificación (LC)

Para la determinación del LD y el LC, se prepararon y analizaron veinte alícuotas del blanco fortificado a un nivel de concentración de 0,4 mg/L. Con los valores de la concentración del blanco, fue calculada la desviación estándar (S) y el promedio, para determinar los límites de detección y cuantificación; en la [Tabla 7](#) se muestran los resultados de los mismos.

El LD se calculó según la ecuación (3) y para el LC según la ecuación (4) obteniendo 0,614 8 mg/L y 0,9998 mg/L, respectivamente. El LD obtenido se encuentra por debajo del valor obtenido por el ENAST-Habana (1,4 mg/L) para el mismo método.⁽⁹⁾

Incertidumbre

La información que se encuentra a continuación corresponde a la determinación de la incertidumbre

estándar de los componentes identificados (U), incertidumbre combinada (U_c) e incertidumbre expandida (U, %), siendo esta última la incertidumbre del método ([Tabla 8](#)).

El valor obtenido de la incertidumbre del método ([Tabla 8](#)) es 10,28 %, para un nivel de confianza del 95 %, ubicándose este resultado por debajo del valor máximo estimado (≤ 30 %); por lo que se puede plantear, que el método presenta una incertidumbre adecuada. Se tomó este valor como incertidumbre del método, dado que este abarca la incertidumbre de las concentraciones de cada parámetro.

Análisis de muestras de agua residual doméstica

La [Tabla 9](#) muestra los resultados de diez análisis de muestras de un agua residual doméstica. Se reporta, además, el promedio, desviación estándar y coeficiente de variación.

Tabla 7- Límites de detección (LD) y cuantificación (LC)

Concentración Promedio del blanco	S	Parámetro	Concentración (mg/L)
0,449 8	0,055	LD	0,614 8
		LC	0,999 8

Tabla 8- Estimación de la incertidumbre del método de aceites y grasas

Parámetro que aporta	Incertidumbre (U)	U ²	Criterio de aceptación
Repetibilidad	1,622	2,632	
Reproducibilidad según NC-TS:368:2010	0,36	0,13	
Veracidad estudio de recuperación	4,863	23,657	
Incertidumbre combinada U _c	5,14		
Incertidumbre expandida relativa (U, %)	10,28		≤30

Tabla 9- Contenido de aceites y grasas de un agua residual doméstica mediante el método gravimétrico

Muestras	Aceites y grasas C(mg/L)
1	18,928 7
2	18,544 5
3	18,619 7
4	18,804 6
5	18,875
6	19,119 5
7	18,663 2
8	18,787 5
9	18,955 9
10	18,680 0
Media	18,757 8
S	0,017 6
RSD	0,937 6

El coeficiente de variación se considera aceptable, teniendo en cuenta que corresponde al análisis de una muestra real y está en el intervalo teórico reportado para el método gravimétrico $< 5\%$.^(6,9)

CONCLUSIONES

La evaluación de los parámetros de desempeño para la determinación de aceites y grasas en muestras de aguas residuales, mediante el método gravimétrico por extracción líquido-líquido, evidenció que el método es confiable. La incertidumbre del método fue de 10,28 %, para un nivel de confianza del 95 %. Se comprobó la aplicabilidad del método en muestras reales, para una concentración de $18,757\ 8 \pm 0,017\ 6$ mg/L, que mostró un coeficiente de variación de un 0,937 6 %. La institución dispondrá de un método validado, rápido, preciso y económico que le permitirá ampliar sus servicios; por la alta demanda de este análisis, contará con una nueva fuente de ingreso económica.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- VIDALES-OLIVO, A.; LEOS-MAGALLANES, M.; CAMPOS-SANDOVAL, M. “Extracción de aceites y grasas en los efluentes de una industria automotriz”. *Conciencia Tecnológica*. 2010, **40**, 29-34. ISSN: 1405-5597.
- ORTEGA-PENÑA, N. *et al.* “Propuesta tecnológica de tratamiento para las aguas residuales de la planta industrial de producción del ingrediente activo palmex”. *Rev. CENIC Cienc. Quím.* 2023, **54**, 82-95. e-ISSN: 2221-2442.
- GUILCAMAIGUA-ANCHATUÑA, D. X.; QUINTERO-QUIÑONEZ, N.; JIMÉNEZ-CERCADO, M. E.; MUÑOZ-NARANJO, D.

“Absorción de aceites y grasas en aguas residuales de lavadoras y lubricadoras de vehículos utilizando absorbentes naturales”. *3C Tecnología. Glosas de innovación aplicadas a la pyme*. 2019, **8(3)**, 12-23. Doi:

<http://dx.doi.org/10.17993/3ctecno/2019.v8n3e31.12-23>

4. SEVERICHE-SIERRA, C.; CASTILLO-BERTEL, M.; BARRETO-MARTÍNEZ, P. “Evaluación de la Precisión y Exactitud de un Método Gravimétrico para la Determinación de Grasas y Aceites en Aguas”. *Química Hoy Chemistry Sciences*. 2013, **3(2)**, 18-21. Doi: <https://doi.org/10.29105/qh3.2-93>

5. CIRNE, I.; BOAVENTURA, J.; GUEDES, Y.; LUCAS, E. “Methods for determination of oil and grease contents in wastewater from the petroleum industry”. *Chemistry & Chemical Technology*. 2016, **10(4)**, 437-444. Doi:

<https://doi.org/10.23939/chcht10.04.437>

6. RICE, E.W.; BAIRD, R. B.; EATON, A. D. *Standard methods for the examination of water and wastewater*. 5520-B Oil and Grease, Partition-Gravimetric Method. 23rd edition. Washington, D.C.: American Public Health Association, 2017. ISBN: 9780875532875

7. SKOOG, D. A.; WEST D. M.; HOLLER J. F.; CROUCH S. R. *Fundamentals of Analytical Chemistry*. 9th Edition. Canada: Brooks/Cole, Cengage Learning, 2014, pp. 1090. ISBN: 978-0-495-55828-6.

8. ZUMBADO-FERNÁNDEZ, H. *Capítulo 8: Análisis gravimétrico*. En: ZUMBADO-FERNÁNDEZ, H. *Análisis Químico de los Alimentos*. 2da edición. Miami: Editorial Ciudad Educativa, 2022, pp. 253-297. ISBN 978-1-5129-8820-8.

9. EMPRESA DE ANÁLISIS Y SERVICIOS TÉCNICOS (ENAST). *Determinación de Aceites y grasas*. SIG-ENAST: PA29. La Habana, Cuba, 2020, pp. 11.

10. SHEHATA, A. B. *et al.* “Validation of a Method for the Measurement of Caffeine in Water by HPLCUV”. *Green and Sustainable Chemistry*. 2023, **13**, 291-302. <https://doi.org/10.4236/gsc.2023.134016>

11. CANTWELL, H. *et al.* *Eurachem Guide: The Fitness for Purpose of Analytical Methods - A Laboratory Guide to Method Validation and Related Topics*. 2nd Edición. Europa: Eurachem, 2014, pp. 66. ISBN: 978-91-87461-59-0. <https://www.eurachem.org>

12. PÉREZ-GRANA, R. “Validación in-house y determinación de grasas por gravimetría en conservas de raciones de combate del Ejército de Tierra”. *Saind. mil.* 2014, **70 (2)**, 88-94. ISSN: 1887-8571.

13. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. *Guía para la validación de métodos de ensayos químicos para alimento*. NC TS 368: 2010. La Habana, Cuba, 2010, pp. 48.
14. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. *Guía para la estimación y expresión de la incertidumbre de la medición en análisis químico*. NC TS 367:2008. 2da Edición. La Habana, 2008, pp. 40.
15. INTERNATIONAL ORGANIZATION FOR STANDARDIZATION. *Water quality- Sampling: Part 3: Preservation and handling of water samples*. ISO 5667-3:2024. 6th edition, 2024, pp. 66.
16. OFICINA NACIONAL DE NORMALIZACIÓN. *Vertimiento de aguas residuales a las aguas terrestres y alcantarillados*. NC 27: 2012. Especificaciones. 2da Edición. La Habana, Cuba, 2012, pp.14.
17. PORTUONDO-PAISAN, Y.; PORTUONDO-MORET, J. “La repetibilidad y reproducibilidad en el aseguramiento de la calidad de los procesos de medición”. *Tecnología Química*. 2010, 30(2), pp. 117-121. ISSN: 0041-8420.
18. LLAMOSAS-ENRIQUE, L.; CONTRERAS-MEZA, L.; ARBELAEZ-BOTERO, M. “Estudio de la repetibilidad y reproducibilidad usando el método de promedios y rangos para el aseguramiento de la calidad de los resultados de calibración de acuerdo con la norma técnica NTC-ISO/IEC 17025”. *Scientia Et Technica*. 2007, 13(35), pp. 455-460. ISSN: 0122-1701.
19. EMPRESA DE ANÁLISIS Y SERVICIOS TÉCNICOS (ENAST). *Validación interna de métodos de ensayos químicos*. SIG-ENAST: PT09. La Habana, Cuba. 2021, pp. 26.
20. GONZÁLEZ-REY, G.; EDGAR-FALCÓN, C. “Procedimiento para el análisis de la repetibilidad y reproducibilidad en procesos de manufactura”. *Revista Cubana de Ingeniería*. 2015, 6(3), pp. 53-59. ISSN: 2223-1781.
21. HERRERA, J. M. “Validación y estimación de incertidumbre de un método analítico para cuantificar hierro total por el método colorimétrico de la fenantrolina en agua potable y natural”. *Revista Científica de FAREM-Estelí. Medio ambiente, tecnología y desarrollo humano*. 2020, 9(34), pp. 154-168. DOI: <https://doi.org/10.5377/farem.v0i34.10014>
22. QUIÑONES-GARCÍA, Y.; CARABALLOSO-NOA, I.; CALVO-ALONSO, A.; DE LA TORRE-LÓPEZ, J. “Estimación de la incertidumbre en la medición del contenido de furvina en el Vitrofur”. *Rev. Cubana Quím.* 2023, 35(1), pp. 14-28. e-ISSN: 2224-5421.

DECLARACIÓN CONFLICTO DE INTERESES

No se declaran conflictos entre los autores

CONTRIBUCIÓN DE LOS AUTORES

Sandra Crombet Grillet: parte experimental, revisión de literatura, conceptualización, escritura del artículo, análisis de datos, revisión-edición del artículo.

Areli Ábalos Rodríguez: revisión de literatura, escritura, revisión-edición del artículo.

Norma Pérez Pompa: revisión de literatura, escritura, revisión-edición del artículo.

Jesús Alexis Bolaños Campos: parte experimental, recogida de información, análisis de los datos.

Osmany Espinel Hernández: parte experimental, revisión de literatura, recogida de la información, análisis del comportamiento de parámetros evaluados.