

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN GRASAS Y ACEITES EXTRACCIÓN LIQUIDO-LIQUIDO Y GRAVIMETRÍA	Código: M-S-LC-I021
	SM 5520B	Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 1 de 11

1. OBJETIVO

Establecer la metodología para la determinación del grasas y aceites en agua, por el método de extracción líquido-líquido y gravimetría SM 5520 B.

2. ALCANCE

Este método de análisis aplica a muestras de aguas residuales domésticas e industriales, aguas superficiales, lluvias y subterráneas.

3. DEFINICIONES

mg GyA/L: Miligramos de grasas y aceites por litro.

LDM: Límite de Detección del Método

S : Desviación estándar

4. ASPECTOS DE SALUD Y SEGURIDAD LABORAL

Antes de iniciar el análisis revisar el Manual de Higiene, Salud Ocupacional y Seguridad en el Laboratorio y las hojas de Seguridad que reposan en el mueble ubicadas a la entrada; en el área de recepción de muestras.

Utilizar los implementos de seguridad de acuerdo con lo señalado en el instructivo: guantes de nitrilo, gafas, bata y careta con cartuchos para vapores orgánicos.

Se debe tener precaución en la manipulación del solvente (n-hexano) debido a la alta presión de vapor generada por la agitación de la mezcla de solvente y muestra dentro del embudo de separación.

5. EQUIPOS, REACTIVOS Y MATERIALES

5.1 EQUIPOS

- Extractor Soxhlet
- Cabina extractora de vapores orgánicos
- Balanza analítica
- Centrifuga

5.2 REACTIVOS

- Ácido clorhídrico (HCl) o Ácido sulfúrico (H₂SO₄) 1:1: Mezclar partes iguales
- Hexadecano, pureza mínima del 98%.
- Ácido esteárico, pureza mínima del 98%.
- **Estándar hexadecano-ácido esteárico 1:1 p/p:** en acetona a 2 mg/mL de cada uno. Pesar 200 ± 2 mg de ácido esteárico y 200± 2 mg de hexadecano en un vaso volumétrico de 100 mL y llevar a volumen con acetona. La concentración del patrón es de 400 mg.

Nota: La solución puede requerir calentamiento para la disolución completa del ácido esteárico. También se puede comprar el estándar ya preparado

Después de que el hexadecano y el ácido esteárico se hayan disueltos, transferir la solución a un vial de 100 a 150 mL con un tapón revestido de TFE. Marcar el nivel de solución en el vial y guardar en la oscuridad a temperatura ambiente. Inmediatamente antes del uso, verificar el nivel en el vial y llevarlo a volumen nuevamente con acetona, si es necesario.

Nota: Si hay dudas sobre la concentración del estándar, eliminar 10.0 ± 0.1 mL con una pipeta volumétrica, colocar en un recipiente de pesaje, tarar y evaporar hasta sequedad en una campana extractora. El peso final debe ser 40 ± 1 mg. Si no es así, preparar una solución nueva.

- Sulfato de sodio (Na_2SO_4) en cristal anhidro: Secar entre 200 y 250 °C por 24 horas
- Acetona grado analítico
- Hexano (C_6H_{12}) punto de ebullición 69°C, libre de residuos.

5.3 MATERIALES

- Desecador
- Embudo de vidrio
- Embudos de separación de 1 L o de 2 L con llave de paso de PTEF.
- Frasco lavador.
- Papel filtro cuantitativo de 11 cm de diámetro.(Whatman No. 40 o equivalente)
- Soporte para embudo
- Varillas de vidrio.
- Vasos de precipitado de 50 mL

5.1.1 Verificación de Equipos

- Verificar la balanza analítica con las masas antes de realizar cualquier pesaje.
- Verificar temperatura del equipo soxhlet

6. LIMITACIONES E INTERFERENCIAS

- Los solventes orgánicos tienen la capacidad de disolver no solo las grasas y los aceites sino también otras sustancias orgánicas. Cualquier material soluble en el solvente se reporta como grasa y aceite, por ejemplo el azufre elemental, compuestos aromáticos complejos, hidrocarburos derivados de cloro, nitrógeno y azufre, ciertos tintes orgánicos y la clorofila.
- Utilizar la extracción líquido - líquido para aguas superficiales no contaminadas o con bajo contenido de sólidos suspendidos, factores que aumentan la formación de emulsiones y pérdida del analito.
- Algunas matrices de las muestras pueden formar emulsiones, incrementando la cantidad de agua a separar dentro del extracto. Cuando el extracto del solvente es tratado con sulfato de sodio, este se disuelve en el agua y pasa al frasco tarado. Esto se manifiesta cuando después de secado el solvente se hace visible sal dentro del vaso de extracción. Si se observan cristales en el frasco tarado después del secado, redissolver la grasa y aceite con 30 mL de solvente de extracción y un poco de agua en un embudo de separación, retirar la capa acuosa y drenar el solvente a través de un embudo con papel filtro

	INSTRUCTIVO DE ENSAYO. DETERMINACIÓN GRASAS Y ACEITES EXTRACCIÓN LIQUIDO-LIQUIDO Y GRAVIMETRÍA SM 5520B	Código: M-S-LC-I021
		Versión : 02
		Fecha: 21/10/2020
		Página: 1 de 11

empapado con solvente a un vaso de extracción limpio y tarado. Tratar este como un extracto de muestra.

- La eliminación del solvente tiene como resultado la pérdida de los hidrocarburos de cadena corta y aromática sencillos por volatilización, en este proceso se pierden cantidades significativas de destilado de petróleo desde la gasolina hasta el aceite combustible.
- El método es completamente empírico y solo se pueden obtener resultados duplicados si se siguen de manera estricta todos los detalles.
- El tiempo requerido para secar y enfriar el material extraído no puede ser alterada.
- Puede que haya un incremento gradual en el peso, debido presumiblemente a la absorción de oxígeno o una pérdida gradual de peso debida a la volatilización.
- Los residuos más pesados del petróleo pueden contener una porción significativa de materiales que no son extraíbles con el solvente
- Algunas matrices de muestras pueden aumentar la cantidad de agua durante la extracción en el solvente orgánico, en estos casos se puede aumentar la cantidad de sulfato de sodio para retirar el exceso de agua. El sulfato de sodio que pasa al matraz del filtro, se convierte en una interferencia positiva en los métodos gravimétricos.

7. CONTROL Y ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Las prácticas de control de calidad se consideran parte integrante de cada método, para este método se incluye la siguiente tabla.

Tabla 1. CONTROL DE CALIDAD MÉTODO 5520 B.

Blanco del Método (MB)	Blanco Fortificado en Laboratorio (LFB)	Matriz Fortificada en Laboratorio (LFM) y Duplicado Matriz Fortificada en Laboratorio (LFMD)	Otro
X	X	X	1,2,3

Tomado del SM Tabla 5020: 1 (1.Pautas adicionales de control de calidad en el método), (2. Se ejecutarán duplicados de la muestra) (3.Consulte 5020B del SM para más Requisitos de control de calidad).

- Los blancos se analizan para determinar si la calidad del material y de los reactivos es óptima. Estos deben registrar pesos menores al límite de detección. Si el valor de los blancos supera el límite del método se recomienda lavar el material, el equipo de extracción y verificar el solvente.
- En forma paralela, con cada grupo o lote de muestras que se procese en un mismo día, realizar estándares de control preparados de la mezcla de hexadecano-ácido esteárico.
- Llevar registros de los porcentajes de recuperación de los estándares en la carta de control para la determinación de grasas y aceites.
- Los duplicados evalúan la limpieza del material de vidrio y la replicabilidad del método. El porcentaje de la diferencia entre los duplicados no debe ser mayor al 10%, si la variación excede este límite, repetir el análisis. Realizar el duplicado de una muestra al azar. Incluir al menos un duplicado para cada tipo de matriz diariamente con cada lote de 20 muestras o menos.

- Realizar por duplicado una muestra adicionada al azar. Incluir al menos un duplicado para cada tipo de matriz diariamente con cada lote de 20 muestras o menos.
- Cuando los resultados se encuentren entre el límite de alarma y control, revisar todo el procedimiento para determinar que ocurrió. Si cualquier dato cae fuera de los límites de control debe ser reexaminado, si nuevamente está fuera de control es necesario repetir el análisis de todo el grupo de muestras.

8. DESARROLLO

8.1 PRINCIPIO

En este método la grasa y el aceite son extraídos del agua por íntimo contacto con el solvente (n-hexano) y su determinación se realiza gravimétricamente mediante recuperación del solvente en un equipo de destilación.

Se aplica para aguas residuales superficiales, domésticas e industriales. Algunas grasas y ácidos grasos especialmente no saturados extraíbles se oxidan con rapidez; en consecuencia, se incluyen precauciones especiales con respecto a la temperatura y desplazamiento de vapor del solvente para reducir este efecto.

En la determinación de grasas y aceites no se mide una cantidad absoluta de una sustancia específica; se determinan grupos de sustancias con características físicas similares con base en su solubilidad en el solvente (n-hexano). Así, el término "grasas y aceites" comprende cualquier material recuperado como una sustancia soluble en el solvente. Esto incluye otros materiales extraídos por el solvente de la muestra acidificada, tales como compuestos azufrados, algunos colorantes orgánicos y clorofila, no volatilizados durante el ensayo.

8.2 TOMA Y PRESERVACIÓN DE LA MUESTRA

- Para aguas de tipo industrial la toma de muestra se debe realizar puntual.
- Tomar la muestra de forma directa del vertimiento y evitar llenar totalmente el frasco.
- La tapa debe estar provista de una lámina de papel aluminio que impida el contacto de la muestra con el interior de la tapa.
- La muestra se debe tomar en frasco de vidrio claro de boca ancha con capacidad máxima de un 1 L y evitar subdividir la muestra en el laboratorio. Si se presume que la muestra puede tener una concentración superior a 1000 mg/L, es aceptable tomar menos muestra.
- El frasco debe estar previamente enjuagado con el solvente para remover cualquier película de detergente.
- Recoger replica de muestras para realizar duplicado de análisis o verificaciones de control de calidad de adición conocida.
- Adicionar a las muestras HCl o H₂SO₄ 1:1 hasta pH < 2 si el análisis no se realiza dentro de las 2 horas siguientes a su recolección, 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. Verificar el pH con papel indicador y acidificar la muestra en la botella.

- Cuando se requiere información acerca del promedio de concentración de grasas y aceites sobre un periodo de tiempo extenso, analizar porciones individuales tomadas a intervalos de tiempo predeterminados, esta muestra no se puede componer.
- La muestra preservada se puede almacenar durante un periodo máximo de 28 días a una temperatura de 4°C.

8.3 PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA DE VIDRIERÍA

El material debe estar libre de grasa. Lavar con detergente y enjuagar con abundante agua caliente. Si el material lo requiere, realizar un enjuague con solvente. Consultar el procedimiento de lavado de material.

8.4 EJECUCIÓN DE LA TÉCNICA

8.4.1 Procedimiento de Preparación de Estándares

8.4.1.1 Blanco

Tomar 1 L de agua destilada y acidificar con H₂SO₄ o HCl a pH < 2 (aproximadamente 2 gotas). Verificar con papel indicador.

8.4.1.2. Estándares de control

Estándar de hexadecano-ácido esteárico 1:1 p/p: en acetona a 2 mg/mL de cada uno. Pesar 400±2 mg de ácido esteárico y 400±2 mg de hexadecano en un balón volumétrico de 200 mL y llevar a volumen con acetona.

Estándar de 50 mg/L: Tomar 125 mL del estándar de 400 mg/L, en un balón aforado de 1 L y preservar con HCl o H₂SO₄ 1:1 hasta pH < 2.

Estándar de 400 mg/L: Pesar 2 g de ácido esteárico y 2 g hexadecano en un balón aforado de 1 L y preservar con HCl o H₂SO₄ 1:1 hasta pH < 2.

8.4.2 Procedimiento de Análisis

- Marcar el menisco en la botella demarcando el nivel de la muestra. Verificar el pH, si no se ha acidificado previamente, acidificar con HCl o H₂SO₄ 1:1 hasta pH < 2.
- Transferir cuantitativamente el blanco, los estándares y las muestras a embudos de separación.
- Enjuagar cuidadosamente las paredes de la botella con aproximadamente 30 mL de solvente y adicionar el enjuague al embudo de separación.
- Agitar vigorosamente el embudo de separación durante 2 minutos. Durante la agitación, liberar presión constantemente invirtiendo el embudo y abriendo la llave.
- Si la muestra contiene sólidos suspendidos o sólidos sedimentables y se forma una emulsión permanente en la fase orgánica, agitar suavemente de 5 a 10 minutos.

**INSTRUCTIVO DE ENSAYO.
DETERMINACIÓN GRASAS Y ACEITES
EXTRACCIÓN LIQUIDO-LIQUIDO Y GRAVIMETRÍA
SM 5520B**

Código: M-S-LC-1021

Versión : 02

Fecha: 21/10/2020

Página: 2 de 11

- Dejar separar las fases. Drenar el extracto orgánico (fase superior) a través de un embudo de filtración con papel de filtro humedecido en el solvente de análisis y sulfato de sodio anhidro.
- Si la fase orgánica se emulsiona, adicionar 10 g de sulfato de sodio (Na_2SO_4) anhidro en el filtro de papel, de lo contrario adicionar solamente de 3 a 5 gramos y drenar el extracto emulsionado. Adicionar mayor cantidad de sulfato de sodio anhidro para romper la emulsión si se hace necesario.
- Tener cuidado para evitar que algunos cristales de sodio pasen al interior del vaso donde se está haciendo la determinación. Después del secado, los cristales de sulfato de sodio serán visibles en el matraz y causaran interferencia en la determinación gravimétrica.
- Si no es posible obtener una capa del solvente transparente después de la adición del sulfato de sodio y la emulsión es aproximadamente 5 mL, drenar la emulsión y las capas de solvente en un tubo de centrifuga en vidrio y centrifugar durante 5 minutos aproximadamente a 2400 rpm.
- Transferir el material centrifugado a un embudo de separación y drenar la fase de solvente a través de un embudo con papel de filtro y 10 g sulfato de sodio a los cuales se les ha realizado un prelavado con solvente, en un matraz de destilación limpio y tarado. Combinar las fases acuosas y cualquier emulsión restante o sólidos en el embudo de decantación y realizar una nueva extracción.
- Muestras con < 5 mL de emulsión o sin emulsión, drenar solo el solvente transparente a través del embudo que contiene papel filtro y sulfato de sodio humedecido con hexano en el vaso de extracción limpio, seco y tarado previamente.
- Retornar la muestra nuevamente al recipiente de origen (botella de recolección) y repetir el proceso de extracción 2 veces más como se describió anteriormente utilizando 30 mL de solvente en cada extracción. Drenar y recolectar todos los extractos en el vaso.
- Si se presenta nuevamente formación de emulsiones en el extracto final, repetir el paso de centrifugación como se describió anteriormente y continuar con los pasos de las 2 extracciones.
- Al finalizar las tres extracciones, lavar el papel filtro con 10 a 20 mL de solvente.
- Recuperar el solvente de los extractos contenidos en el vaso, con la ayuda del equipo de extracción soxhlet abriendo la válvula de drenaje del solvente. Recuperar el solvente hasta secado total.
- Si se observan cristales en vaso tarado después del secado, disolver el aceite y la grasa con 30 mL de solvente de extracción y drenar el solvente a través de un embudo que contenga un papel de filtro enjuagado con hexano en un matraz limpio y tarado. Lavar el residuo de grasas y aceites 3 veces con solvente, reunir los lavados y tratar como una muestra extraída.
- Dejar enfriar el vaso en la cabina de extracción para eliminar el solvente residual. Llevar el vaso al desecador durante 30 minutos, pasado este tiempo pesar el vaso con el residuo seco. Repetir el paso anterior hasta conseguir peso constante.
- Para determinar el volumen de la muestra marcado en la botella inicialmente, llenar el frasco con agua hasta la marca, luego verter el agua en una probeta y consignar en el formato de captura de datos el volumen. Los volúmenes para el blanco y los estándares son de 1000 mL.

8.4.5 Cálculo de Resultados

El aumento en peso del vaso de extracción tarado es debido principalmente a la grasa y el aceite, siendo el contenido de estos:

$$GYA, mg / L = \frac{(Pf - Pi)}{V}$$

Donde:

Pf = peso final del matraz de extracción, mg.

Pi = peso inicial del matraz de extracción, mg.

V = Volumen de muestra, L

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{C_b}{I} * 100$$

Donde:

C_b = concentración determinada experimentalmente
I = concentración inicial del analito adicionado

9. DIAGRAMA

Ver anexo 1

10. DOCUMENTOS DE REFERENCIA Y BIBLIOGRAFÍA

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. American Public Health Association, American Water Works Association, Water Pollution Control Federation. 5520 B 22 ed., New York, 2012.

- Instructivo lavado material de vidrio.
- Disposición final de residuos.
- Manual de Higiene, Salud Ocupacional y Seguridad en el Laboratorio
- Aseguramiento de calidad.
- Verificación y auditoria de datos analíticos
- Aseguramiento de control de calidad analítica
- Solicitud de muestras para análisis
- Solicitud de reactivos, vidriería y materiales



**INSTRUCTIVO DE ENSAYO.
DETERMINACIÓN GRASAS Y ACEITES
EXTRACCIÓN LIQUIDO-LIQUIDO Y GRAVIMETRÍA
SM 5520B**

Código: M-S-LC-1021

Versión : 02

Fecha: 21/10/2020

Página: 2 de 11

11. HISTORIAL DE CAMBIOS

VERSIÓN	FECHA	DESCRIPCIÓN
01	14/12/2017	Creación del documento con base a la nueva estructura del SGI
02	21/10/2020	Nueva versión producto de la actualización de la documentación del Sistema Integrado de Gestión.

ELABORÓ: Adriana Dueñas Moreno Contratista Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental	REVISÓ: Carlos Martín Velásquez Ramírez Contratista Líder Técnico Grupo Laboratorio de Calidad Ambiental	APROBÓ: Nelson Omar Vargas Martínez Subdirector de Hidrología
--	---	---

ANEXO 1. Diagrama





