

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR GRASAS Y ACEITES - HIDROCARBUROS E HIDROCARBUROS NO POLARES EN AGUAS			
	Código: IN-GAA-109	Versión: 04	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 1 de 6

1. Objeto

Determinar la cantidad de grasas y aceites e hidrocarburos no polares en una muestra de agua, según la norma SM 5520 A, B, F, asegurando la entrega oportuna de resultados confiables a nuestros clientes.

2. Alcance

Aguas residuales no domésticas, aguas residuales domésticas, aguas subterráneas, aguas superficiales.

3. Referencias Normativas

- American Public Health Association, American Water Works Association & Water Environment Federation. STANDARD METHODS: For the Examination of Water and Wastewater, 23RD Edition, American Public Health Association 800 I Street, NW. Washington D.C., 2017. ISBN 978-087553-287-5.
- EPA Method 1664, Revision B: 2010. N-Hexane Extractable Material (HEM; Oil and Grease) and silica Gel Treated N-Hexane Extractable Material (SGT-HEM; Non-Polar Material) by Extraction and Gravimetry.

4. Definiciones

- Analito:** especie química que se analiza.
- Blanco:** agua reactivo o matriz equivalente que no contiene, por adición deliberada, la presencia de ningún analito o sustancia por determinar, pero que contiene los mismos disolventes, reactivos y se somete al mismo procedimiento analítico que la muestra problema.
- Blanco fortificado:** es una herramienta estadística que garantiza la calidad de los resultados, y permite llevar un control sobre las pruebas y a su vez sobre los equipos.
- Calibración:** proceso mediante el cual se establece la relación entre la indicación de un instrumento o sistema, y el valor establecido para un patrón de medición.
- Material de referencia certificado:** material de referencia, acompañado de un certificado, en el que una o más de sus propiedades está certificada por un procedimiento que establece trazabilidad a una realización exacta de la unidad en la que se expresa dicha propiedad, y para el que cada valor certificado está asociado a una incertidumbre con un nivel de confianza determinado.
- Muestra:** parte representativa de la materia objeto del análisis.
- Patrón:** medida materializada, instrumento de medición, material de referencia o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad, o uno o más valores de una magnitud para servir de referencia.
- Peso constante:** es el peso que se registra cuando el material ha sido calentado, enfriado y pesado, y que en dos ciclos completos las pesadas no presentan una diferencia significativa.
- SM:** Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater.
- Solución de referencia:** solución preparada a partir de un reactivo grado analítico que contiene el analito a determinar. Solo deben ser empleadas para realizar calibraciones y blanco fortificado, ya que no se encuentran presentes los componentes de la matriz que acompañan al analito en las muestras.

5. Condiciones Generales.

5.1 Método gravimétrico

Grasas y aceites: se entiende por "grasas y aceites" cualquier sustancia o grupo de sustancias recuperadas por solubilidad con solventes. Se incluyen otros materiales extraídos por el solvente de una muestra acidificada (tales como compuestos de azufre, orgánicos secos y clorofila) y no volatilizada durante la prueba.

Algunos constituyentes presentes en agua y medidos como grasas y aceites e hidrocarburos, pueden influenciar los sistemas de tratamiento de aguas residuales; si las grasas y aceites están presentes en grandes cantidades, pueden interferir con los procesos biológicos aerobios y anaerobios disminuyendo la eficiencia del tratamiento.

Hidrocarburos no polares: el gel de sílice tiene la capacidad de adsorber los materiales polares. Si se mezcla una solución de hidrocarburos y materiales grasos en n-hexano, con gel de sílice, los ácidos grasos y los hidrocarburos polares son extraídos de forma selectiva de la solución. Los materiales no eliminados por adsorción con gel de sílice, son considerados hidrocarburos no polares en esta prueba.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA		
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR GRASAS Y ACEITES - HIDROCARBUROS E HIDROCARBUROS NO POLARES EN AGUAS		
	Código: IN-GAA-109	Versión: 04	Fecha de aprobación: 03/08/2022 Página: 2 de 6

El método no es aplicable para fracciones de bajo punto de ebullición que se volatilicen a temperaturas por debajo de 85°C aproximadamente.

5.2 Interferencias del método

- Los solventes orgánicos tienen la capacidad de disolver además de las grasas y aceites, otras sustancias orgánicas (sulfuro elemental, compuestos aromáticos complejos, hidrocarburos derivados del cloro, sulfuro y nitrógeno). Aún no se conoce el solvente para disolver selectivamente solo grasas y aceites.
- Residuos pesados de hidrocarburos pueden contener una cantidad significativa de materiales que no se extraen con solventes. El método es enteramente empírico y los resultados de las réplicas con alto grado de precisión, pueden ser obtenidos solo por estricta observación de los datos.
- Durante la extracción se pueden perder hidrocarburos de cadena corta y aromáticos simples debido a la volatilización (una porción significativa de gasolina y diésel se pierde durante la extracción).
- Durante la extracción se puede presentar un incremento gradual en el peso, debido a absorción de agua, esto se puede eliminar usando un desecador.
- En el método de hidrocarburos, los hidrocarburos más polares como compuestos aromáticos complejos, e hidrocarburos derivados del cloro, sulfuro y nitrógeno, pueden ser adsorbidos por la sílica gel. Lo cual se interpreta como una interferencia negativa
- La sílica gel puede dar interferencia positiva en el método de hidrocarburos (SM 5520 F), cuando esta pasa a través del filtro. Usar filtro. (Whatman 41)

5.3 Muestreo, preservación y almacenamiento

Tomar muestras representativas siguiendo las instrucciones dadas en el SM 1060.

Para el muestreo se debe usar recipientes de vidrio boca ancha, con tapas de PTFE, los cuales deben ser lavados siguiendo el siguiente procedimiento:

- Limpiar con hexano recuperado
- Lavar primero con solución jabonosa
- Lavar mínimo tres veces con agua
- Lavar tres veces con agua destilada y secar
- Purgar el material con el solvente que se empleará en el análisis
- Dejar secar al aire completamente

La muestra para grasas y aceites se recolecta individualmente y debe ser una muestra puntual. Recolectar entre 500 mL y 1000 mL de muestra (el tamaño de la muestra puede ser proporcional a la concentración de grasas y aceites e hidrocarburos), llenar $\frac{3}{4}$ partes el volumen del recipiente. Por ningún motivo subdividir la muestra en el laboratorio.

Si el análisis tarda más de dos horas después de recolectar la muestra, acidificar a pH<2.0 con HCl o H₂SO₄, y refrigerar.

Para el caso de toma de muestra en superficie, recolectar la muestra desplazando el recipiente casi horizontalmente sobre la superficie del agua.

Para la recepción, manejo y disposición final de las muestras, consultar el instructivo técnico general implementado en el laboratorio "Manejo de muestras y disposición final de residuos".

5.4 Reactivos, materiales y equipos

5.4.1 Reactivos

- n-Hexano 85-99 % pureza
- Sulfato de sodio anhidro, en cristales, secar entre 200°C y 250°C durante 24 horas antes del uso.
- Cloruro de sodio (cristales)
- Ácido clorhídrico o sulfúrico concentración. 1:1

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR GRASAS Y ACEITES - HIDROCARBUROS E HIDROCARBUROS NO POLARES EN AGUAS			
	Código: IN-GAA-109	Versión: 04	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 3 de 6

- Acetona (residuos <1 mg/L)

5.4.2 Estándar para el blanco fortificado:

- Hexadecano 98 %
- Ácido esteárico o palmítico 98 %
- Solución de 4000 mg/L de aceites y grasas e hidrocarburos (Hexadecano/ácido esteárico o palmítico 1:1 w/w): pesar 0.20 g de ácido esteárico y 0.20 g de hexadecano, disolver en acetona y aforar a 100 mL. La solución puede requerir calentamiento para disolver el ácido.

Transferir la solución a un recipiente de 100 mL o 150 mL con tapa hermética. Marcar el volumen del recipiente y almacenar en la oscuridad a la temperatura del laboratorio.

Antes del uso verificar el volumen y llevar al volumen inicial con acetona. Si es necesario calentar un poco para disolver el precipitado visible.

Nota 1: si se presenta duda sobre la concentración, medir exactamente 10 mL $\pm$ 0.1 mL y transferir a un recipiente tarado, evaporar hasta sequedad en una plancha de calentamiento, el peso del ácido debe ser de 40 mg $\pm$ 1 mg, si no preparar nuevamente la solución.

- Blanco fortificado alto de 120 mg/L para grasas y aceites - hidrocarburos y 60.0 mg/L para hidrocarburos no polares: tomar 15 mL de la solución de 4000 mg/L de grasas y aceites, adicionar a 500 mL de agua destilada en un frasco tapa azul y acidificar con ácido clorhídrico 1:1.
- Blanco fortificado bajo de 16.0 mg/L para grasas y aceites - hidrocarburos y 8.00 mg/L para hidrocarburos no polares: tomar 2 mL de la solución de 4000 mg/L de grasas y aceites, adicionar a 500 mL de agua destilada en un frasco tapa azul y acidificar con ácido clorhídrico 1:1.
- Sílica gel 100-200 mesh (Activación: secar entre 110°C por 24 h, y almacenar en recipiente bien cerrado).

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

5.4.3 Materiales

- Embudos de separación de 500 o 1000 mL con llave de teflón
- Balones fondo plano de 150 mL
- Embudos de filtración de vidrio o plástico
- Papel de filtro franja azul o equivalente (Whatman 41)
- Probeta de 50 mL, 100mL y 500 mL
- Frasco tapa azul de 500 mL

5.4.4 Equipos

- Balanza analítica
- Horno de secado
- Rotoevaporador (Ver manual de operación)
- Desecador
- Cabina de extracción de Gases

6. Contenido.

A continuación, se presentan las actividades para desarrollar el análisis de grasas y aceites -hidrocarburos e hidrocarburos no polares en aguas.

6.1 Análisis de muestras.

A continuación, se describen los pasos para determinar grasas y aceites - hidrocarburos e hidrocarburos no polares en aguas.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA		
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR GRASAS Y ACEITES - HIDROCARBUROS E HIDROCARBUROS NO POLARES EN AGUAS		
	Código: IN-GAA-109	Versión: 04	Fecha de aprobación: 03/08/2022 Página: 4 de 6

6.1.1. Método de extracción grasas y aceites - hidrocarburos

- Purgar con solvente los balones de fondo plano, llevarlos al horno a 40 °C por 1 hora. Pesar y registrar el peso como P_o .
- En el recipiente que contiene la muestra, marcar el nivel de la muestra para posteriormente medir el volumen.
- Si la muestra no está preservada, añadir ácido clorhídrico o ácido sulfúrico para obtener un pH menor de 2. Transferir el volumen de la muestra a un embudo de separación de 500 o de 1000 mL.
- Lavar el recipiente de la muestra con 30 mL del solvente (n-hexano), y adicionar este solvente de lavado al embudo de separación.
- Agitar el embudo vigorosamente por espacio de dos (2) minutos y liberar esporádicamente los gases producidos. Dejar separar las capas.
- Si se forma emulsión, adicionar cloruro de sodio (aproximadamente 0.5 gr) y agitar para romper la emulsión.
- Drenar la capa acuosa y una pequeña porción de la fase orgánica al recipiente original de la muestra.
- Drenar la capa de solvente y recogerla en balón fondo plano de 150 mL que contenga un embudo con papel filtro y 10 g de sulfato de sodio, previamente lavados con el solvente (n-hexano).
- Extraer dos veces más con porciones de solvente (n-hexano) de 30 mL, lavando previamente el recipiente donde estaba contenida la muestra original.
- Recoger el filtrado en el balón fondo plano, lavar el papel de filtro y el sulfato de sodio con 10 mL a 20 mL adicionales de solvente (n-hexano).
- Recombinar las capas acuosas y cualquier emulsión remanente, o algún sólido que haya en el embudo de separación.
- Someter a rotoevaporación cuidadosamente el solvente. En el rotoevaporador escoger las variables relacionadas con el manejo del solvente de acuerdo con las instrucciones del manual del equipo.
- Colocar el balón en la estufa a 40 °C durante una hora.
- Enfriar el balón en un desecador y pesar en la balanza analítica, registrar este peso como P_f .
- Repetir el ciclo de secado y pesado hasta peso constante, o hasta que la pérdida de peso sea menor de 0.5 mg.
- Medir el volumen inicial de la muestra (V_m) llenando el recipiente hasta la marca con agua, y determinar el volumen usando una probeta graduada.

Nota 3: para muestras limpias, los volúmenes de extracción son de 20 mL. Cada vez que se realiza una extracción, lavar el papel de filtro y el sulfato de sodio con 10 mL a 20 mL adicionales de solvente (n-hexano).

Nota 4: en muestras en las cuales se observa un alto contenido de grasas y aceites, realizar la cuantificación midiendo los volúmenes de las dos fracciones.

Nota 5: en muestras en las cuales se observa una capa de grasas y aceites libre, separar esta capa en el balón de recolección, y continuar con la fracción acuosa realizando el procedimiento de extracción descrito en el numeral 6.1.1.1. Recombinar los extractos en el balón de recolección.

6.1.2. Método para hidrocarburos no polares

- Usar el extracto seco obtenido en el procedimiento del numeral 6.1.1.
- Purgar con solvente los balones de fondo plano, llevarlos al horno a 40 °C por 1 hora. Pesar y registrar el peso como P_o
- Cuando los hidrocarburos no polares se van a determinar después de haber medido grasas y aceites, redissolver el extracto de aceite y grasa en 100 mL de n-Hexano.
- Para 100 mL de solvente, adicionar 3 g de sílica gel activada por cada 100 mg de grasa y aceite presente en la muestra, hasta un total máximo de 30 g de sílica gel (1000 mg grasa y aceite).
- Para muestras con más de 1000 mg de aceite y grasa, realizar diluciones a 100 mL y adicionar la cantidad de sílica gel apropiada para la cantidad de grasas en la porción de la muestra.
- Tapar el recipiente y agitar por 5 minutos.
- Filtrar la solución a través del papel filtro Whatman 41 humedecido con el solvente (n-hexano), lavar la sílica y el filtro con 10 mL de solvente y mezclar los filtrados.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA		
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR GRASAS Y ACEITES - HIDROCARBUROS E HIDROCARBUROS NO POLARES EN AGUAS		
	Código: IN-GAA-109	Versión: 04	Fecha de aprobación: 03/08/2022
Página: 5 de 6			

- Someter a rotoevaporación cuidadosamente el solvente. En el rotoevaporador escoger las variables relacionadas con el manejo del solvente de acuerdo a las instrucciones del manual del equipo.
- Colocar el balón en la estufa a 40°C durante una hora.
- Enfriar el balón en un desecador y pesar en la balanza analítica, registrar este peso como P_f .
- Repetir el ciclo de secado y pesado hasta peso constante, o hasta que la pérdida de peso sea menor de 0.5 mg.
- El volumen de la muestra es el medido en el numeral 6.1.1.
- Realizan los cálculos como se indica en la sección 6.1.4.

6.1.3. Recomendaciones

- Cuando la muestra presente alto contenido de hidrocarburos y/o sólidos (disueltos y suspendidos), realizar cuatro extracciones con porciones de 20 mL cada una, con agitación vigorosa y al final con agitación circular (embudo en posición vertical) para favorecer la separación de las capas. En este caso es posible que se forme una emulsión bastante difícil de separar.
- Cuando se forma emulsión difícil de separar, se recomienda drenar la emulsión sobre un vaso de precipitado, someterlo a ultrasonido para romper la emulsión y luego llevar la mezcla a un embudo de separación donde se drena la capa orgánica sobre el embudo con papel de filtro y sulfato de sodio.
- Cuando una muestra de agua presenta sedimento, es conveniente dejarla decantar, analizar el contenido de grasas y aceites en el agua sobrenadante, y tratar el sedimento aparte con solvente y ultrasonido, para obtener un extracto que se separa por drenaje en un embudo de separación, y mezclar con los extractos obtenidos de la parte acuosa.

6.1.4. Cálculos

- Calcular la concentración de grasas y aceites - hidrocarburos según la siguiente fórmula:

$$\text{GyA-hidrocarburo (mg/L)} = \frac{(P_f - P_o) \times 1000}{V_m}$$

Dónde:

P_f = Peso final del balón fondo plano (g)

P_o = Peso inicial del balón fondo plano (g)

V_m = Volumen de muestra (L)

1000 = Factor de conversión de gramos a miligramos

Nota 6: los valores de P_f , P_o y V_m son obtenidos del procedimiento 6.1.1.

- Calcular la concentración de hidrocarburos no polares en aguas según la siguiente fórmula:

$$\text{Hidrocarburos no polares en aguas (mg/L)} = \frac{(P_f - P_o) \times 1000}{V_m}$$

Dónde:

P_f = Peso final del balón fondo plano (g)

P_o = Peso inicial del balón fondo plano (g)

V_m = Volumen de muestra (L)

1000 = Factor de conversión de gramos a miligramos

Nota 7: los valores de P_f , P_o y V_m son obtenidos del procedimiento 6.1.1.

 UNIVERSIDAD DE LOS LLANOS®	PROCESO DE GESTION DE APOYO A LA ACADEMIA			
	INSTRUCTIVO PARA DETERMINAR GRASAS Y ACEITES - HIDROCARBUROS E HIDROCARBUROS NO POLARES EN AGUAS			
	Código: IN-GAA-109	Versión: 04	Fecha de aprobación: 03/08/2022	Página: 6 de 6

6.2 Control de Calidad requeridos

- Blanco del método.
- Blanco Fortificado
- Matriz Fortificada laboratorio
- Duplicado matriz fortificada laboratorio

6.2.1 Blanco Fortificado

Realizar chequeo de la metodología, analizando el blanco fortificado de rango bajo y alto preparadas según 5.4.2 e ingresar a la plantilla de excel disponible en el laboratorio el porcentaje de recuperación. El valor obtenido debe estar entre el 80% y 120% de recuperación.

Registrar los datos obtenidos en la bitácora del análisis de grasas y aceites, e ingresar a la plantilla de excel disponible en el laboratorio bajo los códigos asignados y a su vez el blanco fortificado.

6.2.2. Incertidumbre

La estimación de la incertidumbre para la determinación de grasas y aceites - hidrocarburos e hidrocarburos no polares, se desarrolla de acuerdo con el instructivo general del laboratorio "Estimación de incertidumbre".

6.2.3. Reporte de resultados

Una vez realizados los cálculos y la revisión, para asegurar la calidad y confiabilidad de los mismos, el valor obtenido debe ser reportado, teniendo en cuenta el instructivo general "Manejo de cifras significativas".

Si durante la ejecución del análisis se presenta una situación anómala y/o se tiene información relevante que facilite la interpretación del resultado, se debe realizar la nota aclaratoria en la bitácora de análisis.

7. Flujoograma.

No aplica

8. Documentos de Referencia

- Bitácora del análisis
- Bitácora del equipo
- Carta de control

9. Historial de Cambios

Versión	Fecha	Cambios	Elaboró / Modificó	Revisó	Aprobó
01	22/02/2019	Documento Nuevo	Efraín Castillo. <i>Analista de lab.</i>		Marco A. Torres <i>Director ICAOC</i>
02	13/03/2019	Correcciones estructurales y de redacción.	Efraín Castillo. <i>Analista de lab.</i>	Karen Mendoza <i>Responsable unidad</i>	Mario Gutiérrez <i>Prof. de Calidad</i>
03	13/08/2021	Se realiza cambio en la concentración del ácido de preservación	Joan Patiño <i>Responsable unidad</i>	José Rojas <i>Profesional de Apoyo</i>	Juan M. Trujillo <i>Director CCA</i>
04	03/08/2022	Se ajustó la nomenclatura del blanco fortificado, alcance.	Eliana Quiñones <i>Asistente Lab.</i>	Karen Mendoza <i>Prof. Calidad CCA</i>	Juan M. Trujillo <i>Director CCA</i>