

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUIMICAS Y FARMACIA

“ Implementación y Validación de una Metodología de Análisis
de aceite de palma para un Laboratorio de Referencia Nacional ”

Informe de Tesis

Presentado por:

Julia Michelle Estrada Contreras

Para optar al título de

Química Farmacéutica

Guatemala, Septiembre de 2003.

INDICE

	Pag.
1. RESUMEN	02
2. INTRODUCCION	04
3. ANTECEDENTES	05
4. JUSTIFICACION	15
5. OBJETIVOS	16
6. HIPOTESIS	17
7. MATERIALES Y METODOS	18
8. RESULTADOS	29
9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS	43
10. CONCLUSIONES	49
11. RECOMENDACIONES	51
12. REFERENCIAS	52
13. ANEXOS	55

1. RESUMEN

El aceite de palma en la actualidad es el aceite más importante producido en Guatemala para la elaboración de aceites refinados y otros productos a base de aceite en el mercado guatemalteco y se espera que continúe la tendencia ascendente en la producción del mismo, ya que cada año hay más productores pues el potencial de ingresos es alto y las plantaciones existentes aumentan su rendimiento. El cultivo de palma trae no solo beneficios económicos sino también ecológicos y sociales.

Para ofrecer materia prima de calidad es necesario que el aceite cumpla con ciertas especificaciones y para verificar ésto es necesario someter la materia prima a un análisis. En el presente trabajo se propone una metodología para analizar muestras de aceite de palma, la cual fue implementada en el Laboratorio de Bromatología de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala, de esta manera se cumple con uno de los objetivos primordiales de esta investigación. Dicha metodología abarca las pruebas de acidez, índice de peróxidos, índice de yodo e índice de refracción.

Con el fin de asegurar que los resultados obtenidos son confiables y que el método es el adecuado, se procedió a validarlo, pues de esta manera se estaría cumpliendo con Buenas Prácticas de Laboratorio, el cual era otro objetivo de este proyecto. Sin embargo, no pudo llevarse a cabo por completo, ya que por distintas razones no fue posible evaluar todos los parámetros que conlleva una validación, siendo los únicos parámetros que pudieron evaluarse la especificidad, la precisión y la repetibilidad. Los ensayos que cumplieron con estos dos parámetros fueron índice de yodo, índice de refracción y acidez, en los cuales no se observó variación significativa, por lo que se concluye que los métodos propuestos para realizar estos ensayos proporcionan datos confiables. El ensayo de índice de peróxidos no cumplió estos parámetros, pues presentó coeficientes de variación muy elevados.

Los lotes de aceite de palma cumplen con el contenido adecuado de ácidos grasos libres ya que poseen valores menores a 5%. En cuanto al índice de peróxidos los lotes también cumplieron, sin embargo el lote 1 presentó índices muy elevados cercanos al límite aceptado, lo cual indicaba que poseía un alto grado de degradación, siendo la muestra que tenía más tiempo de recolección, este es un parámetro que afecta el resultado obtenido en las muestras pues los aceites vegetales tienen la característica de sufrir degradación desde el momento en que son extraídos.

El índice de refracción es una prueba que no presenta variación entre los resultados obtenidos, presentando una buena repetibilidad y precisión. Sin embargo el valor obtenido para los cinco lotes no cae dentro del rango aceptado, lo cual se debe a que los lotes no se encuentran totalmente puros.

La degradación continua que sufren los aceites vegetales, los contenedores y la forma en que son almacenados, son factores importantes que determinarán los resultados obtenidos durante el análisis de calidad del aceite.

2. INTRODUCCION

Hasta hace poco el aceite de palma era utilizado únicamente en la industria de jabones, sin embargo en los últimos años ha adquirido gran importancia ya que ha encontrado una vasta aplicación en la industria, convirtiéndose en el aceite más importante producido en Guatemala, alcanzando una producción de 108,000 tm en 1999 (1). Todo ello gracias a varios factores como el desarrollo en su cultivo (frutos más ricos en aceite y plantas de menor altura que facilitan su recolección), la alta productividad de la palma africana (cerca de 6 toneladas por hectárea, lo que sobrepasa la productividad de otras plantas productoras de aceites), costo de producción relativamente bajo y el hecho que de la misma materia prima pueden extraerse dos diferentes aceites, como lo son el de palma y el de palmiste.

Con el fin de ser competitivos en el mercado actual, los productores buscan ofrecer productos de calidad al consumidor. En el caso de los aceites vegetales es indispensable determinar su calidad ya que son utilizados como materia prima en la fabricación de distintos productos y además es sabido que los aceites vegetales comienzan a formar peróxidos desde que se extraen y tienen contacto con el oxígeno, experimentando de esta forma un continuo deterioro. Para ello es necesario someterlos a un análisis que evalúe parámetros tales como acidez, índice de peróxidos, índice de yodo, índice de refracción, entre otros.

Según las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), siempre que se desee establecer un método de análisis en cualquier laboratorio de control de calidad por primera vez, como es el caso de este trabajo, es necesario validarlo. Esto se lleva a cabo con el propósito de establecer que los resultados obtenidos con el método sean reproducibles y confiables. Según la literatura para realizar la validación de una metodología de análisis es necesario evaluar parámetros como especificidad, precisión, exactitud y reproducibilidad.

3. ANTECEDENTES

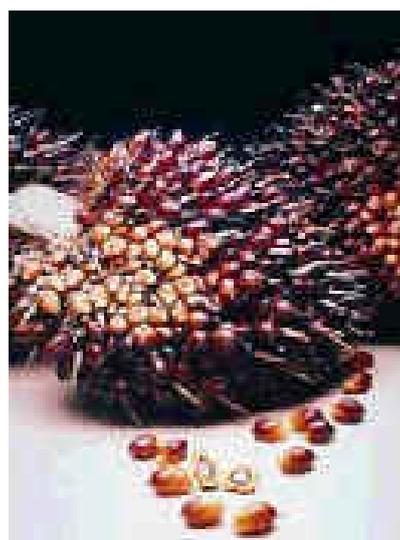
3.1. ACEITE DE PALMA

3.1.1. GENERALIDADES

El aceite de palma se obtiene de la pulpa del fruto producido por la palma africana *Elaeis guineensis* Jacq nativa de Guinea, del golfo de Africa Occidental. La palma de aceite es una planta tropical propia de climas cálidos que crece en tierras por debajo de los 500 metros sobre el nivel del mar.



Palma Africana



Fruto

Fue introducida a América por los colonizadores y comerciantes portugueses que la utilizaban como parte de la dieta alimenticia de los esclavos en el Brasil. De esta planta pueden extraerse dos tipos de aceite: al extraerlo de la pulpa recibe el nombre de aceite de palma y al hacerlo de la almendra recibe el nombre de aceite de palmiste, lo cual es una de las ventajas del cultivo de esta planta (2,3).

3.1.2. CLASIFICACION:

La palma de aceite es una monocotiledónea, del orden *Palmales* y de la familia *Palmaceae*. Su fruto se presenta en grandes racimos que pueden contener cada racimo de 800 a 2000 frutos, con una media de 1200 a 1500.

Las partes del fruto son:

1. Estigma
2. Exocarpo
3. Mesocarpo o pulpa
4. Endocarpo o cuesco
5. Endospermo o almendra
6. Embrión

Su clasificación en variedades se basa principalmente en la forma, color y composición del fruto, y en la forma de la hoja, distinguiéndose las siguientes variedades:

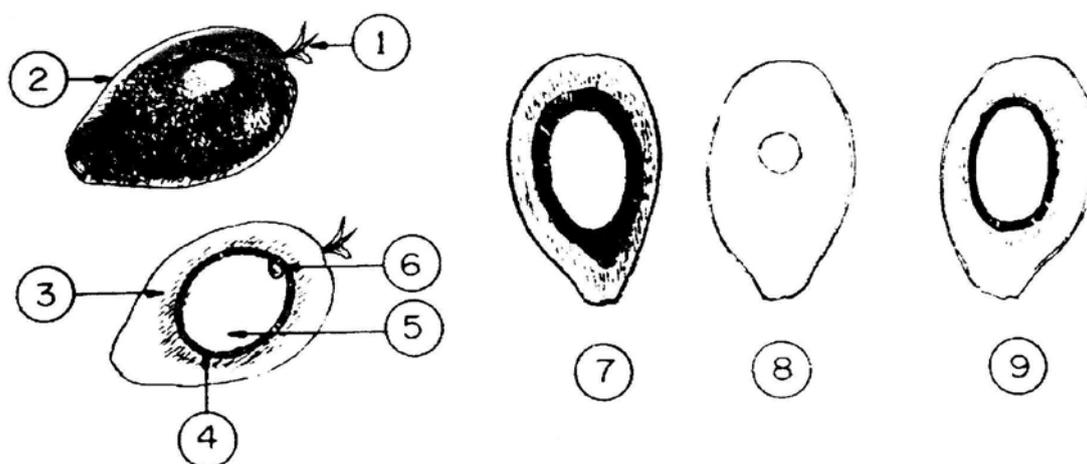
7. **Dura** Su fruto tiene un endocarpo de más de 2 mm de espesor. El mesocarpo o pulpa contiene fibras dispersas, y es generalmente delgado.

8. **Pisífera** No tiene endocarpo, la almendra es desnuda y el mesocarpo no contiene fibras y ocupa gran porción del fruto. Esta variedad produce pocos frutos en el racimo. Por eso se emplea sólo para mejorar la variedad dura, mediante el cruzamiento.

9. **Tenera** Variedad más importante, híbrido del cruce entre Dura y Pisífera. Tiene un endocarpo delgado de menos de 2 mm de espesor. En el mesocarpo se encuentra un anillo con fibras. Su fruto tiene forma oval con 2 – 5 cm de longitud y 3 – 4 cm de diámetro. La variedad Ténera

tiene un potencial genético de rendimiento mayor que el de Dura, se debe no sólo al mayor porcentaje de pulpa en los frutos, sino también a que en ella la relación sexual es más amplia (2,4).

A continuación se presenta un esquema de las partes del fruto y de las diferencias existentes entre los frutos de las tres variedades (la numeración corresponde a lo expuesto en la página anterior).



3.1.3. USOS

3.1.3.1. Comestibles

En la actualidad puede decirse que ocupa el segundo lugar como aceite más consumido en el mundo y se emplea como aceite de cocina, así como para elaborar productos de panadería, pastelería, confitería, heladería, sopas instantáneas, salsas, diversos platos congelados y deshidratados, cremas no lácteas para mezclar con el café, etc. El contenido de sólidos grasos del aceite de palma le da a algunos productos como margarinas y shortenings (materias grasas) una consistencia sólida/semisólida sin necesidad de hidrogenación (3). También

es utilizado como materia prima en la elaboración de alimentos para animales (5).

3.1.3.2. No Comestibles

Aunque su uso en aplicaciones no alimenticias es pequeño este sector va en aumento gracias a la importancia que está cobrando este aceite en la industria. Se utiliza ampliamente en la fabricación de jabones y detergentes, elaboración de velas, cosméticos, elaboración de grasas lubricantes y secadores metálicos destinados a la producción de pintura, barnices y tintas (3, 6).

3.1.4. ACEITE DE PALMA RELACIONADO CON LA SALUD:

Este aceite contiene una relación 1:1 entre ácidos grasos saturados e insaturados, tiene una alta concentración de grasa monoinsaturada, es fuente de vitamina E presente como tocoferoles y tocotrienoles (importantes antioxidantes) y carotenos. Esto es importante ya que se han realizado estudios que han encontrado datos interesantes como que “... dietas ricas en ácidos grasos monoinsaturados ayudan a reducir el colesterol sanguíneo, disminuyendo uno de los principales factores de riesgo en enfermedades coronarias; Los tocotrienoles actúan como protectores contra el envejecimiento de las células, la arteriosclerosis, el cáncer y algunas enfermedades neurodegenerativas como el Alzheimer”. Sin refinar, el aceite de palma es la fuente natural más rica de beta-caroteno (provitamina A) y que su consumo ha resultado de gran ayuda para prevenir y tratar la deficiencia de Vitamina A en poblaciones de riesgo” (3, 7).

3.1.5. CULTIVO DE ACEITE DE PALMA EN GUATEMALA:

El cultivo de la palma africana en el país se inició en 1987, en la actualidad se ha incrementado debido a los beneficios que este representa tanto a los productores como a los consumidores. Sus plantaciones se localizan en Tiquisate, La Gomera, Nueva Concepción y Tecún Uman (6). Durante 1999 el área sembrada era de 22,000 hectáreas de las que se cosecharon 20,000 hectáreas. La producción total de aceite de palma alcanzó 108,000 tm en 1999, se espera que persista en su tendencia ascendente al empezar a dar fruto los árboles jóvenes y al paso que maduren los árboles más viejos y aumenten su rendimiento. En la costa sur de Guatemala hay cuatro plantas de extracción donde se ubica la mayor parte de las operaciones de palma. Las instalaciones de palma se vuelven más populares año tras año debido a su potencial de ingresos a parte de los beneficios ecológicos (en el 2002 el cultivo de palma en el país generará 600,000 toneladas de oxígeno) y sociales (genera nuevos puestos de trabajo). (1)

3.1.6. EXTRACCION DE ACEITE:

El aceite de palma está contenido en la pulpa la cual tiene un contenido de 45 – 50% de aceite, 15 - 20% de fibra celulósica y el resto de agua, sustancias pépticas, etc. Puede observarse que es un fruto con alto contenido de agua por lo que es fácilmente fermentable por lo que debe procesarse rápidamente para evitar incrementos en la acidez (7). El aceite de palma puede ser convertido a fracciones líquidas y sólidas como oleínas y estearinas respectivamente. Su refinamiento puede efectuarse por varios procesos, dependiendo de los cuales se obtendrán varios tipos de este aceite (6).

El sistema más utilizado para detener la fermentabilidad de este fruto es el de someter a los racimos a una esterilización por vapor con el objetivo

de que la acidez no se incrementa, facilitar la separación de los frutos de los racimos y despegar la almendra del hueso facilitando su recuperación. Luego se efectúa la separación del fruto de los racimos, una vez separados se tratan en un malaxador que se usa para dilacerar el pericarpio. La pulpa resultante se envía al proceso de presión mediante prensas hidráulicas o continuas para extraer el aceite, se clarifica, se centrifuga y se obtiene el aceite acabado. Del tratamiento de los racimos se obtienen: aceite de palma, aceite de palmiste, hueso de semilla, fibra y escobajo, los últimos tres utilizados como combustibles para generar vapor. (7)

3.2. CONTROL DE CALIDAD DEL ACEITE DE PALMA

Para el análisis general de los aceites y grasas se cuenta con documentos que contienen los distintos ensayos a realizar, los cuales son reconocidos internacionalmente y que deben ser consultados por todos aquellos que deseen realizar un análisis de aceites y grasas. Uno de ellos es el documento de Métodos Estándar para el Análisis de Aceites, Grasas y Derivados (Standard Methods for the Analysis of Oils, Fats and Derivates) de la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada –IUPAC- (por sus siglas en inglés International Union of Pure and Applied Chemistry) (8). A continuación se describirán algunos de los ensayos realizados a aceites en general, los cuales serán evaluados en este proyecto ya que son considerados como las pruebas principales en la determinación de la calidad de un aceite.

3.2.1. INDICE DE YODO:

El índice de yodo es una prueba de gran valor en el análisis de una grasa o de un aceite, pues da una idea de la insaturación que este posee. Se define como el peso de yodo absorbido por la muestra y se expresa como gramos de yodo por 100 g de muestra. La base química de este ensayo recae en el hecho que el yodo elemental (I_2) puede

unirse a los dobles enlaces presentes en los ácidos grasos libres insaturados lo cual es utilizado para medir la insaturación (9,10).

3.2.2. INDICE DE PEROXIDOS:

Esta prueba se utiliza para determinar la extensión de la oxidación del aceite o de la grasa, por lo que se dice que son indicadores de autooxidación. Los hidroperóxidos formados por la oxidación de la grasa reaccionan con los iones yoduro para formar yodo, el cual se retrovalora con tiosulfato. Este se expresa como miliequivalentes de yodo formado por kilogramo de grasa o aceite (10).

3.2.3. INDICE DE REFRACCION:

Se define como la razón entre las velocidades de propagación de la luz en el vacío y en el medio considerado. Este parámetro es característico para cada aceite, para medirlo se utiliza un refractómetro con control de temperatura con mediciones usualmente a 25 °C, sin embargo grasas con puntos de fusión más altos requieren un ajuste de temperatura ya sea a 40 °C ó 60 °C, dependiendo del punto de fusión del producto. Este índice se ve afectado por la temperatura y por la longitud de la cadena de carbonos e insaturaciones de los ácidos grasos presentes en el aceite o en la grasa (9).

3.2.4. ACIDOS GRASOS LIBRES:

Los ácidos grasos libres son ácidos grasos con un grupo ácido que no se encuentra químicamente unido a un grupo alcohol. La importancia de medir estos se debe a que los ácidos grasos libres son removidos durante el refinamiento y la deodorización de los aceites y grasas. Si el valor determinado excediera al máximo permitido indica que estos

pasos no fueron realizados apropiadamente o que hay un alto contenido de ácido cítrico en el aceite (8,10). Para determinar el contenido de ácidos grasos libres se disuelve la muestra en alcohol y se titula con KOH hasta un punto final indicado por la fenolftaleína. Los resultados se expresan como porcentaje calculándolo en la mayoría de aceites como ácido oleico, sin embargo en el caso del aceite de palma se calcula como ácido palmítico, a este resultado se le denomina acidez. El índice de acidez es otro término aplicado a ácidos grasos libres y se define como el número en mg de hidróxido de potasio requerido para neutralizar los ácidos grasos libres en 1 g de la grasa o aceite (8).

En el anexo No. II puede encontrarse detalles de otras pruebas realizadas generalmente a aceites.

3.3. VALIDACION

La validación de un método analítico es el proceso por el cual se establece con estudios de laboratorio que las características de ejecución del método llenan los requerimientos para las aplicaciones analíticas proyectadas (11). Según la OMS validación es “la presentación de pruebas documentales de que un sistema cumple con lo previsto” (12).

La validación puede realizarse por tres diferentes tipos de procesos: prospectivos, concurrentes y retrospectivos. El presente trabajo realizará una validación prospectiva y concurrente. El proceso de validación prospectivo es cuando un plan experimental se ejecuta antes de que el proceso sea puesto en uso comercial, se presenta durante la introducción de un nuevo producto o método. Ahora bien el proceso de validación concurrente establece evidencia documentada de que el método está en un estado de control durante la actual implementación del mismo (13).

Dentro de los parámetros que deben considerarse en la validación de un método analítico se encuentran exactitud, precisión y reproducibilidad (11,14). A continuación se presenta una descripción de cada parámetro.

3.3.1. Especificidad:

Es la habilidad de detectar inequívocamente un analito en la presencia de componentes que puedan estar presentes como impurezas, productos de degradación y componentes de la matriz.

3.3.2. Exactitud:

Es la concordancia entre el valor real y el valor encontrado durante el análisis, o dicho de otra forma la cercanía del valor experimental obtenido con el método con respecto al valor real. La exactitud se calcula como la diferencia entre la media y el valor real aceptado, junto con intervalos de confianza.

3.3.3. Precisión:

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados de análisis individuales cuando el procedimiento es aplicado repetidamente a múltiples muestras de una muestra homogénea.

3.3.4. Reproducibilidad:

La reproducibilidad puede definirse como el grado de variación de los resultados obtenidos por el análisis de las mismas muestras cambiando las condiciones normales de ensayo tales como diferentes analistas, instrumentos, lotes de reactivos, tiempos de ensayo, días. Etc. Todas las variaciones observadas deberán ser reportadas por escrito (11).

3.4. ESTUDIOS PREVIOS:

En Guatemala se cuenta con pocos estudios sobre el aceite de palma dentro de los cuales están: Arriaga, E. (1985) (15) en su estudio titulado “Cuantificación de carotenoides en el aceite de palma y en los desechos de su refinamiento” concluye que el aceite de palma contiene 540 ± 55 ppm de carotenoides totales y que los jabones que son subproductos del mismo contienen alrededor de 393 ± 32 ppm.

Así mismo Molina, A. (1987) (16) en su trabajo titulado “Uso de carotenoides y subproductos del aceite de palma como fuente de pigmentación para la yema de huevo” encuentra que la gallina ponedora incorpora en la yema de huevo los pigmentos principales del aceite de palma (β -carotenos, α -carotenos, γ -carotenos, licopenos y xantofilas), poseyendo este aceite la capacidad de pigmentar adecuadamente la yema de huevo.

En el trabajo de tesis titulado “Estudio sobre la factibilidad de instalar una planta para producir manteca a partir del aceite crudo de la palma africana” Jiménez, O. (1984) (17) concluye que la rentabilidad de la planta en el primer año es del 28.89% llegando a ser de 66.47% en el décimo año lo que demuestra que el proyecto propuesto tiene factibilidad técnica y económica para su desarrollo.

4. JUSTIFICACION

Debido al incremento en la demanda del aceite de palma como materia prima en la elaboración de productos para la alimentación humana y de animales (entre otros usos), su producción ha experimentado un crecimiento en los últimos años, no solo a nivel mundial sino también a nivel nacional, por lo que es necesario implementar y validar una metodología analítica confiable, que permita al Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala efectuar un análisis rutinario de muestras de aceite de palma.

Además, será base para el montaje de nuevas prácticas del laboratorio de Análisis Aplicado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la misma Universidad.

5. OBJETIVOS

5.1. GENERALES

- 5.1.1. Proponer un método para el análisis del aceite de palma e implementarlo en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia y en el Laboratorio de Análisis Aplicado de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 5.1.2. Validar el método propuesto con el fin de comprobar que cumple con los aspectos necesarios para ser utilizado como un método de análisis válido y confiable.

5.2. ESPECIFICOS

- 5.2.1 Demostrar que el método propuesto para el análisis del aceite de palma es exacto y preciso en tanto se trabaje bajo las mismas condiciones efectuadas en el presente proyecto.
- 5.2.2 Comprobar que el método propuesto en este trabajo es reproducible.
- 5.2.3 Identificar factores importantes de almacenamiento, transporte y manejo de muestras que puedan afectar cada prueba.
- 5.2.4 Determinar la calidad de las muestras de aceite de palma.
- 5.2.5 Utilizar el método analítico propuesto en este trabajo como práctica de laboratorio en el curso de Bromatología del noveno ciclo de la carrera de Químico Farmacéutico.

6. HIPOTESIS

La metodología analítica propuesta en este trabajo para el aceite de palma cumple con las variables de especificidad, exactitud, precisión y reproducibilidad, por lo que se le considera como válido y confiable.

7. MATERIALES Y METODOS

7.1. Universo de trabajo:

El universo de trabajo consistió en las muestras de aceite de palma proporcionadas por el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.

7.2. Medios:

7.2.1. Recursos Humanos:

Autor: Br. Julia Michelle Estrada Contreras

Asesor: Licda. Julia Amparo García Bolaños

7.2.2. Recursos Materiales:

Institucional:

- ◊ Laboratorios de Bromatología de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- ◊ Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- ◊ Biblioteca de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala
- ◊ Biblioteca del Instituto de Nutrición de Centro América y Panamá (INCAP)
- ◊ Biblioteca de la Universidad del Valle de Guatemala.

7.2.3. Equipo:

- ◇ Balanzas analítica y semianalítica
- ◇ Balones aforados de 250 mL, 500 mL y 1000 mL.
- ◇ Pipetas serológicas y volumétricas de 1, 2 , 5 y 10 mL
- ◇ Beakers de 250 y 1000 mL
- ◇ Erlenmeyer de 250 mL
- ◇ Estufas
- ◇ Buretas de 25 y 50 mL, graduadas en 0.1 mL
- ◇ Refractómetro (lámpara de sodio)
- ◇ Baño de maría
- ◇ Termómetro
- ◇ Horno eléctrico con regulación de temperatura
- ◇ Embudos

7.2.4. Reactivos:

- ◇ Sulfato de sodio anhidro
- ◇ Eter dietílico
- ◇ Alcohol al 95%
- ◇ Solución etanólica de hidróxido de potasio 0.1 N
- ◇ Acido clorhídrico 0.5 N
- ◇ Solución etanólica de fenolftaleína 10 g/L
- ◇ Tetracloruro de carbono grado analítico
- ◇ Reactivo de Wijs
- ◇ Yoduro de potasio, solución saturada recién preparada
- ◇ Tiosulfato de sodio 0.01 N
- ◇ Tiosulfato de sodio 0.1 N
- ◇ Cloroformo
- ◇ Ácido acético glacial
- ◇ Solución de almidón 10 g/L

- ◊ Patrón primario de dicromato de potasio
- ◊ Patrón primario de carbonato de calcio

La forma de preparar las soluciones y las estandarizaciones de algunas de ellas se presentan en el anexo No. IV.

7.3. Metodología:

7.3.1. Preparación de la muestra:

Para llevarla a cabo es necesario tomar en cuenta las siguientes definiciones:

Muestra de laboratorio: muestra en el estado de preparación en el que es recibida en el laboratorio.

Muestra test: muestra en el estado de preparación en el que es analizada.

Porción test: cantidad del producto o de la muestra que es utilizada en el análisis.

Procedimiento:

a. *Muestra de laboratorio sólida:*

- ◊ Se fundía la muestra de laboratorio manteniéndola en el horno, calentando a 10°C arriba del punto de fusión del aceite.
- ◊ Si después del calentamiento la muestra permanecía clara se continuaba con inciso b.

- ◆ Si estaba turbia o contenía sedimento se procedía como inciso c.
- ◆ El horno debía mantenerse a la misma temperatura.

b. *Muestra líquida de laboratorio clara y sin sedimento:*

- ◆ Se suministraba la muestra de laboratorio tan homogénea como fuera posible, volteando el frasco arriba y abajo varias veces.
- ◆ Para algunas determinaciones más particulares en las cuales los resultados podían verse afectadas por la posible presencia de agua (por ejemplo la determinación del Índice de yodo), la muestra test, debía secarse previamente.
- ◆ Para este propósito, se debía añadir sulfato de sodio anhidro en la proporción de 1-2 g por 10 g de grasa o aceite y se mantenía en el horno a 50°C.
- ◆ Se agitaba vigorosamente y se filtraba (el filtrado constituía la muestra test).

c. *Muestra líquida, turbia o con sedimento:*

- ◆ Se colocaba el recipiente y la muestra de laboratorio en el horno a 50°C.
- ◆ Se mantenía así hasta que la muestra alcanzara esta temperatura y luego procedía a tratar la muestra como en inciso b.
- ◆ Si después de calentar y agitar, la muestra no estaba completamente clara, se filtraba el aceite a través de un papel filtro que había sido secado previamente en el horno a 50 °C por un tiempo adecuado.
- ◆ El filtrado debía ser claro, este constituía la muestra a ensayar.

7.3.2. Acidez (contenido de ácidos grasos libres):

7.3.2.1. Preparaciones:

- ◆ Se mezcló éter dietílico y etanol al 95% (v/v), en proporción de volumen 1:1.
 - Se neutralizó inmediatamente en el momento de utilizarlo con la solución de hidróxido de potasio en presencia de 0.3 mL de la solución de fenolftaleína por cada 100 mL de mezcla.

- ◆ Solución etanólica estandarizada de hidróxido de potasio, 0.1 N.
 - La concentración exacta debe conocerse y debe revisarse inmediatamente antes de usar.
 - Se usó una solución preparada previamente por lo menos 5 días y se decantó dentro de un frasco de vidrio ámbar, provisto de una tapadera de plástico.
 - La solución debía ser incolora o ligeramente amarillenta.

- ◆ Solución 10 g/L de fenolftaleína en etanol al 95 % (v/v)

7.3.2.2. Procedimiento:

- ◆ Se preparó la muestra según el inciso 6.3.1.
- ◆ Se pesó 1.0 g de la muestra (con una exactitud de 0.001) en un erlenmeyer y se disolvió en un volumen de 50 – 150 mL de la mezcla de éter dietílico y etanol, previamente neutralizada.
- ◆ Se procedió a valorar con agitación, con la solución de hidróxido potásico 0.1 N.

- ◆ Se valoró hasta el viraje del indicador (la coloración rosa de la fenolftaleína debía permanecer al menos durante 10 segundos).

7.3.2.3. Expresión de Resultados:

El índice de acidez esta dado por la fórmula

$$IA = \frac{56.1 \times T \times V}{m}$$

Donde:

V = número de mL de la solución de KOH estandarizada utilizada.

T = normalidad exacta de la solución de KOH estandarizada.

m = masa en gramos de la porción de muestra

ACIDEZ:

La acidez se calculó a partir de los resultados obtenidos en la determinación del índice de acidez y se expresa de la siguiente manera (en el caso del aceite de palma en porcentaje de ácido palmítico):

$$A = \frac{T \times V \times M}{10 m}$$

Donde:

V = volumen en mL de la solución valorada de hidróxido de potasio utilizada.

T = normalidad exacta de la solución de hidróxido potásico utilizada.

m = masa en gramos de la porción de muestra.

M = peso molecular del ácido en que se expresa el resultado (ácido palmítico = 256) (8).

7.3.3. Índice de Yodo (Método de Wijs):

7.3.3.1. Procedimiento:

- ◆ En un matraz de 250 mL se pesó aproximadamente 0.20 g de aceite con 0.001 g de certeza.
- ◆ Se disolvió con 7 mL de tetracloruro de carbono.
- ◆ Se agregó exactamente 12.5 mL del reactivo de Wijs.
- ◆ Se tapó el matraz, se agitó el contenido suavemente y se colocó el matraz en un lugar oscuro por 1 hora.
- ◆ Se preparó del mismo modo un ensayo en blanco con el disolvente y el reactivo, pero sin la muestra problema.
- ◆ Al finalizar el tiempo, se agregó a cada uno de los matraces 10 mL de solución de yoduro de potasio y 75 mL de agua.
- ◆ Se procedió a valorar con la solución de tiosulfato de sodio 0.1 N, usando solución de almidón como indicador.
- ◆ Se continuó la valoración hasta que el color azul desaparecía después de una agitación muy intensa.

7.3.3.2. Expresión de Resultados:

El índice de yodo se calculó de la siguiente forma:

$$IY = \frac{12.69 \times T \times (V_o - V_l)}{m}$$

Donde:

T = valor numérico de la normalidad exacta de la solución de tiosulfato sódico utilizada.

V₀ = número de mL de la solución de tiosulfato sódico utilizada para el ensayo en blanco.

V₁ = número de mL de la solución de tiosulfato sódico utilizada para la porción de muestra.

m = masa en gramos de la porción de muestra (8).

7.3.4. Índice de Peróxidos

7.3.4.1. Preparaciones:

Debe tenerse el cuidado de que la muestra fuera almacenada lejos de la luz, refrigerada dentro de envases de vidrio ámbar, totalmente llenos y herméticamente cerrados con tapones de vidrio esmerilado o de corcho.

7.3.4.2. Procedimiento:

- ◆ El ensayo se realizó con luz natural difusa o con luz artificial.
- ◆ Se pesó 2.5 g con precisión de 0,001 g en un matraz.
- ◆ Se añadieron 10 mL de cloroformo y se disolvió rápidamente la muestra mediante agitación.
- ◆ Se agregó 15 mL de ácido acético y luego 1 mL de solución de yoduro de potasio.
- ◆ Se cerró rápidamente el matraz y se agitó durante 1 minuto.
- ◆ Se mantuvo en la oscuridad durante 5 minutos exactamente, a una temperatura comprendida entre 15 y 25°C.

- ◆ Luego se añadieron aproximadamente 75 mL de agua destilada.
- ◆ Se procedió a valorar el yodo liberado (agitando vigorosamente) con la solución de tiosulfato de sodio 0.01 N, utilizando la solución de almidón como indicador.
- ◆ Se realizó simultáneamente un ensayo en blanco.

7.3.4.3. Expresión de resultados:

El índice de peróxidos (IP), expresado en miliequivalentes de oxígeno activo por kg de grasa se calculó mediante la fórmula siguiente:

$$IP = \frac{V \times T \times 1000}{m}$$

Donde:

V = es el número de mL de solución de tiosulfato de sodio usada en el ensayo, corregidos tomando en cuenta el ensayo en blanco

T = es la normalidad exacta de la solución de tiosulfato sódico empleada

m = peso en gramos de la muestra (g).

7.3.5. Índice de Refracción:

7.3.5.1. Preparación de la muestra:

- ◆ Se calentó la muestra en un beacker en baño María a una temperatura 10°C mayor al punto de fusión

7.3.5.2. Procedimiento:

- ◆ Se mantuvo la muestra en baño maría a 40°C.
- ◆ Se procedió a hacer la determinación en el refractómetro, colocando una gota de la muestra.
- ◆ Se hizo un total de 3 lecturas por muestra.
- ◆ Se sacó la media a estos resultados, redondeando hasta el cuarto decimal.

7.3.5.3. Expresión de Resultados:

En el caso en el que la temperatura de lectura variara de la prescrita en 3 °C o menos se debía utilizar la siguiente fórmula para corregir el índice de refracción.

$$n_D^t = n_D^{t_1} + (t_1 - t)F \quad \text{si } t_1 > t$$

$$n_D^t = n_D^{t_1} - (t_1 - t)F \quad \text{si } t_1 < t$$

Donde:

n_D^t = índice de refracción

$n_D^{t_1}$ = lectura a t_1

t_1 = temperatura a la cual se efectuó la lectura

t = temperatura prescrita (teórica)

$F = 0.00036$ (a 40°C)

Reproducibilidad: la diferencia entre los resultados de las 3 determinaciones hechas por el mismo analista no debe exceder a 0.0002 (8).

7.4. Validación:

7.4.1. Para llevar a cabo el proceso de validación del método se hizo un análisis inicial con 3 lotes de muestras de aceite de palma.

- 7.4.2. Luego se procedió a analizar por duplicado 25 muestras con el fin de evaluar los parámetros de validación: exactitud, precisión y reproducibilidad.
- 7.4.3. Con el fin de evaluar la reproducibilidad el análisis fue efectuado por dos analistas.
- 7.4.4. En el análisis estadístico, se sacó la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación de cada lote de muestras y luego se sacó un promedio de los 5 lotes por cada prueba realizada.

8. RESULTADOS

Tabla No. 1 Resultados de la prueba de Acidez
del Lote 1 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	1.0095	1.40	3.45
2	1.0219	1.45	3.53
3	1.0205	1.45	3.53
4	1.0050	1.40	3.47
5	1.0130	1.40	3.44
6	1.0081	1.40	3.45
7	1.0605	1.50	3.52
8	1.0222	1.45	3.53
9	1.1139	1.55	3.46
10	1.0230	1.45	3.53
Media			3.49
Desviación Estándar			0.0398
Coefficiente de Variación (%)			1.14

Tabla No. 2 Resultados de la prueba de Acidez
Del lote 2 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	1.0045	1.20	2.97
2	1.0126	1.25	3.07
3	1.0285	1.20	2.90
4	1.0076	1.20	2.96
5	1.0297	1.25	3.02
6	1.0098	1.20	2.96
7	1.1315	1.40	3.08
8	1.0008	1.15	2.86
9	1.0217	1.25	3.04
10	1.0380	1.25	3.00
Media			2.99
Desviación Estándar			0.0707
Coefficiente de Variación (%)			2.37

**Tabla No. 3 Resultados de la prueba de Acidez
Del lote 3 de aceite de Palma.**

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	1.1030	1.45	3.27
2	1.0200	1.35	3.29
3	1.0108	1.35	3.32
4	1.0128	1.35	3.32
5	1.1741	1.55	3.28
6	1.0032	1.35	3.35
7	1.0238	1.35	3.28
8	1.0457	1.40	3.33
9	1.0039	1.35	3.35
10	1.0138	1.35	3.31
Media			3.31
Desviación Estándar			0.0291
Coefficiente de Variación (%)			0.878

**Tabla No. 4 Resultados de la prueba de Acidez
Del lote 4 de aceite de Palma.**

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	1.2654	1.45	2.85
2	1.0331	1.30	3.13
3	1.0017	1.20	2.98
4	1.0330	1.20	2.89
5	1.1264	1.40	3.09
6	1.0276	1.25	3.03
7	1.0135	1.15	2.82
8	1.0272	1.30	3.15
9	1.2088	1.55	3.19
10	1.0150	1.25	3.06
Media			3.02
Desviación Estándar			0.130
Coefficiente de Variación (%)			4.30

**Tabla No. 5 Resultados de la prueba de Acidez
Del lote 5 de aceite de Palma.**

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	1.0022	1.30	3.23
2	1.0236	1.35	3.28
3	1.0031	1.30	3.22
4	1.0297	1.35	3.26
5	1.066	1.30	3.21
6	1.0192	1.35	3.29
7	1.0020	1.30	3.23
8	1.0307	1.35	3.26
9	1.0246	1.35	3.28
10	1.0112	1.35	3.32
Media			3.26
Desviación Estándar			0.0352
Coefficiente de Variación (%)			1.08

Tabla No. 6 Promedios de Acidez de los 5 lotes.

Variable	Promedio
Media	3.21
Desviación Estándar	0.0610
Coefficiente de Variación (%)	1.95

Gráfica No.1 Prueba de Acidez para diferentes lotes de Aceite de Palma

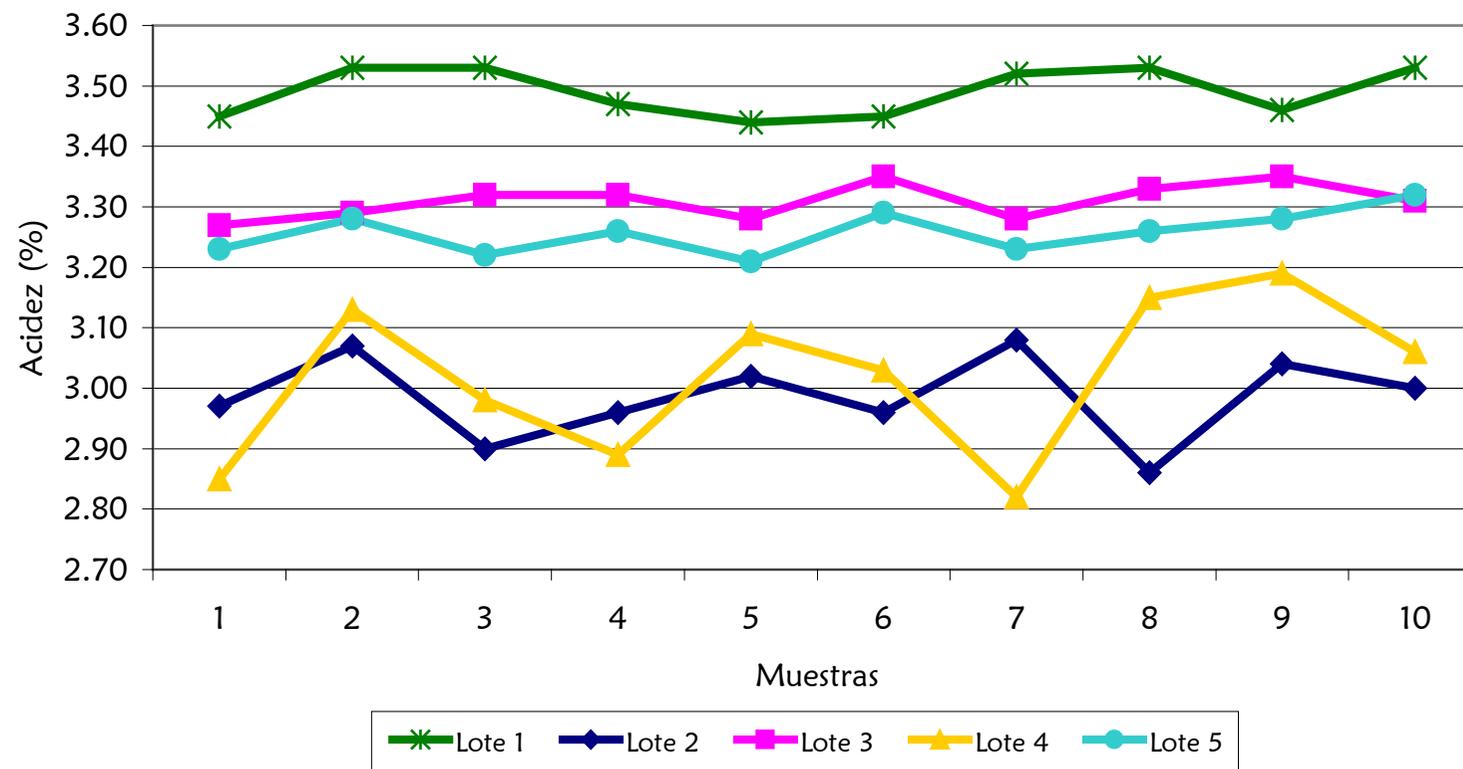


Tabla No. 7 Resultados de la prueba de Índice de Yodo del Lote 1 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	0.2444	13.80	49.42
2	0.2172	14.70	51.93
3	0.2137	14.70	52.78
4	0.2482	13.90	48.30
5	0.2065	16.50	46.88
6	0.2063	16.55	46.71
7	0.2698	13.30	46.41
8	0.2220	14.20	52.80
9	0.2231	14.50	51.35
10	0.2162	15.05	50.73
Media			49.73
Desviación Estándar			2.530
Coficiente de Variación (%)			5.087

Tabla No. 8 Resultados de la prueba de Índice de Yodo del Lote 2 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	0.2016	16.40	48.45
2	0.2086	15.90	48.96
3	0.2117	16.55	45.51
4	0.2188	15.55	48.10
5	0.2347	16.10	42.76
6	0.2119	17.00	43.59
7	0.2092	15.70	49.67
8	0.2302	15.80	44.75
9	0.2051	16.60	46.76
10	0.2217	16.80	42.46
Media			46.10
Desviación Estándar			2.662
Coficiente de Variación (%)			5.773

Tabla No. 9 Resultados de la prueba de Índice de Yodo del Lote 3 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	0.2048	16.70	46.40
2	0.2463	14.80	45.43
3	0.2093	16.45	46.46
4	0.2170	16.60	44.20
5	0.2109	15.95	48.21
6	0.2187	16.35	44.87
7	0.2779	13.45	44.58
8	0.2024	16.80	46.51
9	0.2419	14.85	46.07
10	0.2850	13.20	44.25
Media			45.70
Desviación Estándar			1.271
Coefficiente de Variación (%)			2.780

Tabla No. 10 Resultados de la prueba de Índice de Yodo del Lote 4 de aceite de Palma.

Muestra	G Pesados	mL consumidos	Resultado
1	0.2244	15.50	47.09
2	0.2683	13.20	47.00
3	0.2006	16.20	49.58
4	0.2239	15.85	45.81
5	0.2021	16.50	47.90
6	0.2204	15.80	46.74
7	0.2070	16.30	47.62
8	0.2034	16.30	48.46
9	0.2608	13.70	46.65
10	0.2135	16.00	47.42
Media			47.43
Desviación Estándar			1.051
Coefficiente de Variación (%)			2.217

Tabla No. 11 Resultados de la prueba de Índice de Yodo del Lote 5 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	0.2343	14.75	47.98
2	0.2285	15.35	46.83
3	0.2532	14.75	44.37
4	0.2313	15.40	46.07
5	0.2311	15.40	46.11
6	0.2262	15.45	46.91
7	0.2184	15.50	48.39
8	0.2348	15.20	46.14
9	0.2822	13.15	44.84
10	0.2212	15.50	47.77
Media			46.54
Desviación Estándar			1.308
Coefficiente de Variación (%)			2.810

Tabla No. 12 Promedios de Índice de Yodo de los 5 lotes.

Variable	Promedio
Media	47.10
Desviación Estándar	1.764
Coefficiente de Variación (%)	3.733

Gráfica No.2 Prueba de Índice de Yodo para diferentes lotes de Aceite de Palma

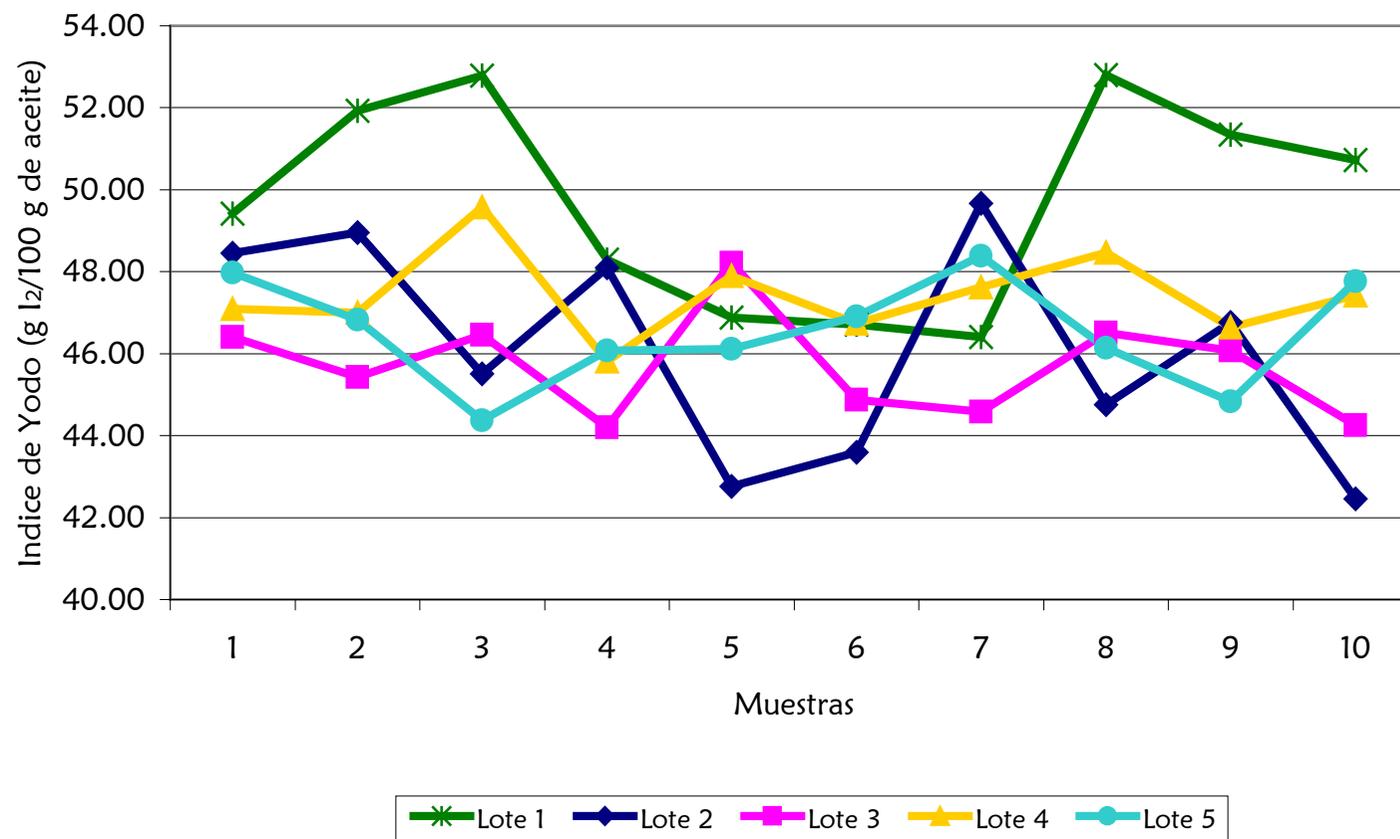


Tabla No. 13 Resultados de la prueba de Índice de Peróxidos del Lote 1 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	2.5437	2.40	10.31
2	2.5137	2.10	9.13
3	2.5041	2.10	9.17
4	2.5030	2.10	9.17
5	2.5148	2.20	9.56
6	2.5089	2.15	9.37
7	2.5142	2.20	9.56
8	2.5539	2.35	10.06
9	2.5216	2.30	9.97
10	2.5083	2.20	9.59
Media			9.59
Desviación Estándar			0.408
Coefficiente de Variación (%)			4.25

Tabla No. 14 Resultados de la prueba de Índice de Peróxidos del Lote 2 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	2.5255	0.10	0.43
2	2.5224	0.10	0.43
3	2.5216	0.10	0.43
4	2.5461	0.15	0.64
5	2.5200	0.15	0.65
6	2.5110	0.10	0.44
7	2.5345	0.15	0.65
8	2.7611	0.20	0.79
9	2.5828	0.15	0.63
10	2.5803	0.15	0.64
Media			0.57
Desviación Estándar			0.13
Coefficiente de Variación (%)			22.5

Tabla No. 15 Resultados de la prueba de Índice de Peróxidos del Lote 3 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	2.5677	0.18	0.77
2	2.5134	0.16	0.70
3	2.5288	0.16	0.69
4	2.5302	0.18	0.78
5	2.5034	0.16	0.70
6	2.5104	0.20	0.87
7	2.5256	0.18	0.78
8	2.5326	0.18	0.78
9	2.5470	0.20	0.86
10	2.5068	0.16	0.70
Media			0.76
Desviación Estándar			0.066
Coficiente de Variación (%)			8.63

Tabla No. 16 Resultados de la prueba de Índice de Peróxidos del Lote 4 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	2.5156	0.16	0.70
2	2.5182	0.16	0.69
3	2.5224	0.18	0.78
4	2.5080	0.16	0.70
5	2.5202	0.16	0.69
6	2.5297	0.18	0.78
7	2.5782	0.20	0.85
8	2.5245	0.18	0.78
9	2.5325	0.20	0.86
10	2.5470	0.20	0.86
Media			0.77
Desviación Estándar			0.071
Coficiente de Variación (%)			9.24

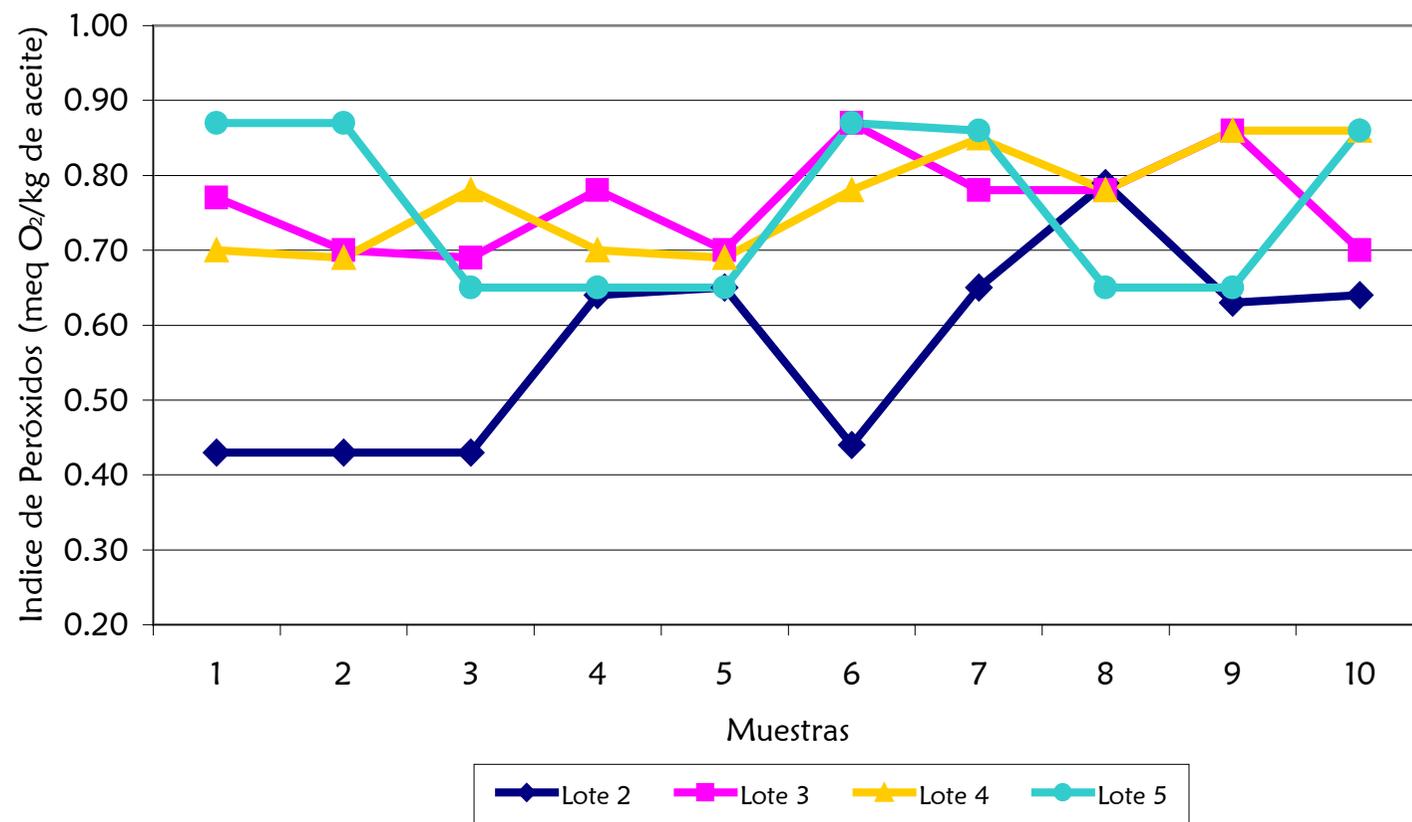
Tabla No. 17 Resultados de la prueba de Índice de Peróxidos del Lote 5 de aceite de Palma.

Muestra	g Pesados	mL consumidos	Resultado
1	2.5200	0.20	0.87
2	2.5090	0.20	0.87
3	2.5050	0.15	0.65
4	2.5105	0.15	0.65
5	2.5114	0.15	0.65
6	2.5133	0.20	0.87
7	2.5426	0.20	0.86
8	2.5145	0.15	0.65
9	2.5155	0.15	0.65
10	2.5331	0.20	0.86
Media			0.76
Desviación Estándar			0.12
Coficiente de Variación (%)			15.0

Tabla No. 18 Promedios de Índice de Peróxidos de los 5 lotes.

Variable	Promedio
Media	0.72
Desviación Estándar	0.13
Coficiente de Variación(%)	17.7

Gráfica No.3 Prueba de Índice de Peróxidos para diferentes lotes de Aceite de Palma



**Tabla No. 19 Resultados de la prueba de Índice de Refracción
Para diferentes lotes de aceite de Palma.**

Lote	Lectura *
1	1.4630
2	1.4645
3	1.4630
4	1.4645
5	1.4630

* La lectura reportada para cada lote es la que se obtuvo en cada una de las 10 muestras de cada lote.

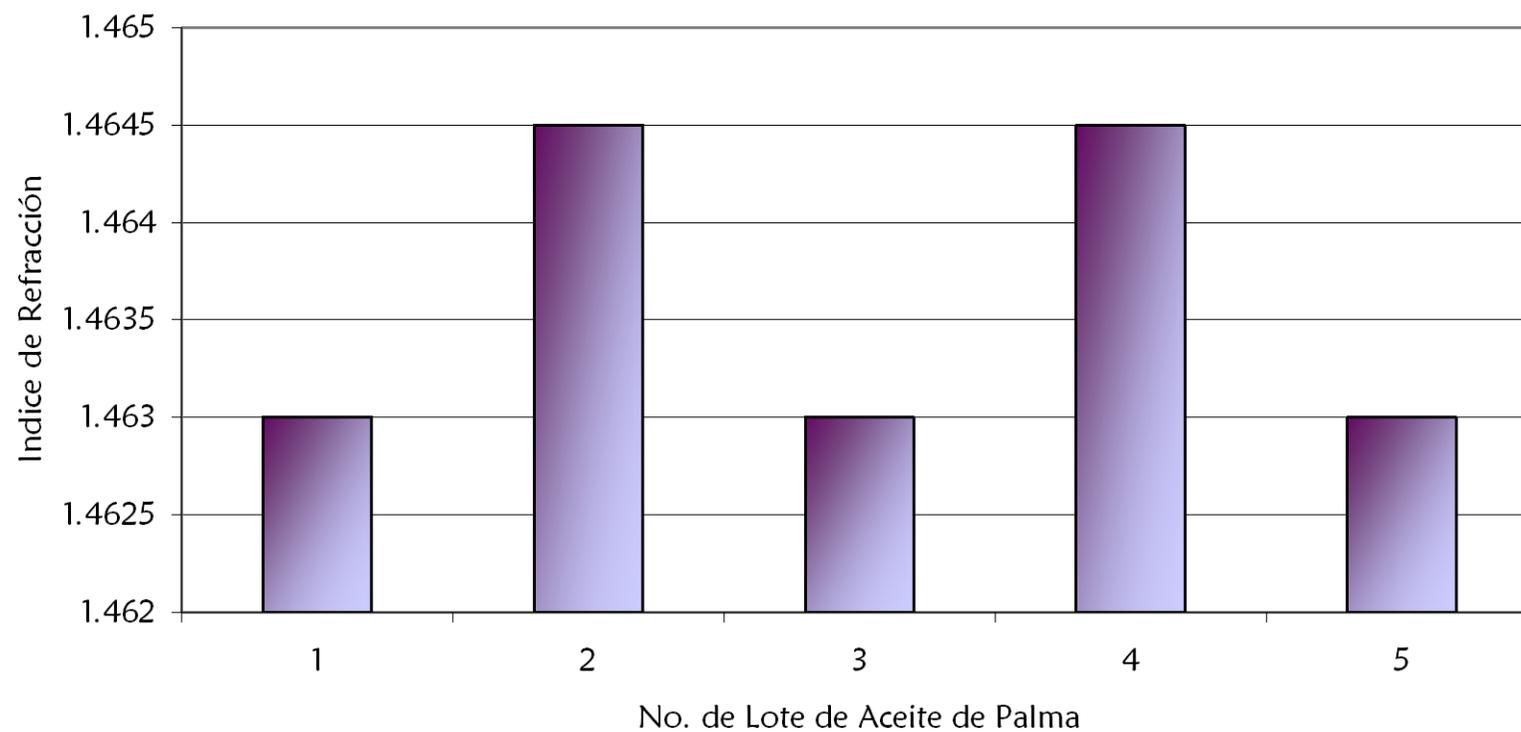
Tabla No. 20 Determinación de impurezas en los lotes analizados

Lote	Peso muestra (g)	Peso papel seco (g)	Peso papel después de análisis (g)	Impureza (%)
1	5.0324	0.7966	0.8096	0.26
2	5.0079	0.8185	0.8222	0.07
3	5.0266	0.8103	0.8158	0.11
4	5.0051	0.7952	0.7979	0.05
5	5.0194	0.8311	0.8351	0.08

Tabla No. 21 Determinación de puntos de fusión para los lotes de aceite de palma

Lote	Punto de Fusión (°C)
1	44
2	40
3	40
4	40
5	40

Gráfica No. 4 Prueba de Índice de Refracción para diferentes lotes de Aceite de Palma



9. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El método de análisis propuesto en este trabajo para el aceite de palma consistió en las pruebas de índice de peróxidos, índice de yodo, índice de refracción y acidez, las cuales se implementaron en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia, para ello fue necesario elaborar procedimientos estándares de operación (PEO'S) los cuales abarcaron: el procedimiento a seguir en cada una de las pruebas, la preparación de reactivos, el manejo de las muestras, la limpieza de cristalería y limpieza de manos, cumpliendo de esta manera con las buenas prácticas de laboratorio. Al realizar este tipo de documentos se busca que las personas encargadas de llevar a cabo la metodología, la realicen de manera correcta y sigan un procedimiento previamente probado y aceptado. La metodología anteriormente mencionada formará parte de las prácticas del Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia.

En cuanto a la validación cabe mencionar que no pudo llevarse a cabo por completo, ya que por distintas razones no fue posible evaluar los parámetros que conlleva una validación propiamente dicha, sin embargo, si pudo llevarse a cabo un análisis estadístico de los resultados obtenidos para determinar el comportamiento del método para analizar al aceite de palma propuesto en este trabajo y se deja una base en cuanto a la validación para futuras investigaciones.

El parámetro de exactitud no fue posible evaluarlo, debido a que no se contaba con un estándar de aceite de palma que proveyera un valor real aceptado, lo que se tomó en cuenta fue un rango de datos aceptados internacionalmente ya que en Guatemala no se cuenta con una normativa que brinde especificaciones para determinar la calidad de un aceite vegetal, dicho rango provee cierto margen de error lo cual impidió que fuera utilizado para evaluar la exactitud. Otra solución habría sido contar con una muestra certificada por algún laboratorio de control de calidad con metodología validada, cuyos valores hubieran servido para tomarlos

como valores reales, sin embargo, no se encontró quien pudiera proveer dicha muestra pues las empresas que utilizan el aceite de palma como materia prima, no realizan todos los ensayos propuestos en este trabajo, en algunas ocasiones no tienen validadas sus metodologías o bien no brindan información.

El parámetro de reproducibilidad no pudo evaluarse debido a que los cambios de condiciones (diferentes analistas, diferentes instrumentos, distintos lotes de reactivos, distintos días de análisis, etc.) no se tomaron en cuenta para todos los lotes sino solamente para algunos. Sin embargo, si puede analizarse lo que es el parámetro de repetibilidad, el cual indicará el grado de variación entre las muestras con las mismas condiciones de análisis, para ello fue necesario analizar los coeficientes de variación obtenidos para cada ensayo; lo cual puede apreciarse en las tablas 1 a 18.

Los parámetros de especificidad y precisión fueron los únicos que pudieron evaluarse de los propuestos inicialmente. La especificidad pudo evaluarse ya que se determinaba que eran muestras de aceite de palma aunque hubiera presencia de impurezas o productos de degradación como los peróxidos. Se determinó que el método es preciso debido a que hay un grado de concordancia aceptable entre los resultados obtenidos al aplicar cada uno de los métodos a múltiples muestras de cada uno de los 5 lotes (10 muestras de cada uno). Esto se cumplió para tres ensayos, índice de yodo, índice de refracción y acidez, no así para el ensayo de índice de peróxidos. El hecho de que no cumpliera con la prueba de índice de peróxidos pudo deberse a que los lotes de muestras evaluados se analizaron en épocas distintas y venían envasados sin seguir una normativa adecuada de rotulación, empaque, limpieza de contenedores, etc.; por lo que al evaluarse algunas muestras ya tenían cierto grado de descomposición. Esto es una limitante del análisis ya que no existe normativa adecuada de empaque y presentación de la muestra, por lo tanto algunas empresas envasan la muestra sin ningún lineamiento y mucho menos higiene adecuada, en envases poco apropiados, por lo que es necesario que si se llega a implementar el método el mismo Laboratorio de

Referencia indique a los usuarios la manera correcta de recolectar y presentar las muestras para su posterior análisis.

Puede observarse que en la prueba de acidez el lote 1 de aceite de palma es el que tiene los valores más altos (Gráfica 1), sin embargo, los cinco lotes presentan valores que caen dentro del rango aceptado internacionalmente, pues sus valores son menores a 5 %, que es el valor máximo aceptado, lo que indica que el contenido de ácidos grasos libres presentes en las muestras de aceite de palma es el adecuado, ya que estos son removidos durante el procedimiento de refinamiento y deodorización con el fin de evitar el deterioro del aceite, cuando un aceite rebasa el límite permitido de acidez puede indicar que los procedimientos antes mencionados no se realizaron apropiadamente o bien que hay un alto contenido de ácido cítrico que es utilizado durante la refinación como agente quelante, ya que el ácido cítrico reaccionará con el hidróxido de potasio (solución valorante) alterando el resultado. Al hablar del método en sí, puede apreciarse que a parte del índice de refracción, es la prueba que presenta los coeficientes de variación más pequeños y que poseen mayor relación entre sí (Tabla 1 a 5), lo que indica que los resultados obtenidos bajo este método no presentan diferencia significativa y que son confiables.

En la prueba de índice de yodo se obtuvieron desviaciones relativamente más altas que provocaron que se obtuvieran coeficientes de variación mayores a los obtenidos con la prueba anterior (Tablas 7 a 11). Las variaciones pueden atribuirse a la naturaleza del ensayo, pues al realizarlo hay que tomar en cuenta varios factores que pueden ser críticos, uno de ellos es el hecho de que el contenido de agua en la muestra puede afectar el resultado, por lo que fue necesario secar previamente las muestras con ayuda de sulfato de sodio anhidro que actúa como agente secante. Así mismo hay que tomar en cuenta que se debe recalcar al personal que es muy importante que cumpla las indicaciones dadas en la metodología (como en el resto, pero este es necesario hacer hincapié en cuanto al tiempo que permanece en reposo), pues de ello depende la cantidad de yodo que

reacciona y también se debe agitar intensamente pues de ello depende el asegurar que toda la muestra este reaccionando, ya que esto podría afectar los resultados obtenidos. Es importante dar énfasis a que la solución de almidón debe prepararse en el momento de utilizarla y debe calentarse, pues de lo contrario no se podrá observar el punto final de la valoración. La bibliografía reporta que la coloración formada es azul, sin embargo en el caso del aceite de palma es violeta pues el color naranja de la muestra hace que tome esta coloración. En la Gráfica 2 puede observarse que el lote 1 es el que presenta valores de índice de yodo más altos. También puede observarse que los cinco lotes presentan resultados muy parecidos pues las líneas se entrelazan.

En el caso del ensayo de índice de peróxidos puede observarse que los resultados obtenidos en cuatro lotes (2 al 5) reportados en las tablas 14 a 17, son aceptables pues tienen índices de peróxidos bajos, determinando así que es poca la oxidación que han sufrido estas muestras. Sin embargo, puede observarse en la tabla 13 que en el lote 1 los resultados estaban cercanos al límite permitido (≤ 10 meq O_2 /kg de grasa) y que en dos muestras el límite no cumplió. Esto es comprensible pues este lote de aceite de palma era el que tenía el mayor tiempo de recolección. Debe recordarse que una de las características de los aceites vegetales es que comienzan a formar peróxidos desde el momento en el que se extraen y que entran en contacto con el oxígeno, por lo que experimentan un continuo deterioro y fue esto lo que sucedió con esta muestra. En cuanto a sus características organolépticas podría decirse, que este lote presentaba una coloración menos naranja a comparación de las otras, aunque el olor si cumplía pues no era rancio sino el olor característico del aceite de palma. El aceite de palma contiene cantidades considerables de β -carotenos, los cuales son los responsables de impartirle el color naranja característico de este aceite, dichos compuestos son fotosensibles por lo que al no almacenar de forma adecuada las muestras se contribuye a su deterioro. En el inciso 6.3.4.1 en preparaciones se menciona el cuidado que debe tenerse al almacenar las muestras para realizar esta prueba, sin embargo en este caso no se cumplía pues las muestras venían en recipientes

inadecuados y la refrigeradora del laboratorio no mantenía la temperatura necesaria para almacenarlas, también se recomienda trabajar con luz difusa, pues esta prueba se puede ver afectada por la luz, por lo que debería contarse con un lugar adecuado para trabajar esta prueba o bien con cristalería que evite el contacto con la luz. Debido a ello es que es importante normar la forma en que se recibirán las muestras en el laboratorio, para asegurar que los datos que se brinden son confiables. Fue necesario excluir los resultados de este lote para que no afectaran el análisis estadístico efectuado y es por ello que en la Gráfica 3 este lote no se graficó. Al efectuar dicho análisis pudo observarse que los coeficientes de variación son muy elevados a pesar de que las desviaciones estándar son relativamente bajas, sin embargo debieron ser todavía más bajas ya que las medias aritméticas eran bajas y es esto lo que da coeficientes elevados, lo que nos indica que hay diferencia significativa entre las muestras.

A los resultados obtenidos en la prueba de índice de refracción no fue necesario efectuarles análisis estadístico, ya que las 10 muestras de cada lote presentaban la misma lectura (Tabla 9), siendo sus desviaciones estándar y sus coeficientes de variación iguales a cero, lo cual indica que no hay variación interna entre cada lote y por lo tanto se dice que hay repetibilidad dentro de los mismos. En cuanto a los resultados obtenidos se observa que no cumplen para ninguno de los lotes analizados. Esto podría indicar que el aceite de palma contiene algún otro compuesto que sería el responsable de que el valor sea mayor al esperado, el cual podría ser un compuesto de degradación, pues como se mencionó en párrafos anteriores las muestras no estaban almacenadas bajo condiciones adecuadas y debe recordarse que los aceites vegetales se degradan continuamente.

Para obtener más información acerca de las muestras se realizaron ciertas pruebas extras, como la determinación de impurezas y del punto de fusión de cada lote. En la tabla 20 puede apreciarse que los 5 lotes contienen impurezas, aunque sus valores son relativamente bajos. Esto se debe a que en muchas plantas

extractoras no se tiene control de calidad durante el proceso de extraer el aceite y además los recipientes y condiciones en los que se almacenan no son las más adecuadas. El lote que más porcentaje tuvo fue el lote 1 lo cual concuerda con el punto de fusión, pues es el lote que lo tiene más alto, lo que indica que es el más contaminado.

10. CONCLUSIONES

- 10.1. El método propuesto en este trabajo para el análisis de aceite de palma se implementó satisfactoriamente en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Veterinaria y Zootecnia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 10.2. El método propuesto se implementó como práctica en el Laboratorio de Análisis Aplicado en la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala.
- 10.3. No se validó el método propuesto debido a que no fue posible demostrar que el método fuera exacto y reproducible, pues no se tomaron en cuenta factores importantes para evaluar dichos parámetros.
- 10.4. El índice de refracción es una prueba que no presenta variación entre los resultados obtenidos, presentando una buena repetibilidad y precisión.
- 10.5. Los ensayos que mostraron precisión y repetibilidad fueron índice de yodo, índice de refracción y acidez, en los cuales no se observó variación significativa, por lo que se dice que son datos confiables.
- 10.6. La degradación continua que sufren los aceites, los contenedores y la forma en que son almacenados, son factores importantes que determinarán los resultados obtenidos durante el análisis de calidad del aceite.
- 10.7. El tiempo de recolección y análisis son factores que influirán en los resultados de índice de peróxidos, por lo que es un buen parámetro para determinar la calidad del aceite.

- 10.8. Los cinco lotes de aceite de palma tienen el contenido adecuado de ácidos grasos libres ya que poseen valores menores a 5%.
- 10.9. Los resultados del índice de refracción para los 5 lotes analizados no caen dentro del rango aceptado debido a que los lotes no se encuentran totalmente puros.

11. RECOMENDACIONES

- 11.1. Sería conveniente que el Gobierno normara al igual que en otros países, las especificaciones que deben cumplir los aceites vegetales, principalmente el aceite de palma que es de suma importancia en la producción de nuestro país.
- 11.2. Establecer en el Laboratorio de Bromatología de la Facultad de Veterinaria y Zootenia una normativa que especifique como será la recepción de muestras, indicando a los interesados el tipo de frasco que deben utilizar y las precauciones a seguir en cuanto a la recolección y almacenamiento de las muestras.
- 11.3. Velar porque las condiciones de almacenamiento de las muestras sean las adecuadas pues de ello dependerán los resultados que se obtengan.
- 11.4. Debido a que no pudo llevarse de forma completa la validación se recomienda utilizar este trabajo como base para futuros proyectos de investigación.

12. REFERENCIAS

- 12.1. Heinen, S.; Ovalle, D. "Guatemala: Oleaginosas y Productos Derivados". Gain Report # G10006. Embajada Americana. Guatemala. 2000. www.ag.uiuc.edu/~asala/espanol/market/FASGTs.htm
- 12.2. Bernardini, E. Oil seeds, Oils and Fats. Raw Materials. Volume I. 2^a Edition. BE Oil Publishing House. Roma. 1985. Pp. 135 – 140.
- 12.3. Fedepalma. Colombia. www.fedepalma.org
- 12.4. "Palma de Aceite". www.angelfire.com/biz2/palmaaceitera/infotecnica
- 12.5. Ocampo A., Lean I. "Aceite de Palma como fuente de energía en dietas de cerdos de engorde y crecimiento." 1998. www.Redwya.com/veterinarios/veterinarios/especialidades/Nutricion-animal/Nutrición/Porcino/Engorde/Engorde04.htm
- 12.6. González, A. Utilización de aceite de palma para la fabricación de candelas aromáticas. UVG. 1998.
- 12.7. Bolsa Nacional Agropecuaria. "Aceite crudo natural de Palma Africana" www.bna-sa.com.co/normas/aceite.htm1
- 12.8. IUPAC. Standar Methods for the Analysis for Oils, Fats and derivates. 6^a Edition. Editorial Pergamon Press. USA. 1979.
- 12.9. O'Brian, R. Fats and Oils Formulating and Processing for Application. USA. 1998. Pp. 25-27, 196 – 202.

- 12.10. Stauffer, C. *Fats & Oils Egan Press Handbook Series*. Editorial Egan Press. USA. 1996. Pp. 15 – 27.
- 12.11. *The United States Pharmacopeia USP24/The National Formulary NF19*. Tomo III. United States Pharmacopeial Convention Inc. USA. 1999. Pp. 2149-2151.
- 12.12. OMS. *Serie de Informes Técnicos*. No. 863. 1996. Organización Mundial de la Salud. Pp. 90 – 103.
- 12.13. Liermerman, H.; Lachman, L. *Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets Vol. 3*. Marcel Dekker Inc. USA. 1981. Pp. 417-448.
- 12.14. Green, J. *Analytical Chemistry, News & Features*. May 1. USA. 1996. Pp. 305 – 309.
- 12.15. Arriaga, E. *Cuantificación de carotenoides en el aceite de palma y en los desechos de su refinamiento*. Licenciado en Química. UVG. 1985.
- 12.16. Molina, A. *Carotenoides del aceite y subproductos de palma africana como fuente de pigmentación para yema de huevo*. Licenciado en Bioquímica. UVG. 1987.
- 12.17. Jiménez, O. *Estudio sobre la factibilidad de instalar una planta para producir manteca a partir del aceite crudo de la palma africana*. Ingeniero Químico. USAC. 1984.
- 12.18. Leal, H. *Evaluación de 4 fuentes de grasa o aceites en alimento preiniciador para cerdos*. USAC. 2000.

- 12.19. Austin, G. Manual de procesos químicos en la Industria. Tomo II. 5ª Edición. Editorial McGraw-Hill. México. 1990. Pp. 608-611.
- 12.20. Erickson, D.; et al. Handbook of soy oil processing and utilization. American Oil Chemist's Society. USA. 1980. Pp 468,505, 506.
- 12.21. Fox, B.; Cameron, A. Ciencia de los alimentos, nutrición y salud. Editorial Limusa. México. 1999. Pp. 66 – 71.
- 12.22. Grasas y Aceites. Volumen 41. Noviembre- Diciembre. Publicado por Instituto de la grasa Sevilla. España. 1990. Pp 418-420.

ANEXOS

	Pag.
Anexos I	
Especificaciones para el Aceite de Palma	56
Anexos II	
Otros ensayos para el análisis de aceites y grasas	57
Anexos III	
Preparación de Reactivos	59
Anexos IV	
Procedimientos Estándares de Operación (PEO's)	63

ANEXOS I

ESPECIFICACIONES DEL ACEITE DE PALMA:

Tabla No. 1 Especificaciones de parámetros evaluados en este proyecto.

Parámetro	Especificación
Indice de yodo	46 – 56
Indice de peróxidos	≤ 10 meq O ₂ /kg de grasa
Acidez	≤ 5 %
Indice de refracción (40°C)	1.4565 – 1.4585

Tabla No. 2 Otras especificaciones del aceite de palma

Parámetro	Especificación	
Gravedad específica 5°C/25°C	0.8919 – 0.8932	
Indice de saponificación	196 - 202	
% materia insaponificable	0.2 – 0.5	
Punto de fusión	36 – 45 °C	
Contenido de carotenos	500 – 1600	
Composición de ácidos grasos %):	Laúrico	0.1
	Mirístico	1.0
	Palmítico*	44.3
	Palmitoleico	0.15
	Estearico	4.6
	Oelico	38.7
	Linoleico	10.5
	Linolénico	0.3
	Araquidónico	0.3

* Característico de este aceite

ANEXO II

OTROS ENSAYOS PARA EL ANÁLISIS DE ACEITES Y GRASAS:

◆ Índice de Saponificación:

Es una medida de los grupos alcalinos reactivos en una grasa o aceite y es útil en predecir los tipos de glicéridos presentes en una muestra. Los glicéridos con ácidos grasos de cadenas cortas presentan un índice de saponificación mayor a los obtenidos con ácidos grasos de cadena larga. Este ensayo puede sustituirse en algunos casos por el análisis de la composición de ácidos grasos. El índice de saponificación y el índice de yodo son utilizados como ensayos en el control de calidad y en la caracterización del tipo de grasa y aceite (9).

◆ Punto de Fusión:

Usualmente se refiere a la temperatura a la cual un compuesto puro cambia del estado sólido al estado líquido. De hecho el punto de fusión de una grasa se nombra de una manera más correcta como punto de disolución. El método comúnmente utilizado para determinarlo es el del capilar (10).

◆ Composición de ácidos grasos:

Este análisis se ha convertido en un ensayo rutinario en gran parte debido a los requerimientos de las nuevas regulaciones del etiquetado de alimentos. En este ensayo se convierte los ácidos grasos libres de glicéridos a metil ésteres para luego ser analizados por cromatografía gas- líquido (CGL) (10). Este ensayo ha venido a reemplazar al método clásico para la identificación de grasas y aceites (consistente en la combinación de índice de saponificación, índice de yodo, índice de refracción y densidad relativa). La ventaja de éste es que permite la identificación de la fuente del aceite lo cual no es posible por medio del método clásico (9).

◆ **Determinación de Fósforo (Gomas residuales):**

Las lecitinas (fosfolípidos, gomas) presentes en los aceites contribuyen a la inestabilidad oxidativa de los aceites, es decir promueven la autooxidación (rancidez). Es por ello que durante el refinamiento se busca eliminarlas tanto como sea posible. El método consiste en llevar la muestra hasta ceniza, determinado el contenido de fósforo en la ceniza residual colorimétricamente o por espectrofotometría de absorción atómica. Un resultado mayor a 1 ppm indica un degomado (eliminación de gomas) incompleto (10).

◆ **Materia Insaponificable:**

Se define como materia insaponificable a las ceras, esteroides y hidrocarburos presentes en las grasas y aceites. Se saponifica una porción de muestra (sometiendo a reflujo con una solución de NaOH acuosa). La mezcla enfriada se extrae repetidamente con éter de petróleo y/o dietiléter. El solvente se remueve de la combinación de los extractos, el extracto seco se pesa y se reporta como materia insaponificable. Por lo general el contenido de ésta en un aceite apropiadamente refinado debe ser menor a 0.5% (10).

ANEXO III

PREPARACION DE REACTIVOS:

◆ Ácido Clorhídrico 0.5 N:

Diluir 42.5 mL de HCl concentrado con agua hasta 1000 mL. Estandarizar.

Estandarización:

- Pesar exactamente 1.5 g de estándar primario de carbonato de sodio anhidro, el cual previamente ha sido calentado a temperatura de cerca de 270 °C por una hora.
- Disolverlo en 100 mL de agua y agregar 2 gotas de rojo de metilo TS.
- Agregar el ácido lentamente con una bureta con agitación constante hasta que la solución se vuelva ligeramente rosada.
- Calentar la solución hasta ebullición, enfriar y continuar la valoración.
- Calentar nuevamente hasta ebullición y valorar tanto como sea necesario hasta que el color rosado pálido no sea afectado por la ebullición continua.
- Calcular la normalidad. Cada 26.495 mg de carbonato de sodio anhidro es equivalente a 1 mL de HCl 0.5 N.

◆ Solución etanólica de Hidróxido de potasio 0.1 N:

- Disolver cerca de 6.8 g de KOH en 20 mL de agua y agregar alcohol libre de aldehído para hacer 1000 mL.
- Dejar reposar la solución en un frasco herméticamente cerrado durante 24 horas.
- Luego decantar rápidamente el sobrenadante en un recipiente bien cerrado y estandarizar como se indica a continuación.

Estándarización:

- Medir exactamente 25 mL de HCl 0.5 N VS.
- Diluir con 50 mL de agua y agregar 2 gotas de fenolftaleína TS

- Valorar con la solución etanólica de KOH hasta que un color rosado pálido se produzca permanentemente.
- Calcular la normalidad.
- Nota: Guardar en recipientes bien cerrados protegidos de la luz.

◆ **Yoduro de potasio (100 g/L):**

Disolver 100 g de KI en agua para 1000 mL, guardar en frasco color ámbar (protegerlo de la luz).

◆ **Tiosulfato de sodio 0.1 N:**

- Disolver cerca de 24.8 g de tiosulfato de sodio y 190.8 mg de carbonato de sodio en 1000 mL de agua recientemente hervida y enfriada.
- Estandarizar.

Estandarización:

- Pesar exactamente 210 mg de estándar primario de dicromato de potasio previamente pulverizado y secado a 120 °C por 4 hora.
- Disolver en 100 mL en un balón aforado de 500 mL.
- Agitar para disolver el sólido, retirar el tapón y rápidamente agregar 3 g de KI, 2 g de NaHCO₃ y 5 mL de HCl.
- Insertar el tapón cuidadosamente en el frasco y agitar para mezclar, dejar reposar en la oscuridad por 10 minutos.
- Lavar el tapón y las paredes del balón con agua.
- Valorar el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio, hasta que la solución se torne color verde amarillento.
- Agregar 3 mL de almidón TS y continuar la valoración hasta que se presente el color azul.
- Calcular la normalidad.
- Reestandarizar la solución con frecuencia.

◆ **Tiosulfato de sodio 0.01 N:**

- Disolver cerca de 2.48 g de tiosulfato de sodio y 19.08 mg de carbonato de sodio en 1000 mL de agua recientemente hervida y enfriada.
- Estandarizar.

Estandarización:

- Pesar exactamente 210 mg de estándar primario de dicromato de potasio previamente pulverizado y secado a 120 °C por 4 hora.
- Disolver en 100 mL en un balón aforado de 500 mL.
- Agitar para disolver el sólido, retirar el tapón y rápidamente agregar 3 g de KI, 2 g de NaHCO₃ y 5 mL de HCl.
- Insertar el tapón cuidadosamente en el frasco y agitar para mezclar, dejar reposar en la oscuridad por 10 minutos.
- Lavar el tapón y las paredes del balón con agua.
- Valorar el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio, hasta que la solución se torne color verde amarillento.
- Agregar 3 mL de almidón TS y continuar la valoración hasta que se presente el color azul.
- Calcular la normalidad.
- Reestandarizar la solución con frecuencia.

◆ **Reactivo de Wijs (A partir de tricloruro de yodo):**

- Pesar 9 g de tricloruro de yodo en un frasco de vidrio color ámbar de 1500 mL de capacidad.
- Disolver en 1 litro de una mezcla compuesta de 700 mL de ácido acético y 300 mL de tetracloruro de carbono.
- Determinar el contenido de halógeno con el siguiente método:
 - a. Tomar 5 mL de la solución y agregar 5 mL de solución acuosa de KI y 30 mL de agua.

- b. Valorar con solución de tiosulfato de sodio en presencia de unas gotas de la solución de almidón como indicador.
- c. Agregar 10 g de polvo de yodo al volumen de reactivo y disolver por agitación.
- d. Determinar el contenido de halógeno como se indica arriba. El título debe ser ahora igual a $1 \frac{1}{2}$ veces que la primera determinación.
- e. Si este no es el caso agregar una pequeña cantidad de yodo hasta tener un ligero exceso del límite de $1 \frac{1}{2}$ veces.
- f. Es importante que no haya rastro alguno de tricloruro de yodo ya que al permanecer puede causar reacciones secundarias.
- g. Dejar reposar la solución, luego decantar el líquido claro dentro de un frasco bien cerrado, lejos de la luz.
- h. La solución puede ser utilizada durante varios meses.

Indicadores:

◆ **Solución de fenolftaleína:**

Disolver 10 g de fenolftaleína en 1000 mL de etanol al 95%.

◆ **Solución de almidón 10 g/L:**

Pesar 10 g de almidón y disolverlo en 1000 mL de agua destilada. Utilizarla recién preparada.

◆ **Solución de rojo de metilo:**

Disolver 100 mg de rojo de metilo en 100 mL de alcohol, filtrar si es necesario.

Título: Procedimiento para llevar a cabo la prueba de Índice de Yodo.	Código: P-001	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTANDAR DE OPERACION</i></p> <p>1. OBJETIVO</p> <p>Proporcionar instrucciones para realizar de forma adecuada la prueba de Índice de Yodo para aceites y grasas.</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es la responsabilidad del Jefe del área y/o el técnico del área cumplir este PEO.</p> <p>3. METODOLOGIA</p> <p>3.1. <u>Preparación de la muestra:</u></p> <p>3.1.1. Suministrar la muestra de laboratorio tan homogénea como sea posible, volteando el frasco arriba y abajo varias veces. Tomar aproximadamente 5 g de grasa o aceite y calentar a 50°C hasta que la muestra esté fundida.</p> <p>3.1.2. Añadir 1 g de sulfato de sodio anhidro de grasa o aceite y mantener en el horno a 50°C por media hora .</p> <p>3.1.3. Agitar vigorosamente y filtrar (el filtrado constituye la muestra test).</p> <p>3.2. <u>Procedimiento:</u></p> <p>3.2.1. Pesar 0.4 g de aceite o grasa en un erlenmeyer de 250 mL.</p> <p>3.2.2. Disolver con 7 mL de tetracloruro de carbono.</p> <p>3.2.3. Agregar exactamente 12.5 mL de reactivo de Wijs.</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

- 3.2.4. Tapar el erlenmeyer, agitar el contenido suavemente y colocarlo en un lugar oscuro por 1 hora.
- 3.2.5. Preparar del mismo modo un ensayo en blanco con el disolvente y el reactivo, pero sin la muestra.
- 3.2.6. Al finalizar el tiempo, agregar a cada uno de los erlenmeyers 20 mL de solución de yoduro de potasio y 75 mL de agua destilada.
- 3.2.7. Valorar con la solución de tiosulfato de sodio 0.1 N usando solución de almidón como indicador (es importante que el almidón sea preparado recientemente y que esté caliente).
- 3.2.8. Continuar la valoración hasta que el color azul desaparezca después de una agitación muy intensa. (la muestra queda incolora).

3.3. Cálculos:

El índice de yodo se calcula de la siguiente forma:

$$IY = \frac{6.345 \times T \times (V_0 - V_1)}{m}$$

Donde:

T = valor numérico de la normalidad exacta de la solución de tiosulfato sódico utilizada.

V₀ = número de mL de la solución de tiosulfato sódico utilizada para el ensayo en blanco.

V₁ = número de mL de la solución de tiosulfato sódico utilizada para la porción de muestra.

m = masa en gramos de la porción de muestra.

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Título: Procedimiento para llevar a cabo la prueba de Acidez.	Código: P-OO2	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<i>PROCEDIMIENTO ESTANDAR DE OPERACION</i>		
<p>1. OBJETIVO</p> <p>Proporcionar instrucciones para realizar de forma adecuada la prueba de Acidez (% de ácidos grasos) para aceites y grasas.</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es la responsabilidad del Jefe del área y/o el técnico del área cumplir este PEO.</p> <p>3. METODOLOGIA</p> <p>3.1. <u>Preparación de la muestra:</u></p> <p>3.1.1. Suministrar la muestra de laboratorio tan homogénea como sea posible, volteando el frasco arriba y abajo varias veces. Tomar aproximadamente 5 g de grasa o aceite y calentar a 50°C hasta que la muestra esté fundida.</p> <p>3.1.2. Si la muestra presenta turbidez o sedimentos debe filtrarse.</p> <p>3.1.3. Preparar una mezcla de etanol y éter en proporción de 1:1, agregar 4 gotas de fenolftaleína y neutralizar con KOH 0.1 N.</p> <p>3.2. <u>Procedimiento:</u></p> <p>3.2.1. Pesar en un erlenmeyer según sea el caso de la muestra lo siguiente:</p> <p style="padding-left: 40px;">Aceite de palma 1.0 g</p> <p style="padding-left: 40px;">Grasa comercial 20.0 g</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

3.2.2. Divolverla con 50 mL de la mezcla éter y etanol (1:1) previamente neutralizada.

3.2.3. Valorar con la solución de Hidróxido de Potasio 0.1 N.

3.2.4. Valorar hasta el viraje del indicador (Aceite de palma hasta anaranjado tenue y grasa comercial hasta rosado pálido).

3.3. Cálculos:

La acidez se calcula de la siguiente manera (en el caso del aceite de palma en porcentaje de ácido palmítico y en el de la grasa comercial en porcentaje de ácido oleico):

$$A = \frac{T \times V \times M}{10 m}$$

Donde:

V = volumen en mL de la solución valorada de hidróxido de potasio utilizada.

T = normalidad exacta de la solución de hidróxido potásico utilizada.

m = masa en gramos de la porción de muestra.

M = peso molecular del ácido en que se expresa el resultado (ácido palmítico = 256 ; ácido oleico = 282)

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Título: Procedimiento para llevar a cabo la prueba de Índice de Peróxidos	Código: P-003	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTANDAR DE OPERACION</i></p> <p>1. OBJETIVO</p> <p>Proporcionar instrucciones para realizar de forma adecuada la prueba de Índice de peróxidos para aceites y grasas.</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es la responsabilidad del Jefe del área y/o el técnico del área cumplir este PEO.</p> <p>3. METODOLOGIA</p> <p>3.1. <u>Preparación de la muestra:</u></p> <p>3.1.1. Suministrar la muestra de laboratorio tan homogénea como sea posible, volteando el frasco arriba y abajo varias veces. Tomar aproximadamente 5 g de grasa o aceite y calentar a 50°C hasta que la muestra esté fundida.</p> <p>3.1.2. Si la muestra presenta turbidez o sedimentos debe filtrarse.</p> <p>3.2. <u>Procedimiento:</u></p> <p>3.2.1. El ensayor debe realizarse con luz natural difusa o con luz artificial y debe hacerse un blanco.</p> <p>3.2.2. Pesar en un erlenmeyer según sea el caso de la muestra lo siguiente:</p> <p style="text-align: center;">Aceite de palma 2.5 g Grasa comercial 2.0 g</p> <p>3.2.3. Añadir 10 mL de cloroformo disolver la muestra agitando.</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

- 3.2.4. Agregar 15 mL de ácido acético y 1 mL de solución de yoduro de potasio. Cerrar rápidamente el erlenmeyer, agitar durante 1 minuto.
- 3.2.5. Mantenerlo en oscuridad por 5 minutos a una temperatura de 15–25 °C.
- 3.2.6. Terminado el tiempo añadir 75 mL de agua destilada.
- 3.2.7. Valorar agitando vigorosamente con la solución de Tiosulfato 0.01 N utilizando la solución de almidón como indicador (recordar que el indicador debe ser de reciente preparación y debe estar caliente).
- 3.2.8. Valorar hasta que el color azul (o violeta) desaparezca.

3.3. Cálculos:

El índice de peróxidos (IP), expresado en miliequivalentes de oxígeno activo por kg de grasa se calcula mediante la fórmula siguiente:

$$IP = \frac{V \times T \times 1000}{m}$$

Donde:

V = es el número de mL de solución de tiosulfato de sodio usada en el ensayo, corregidos tomando en cuenta el ensayo en blanco.

T = es la normalidad exacta de la solución de tiosulfato sódico empleada

m = peso en gramos de la muestra.

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Título: Procedimiento para llevar a cabo la prueba de Índice de Refracción	Código: P-004	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<i>PROCEDIMIENTO ESTANDAR DE OPERACION</i>		
<p>1. OBJETIVO Proporcionar instrucciones para realizar de forma adecuada la prueba de Índice de Refracción para aceites y grasas.</p> <p>2. RESPONSABLE Es la responsabilidad del Jefe del área y/o el técnico del área cumplir este PEO.</p> <p>3. METODOLOGIA</p> <p>3.1. <u>Preparación de la muestra:</u></p> <p>3.1.1. Suministrar la muestra de laboratorio tan homogénea como sea posible, volteando el frasco arriba y abajo varias veces. Tomar aproximadamente 5 g de grasa o aceite y calentar a 50°C hasta que la muestra esté fundida.</p> <p>3.1.2. Añadir 1 g de sulfato de sodio anhidro de grasa o aceite y mantener en el horno a 50°C por media hora .</p> <p>3.1.3. Agitar vigorosamente y filtrar (el filtrado constituye la muestra test).</p> <p>3.2. <u>Procedimiento:</u></p> <p>3.2.1. Mantener la muestra en baño maría a 40 °C.</p> <p>3.2.2. Proceder a hacer la determinación en el refractómetro colocando una gota de la muestra en el lugar indicado.</p> <p>3.2.3. Hacer un total de 3 lecturas</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

3.2.4. Sacarle la media a estos resultados, redondeando hasta el cuarto decimal.

3.3. Cálculos:

En el caso que la temperatura de lectura varíe de la prescrita en ± 3 °C o menos utilizar la siguiente fórmula para corregir el índice de refracción.

$$n_D^{t_1} = n_D^t + (t_1 - t)F \quad \text{si } t_1 > t$$

$$n_D^{t_1} = n_D^t - (t_1 - t)F \quad \text{si } t_1 < t$$

Donde:

$n_D^{t_1}$ = índice de refracción

n_D^t = lectura a t_1

t_1 = temperatura a la cual se efectuó la lectura

t = temperatura prescrita (teórica)

F = 0.00036 (a 40°C)

Reproducibilidad: la diferencia entre los resultados de las 3 determinaciones hechas por el mismo analista no debe exceder a 0.0002.

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Título: Preparación y estandarización de hidróxido de potasio, solución etanólica 0.5N	Código: R-001	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</i></p> <p>4. OBJETIVO</p> <p>Normar la preparación y estandarización del hidróxido de potasio solución etanólica a la concentración de 0.5 N.</p> <p>5. RESPONSABLE</p> <p>Es responsable de cumplir este procedimiento toda persona que prepare y/o estandarice una solución etanólica de hidróxido de potasio 0.5N.</p> <p>6. PROCEDIMIENTO</p> <p>3.1. En un recipiente adecuado pesar cerca de 34 gramos de hidróxido de potasio.</p> <p>3.2. Utilizando una probeta medir 20 mL de agua destilada.</p> <p>3.3. Disolver el peso de hidróxido de potasio en el agua, para ello debe colocarse el agua en un recipiente apropiado y se debe agregar el hidróxido de potasio poco a poco, manteniendo una agitación constante hasta disolver completamente el sólido.</p> <p>3.4. Trasvasar la solución a un balón aforado de 1000 mL de capacidad y aforar con alcohol etílico libre de aldehído para hacer 1000 mililitros.</p> <p>3.5. Cerrar el balón aforado con el tapón apropiado.</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación....

- 3.6. Agitar la solución, volteando lenta y cuidadosamente el balón aforado varias veces. Es normal si la solución se precipita durante la agitación.
- 3.7. Trasvasar la solución hacia un recipiente herméticamente cerrado, protegido de la luz y de material plástico o resistente a la solución alcalina.
- 3.8. Dejar reposar la solución en el frasco bien cerrado durante 24 horas.
- 3.9. Luego decantar o filtrar el sobrenadante y almacenar en un recipiente bien cerrado, protegido de la luz y de material plástico o resistente a la solución alcalina.

4. ESTANDARIZACIÓN

- 4.1. Medir con una pipeta volumétrica exactamente 25 mL de ácido clorhídrico 0.5 N VS.
- 4.2. Agregar el volumen en un erlenmeyer bien limpio y seco.
- 4.3. Diluir con 50 mL de agua destilada y agregar 2 gotas del indicador fenolftaleína.
- 4.4. Valorar con la solución etanólica de hidróxido de potasio hasta que un color rosado pálido se produzca permanentemente.
- 4.5. Calcular la normalidad.

5. CALCULOS PARA NORMALIDAD

5.1. Normalidad = miliequivalentes (meq) de KOH/ mililitros (mL) de KOH

Por lo tanto: $25 \text{ mL de ácido clorhídrico} \times \{A\} \frac{\text{meq}}{\text{mL}} = \{B\}$

Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:
--------------	---------------	---------------

Continuación...

donde:

A= normalidad exacta del ácido clorhídrico utilizado expresado en meq/mL.

B= meq de ácido obtenidos.

5.2. miliequivalentes de HCl = miliequivalentes de KOH

5.3. $N = \frac{B}{C}$ (meq de KOH)

C (Volumen de KOH en mL gastado en la valoración).

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Título: Preparación y estandarización de hidróxido de potasio, solución etanólica 0.1N	Código: R-002	Fecha de vencimiento:
		Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTANDAR DE OPERACION</i></p> <p>1. OBJETIVO</p> <p>Normar la preparación y estandarización del hidróxido de potasio solución etanólica a la concentración de 0.1 N.</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es responsable de cumplir este procedimiento toda persona que prepare y/o estandarice una solución etanólica de hidróxido de potasio 0.1 N.</p> <p>3. PROCEDIMIENTO</p> <p>a. En un recipiente adecuado pesar cerca de 6.8 gramos de hidróxido de potasio.</p> <p>b. Utilizando una probeta medir 4 mL de agua destilada.</p> <p>c. Disolver el peso de hidróxido de potasio en el agua, para ello debe colocarse el agua en un recipiente apropiado y se debe agregar el hidróxido de potasio poco a poco, manteniendo una agitación constante hasta disolver completamente el sólido.</p> <p>d. Trasvasar la solución a un balón aforado de 1000 mL de capacidad y aforar con alcohol etílico libre de aldehído para hacer 1000 mililitros.</p> <p>e. Cerrar el balón aforado con el tapón apropiado.</p> <p>f. Agitar la solución, volteando lenta y cuidadosamente el balón aforado varias veces. Es normal si la solución se precipita durante la agitación.</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

- g. Trasvasar la solución hacia un recipiente herméticamente cerrado, protegido de la luz y de material plástico o resistente a la solución alcalina.
- h. Dejar reposar la solución en el frasco bien cerrado durante 24 horas.
- i. Luego decantar o filtrar el sobrenadante y almacenar en un recipiente bien cerrado, protegido de la luz y de material plástico o resistente a la solución alcalina.

4. ESTANDARIZACIÓN

- a. Medir con una pipeta volumétrica exactamente 5 mL de ácido clorhídrico 0.5 N VS.
- b. Agregar el volumen en un erlenmeyer bien limpio y seco.
- c. Diluir con 20 mL de agua destilada y agregar 2 gotas del indicador fenolftaleína .
- d. Valorar con la solución etanólica de hidróxido de potasio hasta que un color rosado pálido se produzca permanentemente.
- e. Calcular la normalidad.

5. CALCULOS PARA NORMALIDAD

- a. Normalidad = miliequivalentes (meq) de KOH/ mililitros (mL) de KOH
 Por lo tanto: $5 \text{ mL de ácido clorhídrico} \times \frac{\{A\} \text{ meq}}{\text{mL}} = \{B\}$

donde:

A= normalidad exacta del ácido clorhídrico utilizado expresado en meq/mL.

Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:
--------------	---------------	---------------

Continuación...

B= meq de ácido obtenidos.

b. miliequivalentes de HCl = miliequivalentes de KOH

c. $N = \frac{B}{C}$ (meq de KOH)

C (Volumen de KOH en mL gastado en la valoración)

Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:
--------------	---------------	---------------

Título: Preparación y estandarización de ácido clorhídrico 0.5 N	Código: R-003	Fecha de vencimiento:
		Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</i></p> <p>1. OBJETIVO</p> <p>Establecer la preparación y estandarización del ácido clorhídrico a la concentración de 0.5 N .</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es responsable de cumplir este procedimiento toda persona que prepare y/o estandarice una solución de ácido clorhídrico 0.5 N.</p> <p>3. PROCEDIMIENTO</p> <p>a. En una probeta medir 42.5 mL de ácido clorhídrico concentrado, realizando el procedimiento con mucho cuidado, con protección en las manos y usando la campana de extracción ya que los vapores de este ácido son irritantes.</p> <p>b. En un balón aforado de 1000 mL de capacidad, llenado con agua destilada a la mitad de su volumen, agregar la cantidad de ácido, es importante agregar el ácido al agua para evitar reacciones violentas.</p> <p>c. Aforar con agua destilada hasta 1000 mL.</p> <p>d. Agitar la solución y estandarizar como se describe.</p> <p>e. Trasvasar la solución hacia un recipiente adecuado</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

4. ESTANDARIZACIÓN

- a. Pesar 1.5 g de estándar primario de carbonato de sodio anhidro el cual previamente ha sido calentado a temperatura de cerca de 270 °C por una hora. (Se debe anotar el peso exacto del carbonato de sodio).
- b. Disolver en 100 mL de agua y agregar 2 gotas de indicador rojo de metilo TS.
- c. Valorar con el ácido clorhídrico y con agitación constante hasta que la solución se vuelva ligeramente rosada.
- d. Calentar la solución hasta ebullición, enfriar y continuar la valoración.
- e. Calentar nuevamente hasta ebullición y valorar tanto como sea necesario hasta que el color rosado pálido no sea afectado por la ebullición continua. Calcular la normalidad.
- f. Cada 26.495 mg de carbonato de sodio anhidro es equivalente a 1 mL de ácido clorhídrico 0.5 N.

5. CALCULOS PARA NORMALIDAD

Normalidad = miliequivalentes (meq) de HCl/ mililitros (mL) de HCl

Para averiguar los meq de ácido se opera:

$$\{A\} \times \frac{2,000 \text{ meq}}{105.99 \text{ gramos}} = \text{meq de HCl}$$

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Continuación...

donde:

A= Peso exacto en gramos de carbonato de sodio anhidro.

a. $N = \frac{\text{meq de HCl}}{\text{Volumen de HCl en mL gastado en la valoración}}$

Volumen de HCl en mL gastado en la valoración

Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:
--------------	---------------	---------------

Título: Preparación y estandarización de solución de tiosulfato de sodio 0.1N	Código: R-004	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</i></p> <p>1. OBJETIVO Establecer la forma de preparación y estandarización de la solución de tiosulfato de sodio 0.1 N.</p> <p>2. RESPONSABLE Es responsable de cumplir este procedimiento toda persona que prepare y/o estandarice una solución de tiosulfato de sodio 0.1 N.</p> <p>3. PROCEDIMIENTO</p> <p>a. En un recipiente adecuado pesar cerca de 24.8 gramos de tiosulfato de sodio y por aparte pesar 190.8 miligramos (0.1908 g) de carbonato de sodio.</p> <p>b. Disolver ambos sólidos con agua recientemente hervida y enfriada, en un balón aforado de 1000 mL de capacidad.</p> <p>c. Aforar la solución, agitar y estandarizar como se describe.</p> <p>4. ESTANDARIZACIÓN</p> <p>a. Para estandarizar la solución de tiosulfato de sodio 0.1 N se debe preparar una solución de dicromato de potasio.</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

- i. Solución de dicromato de potasio:
 - ii. En un horno o una mufla calibrada a 120 °C, colocar en un recipiente adecuado un poco mas de 210 mg de estándar primario de dicromato de potasio durante 4 horas.
 - iii. Después de transcurrido el tiempo sacar y dejar enfriar en una desecadora durante 15 minutos aproximadamente.
 - iv. En un erlenmeyer con boca y tapón esmerilados de 250 mL de capacidad pesar 210 mg del estándar primario de dicromato de potasio previamente pulverizado y secado. Se debe anotar el peso exacto de dicromato.
 - v. Disolver el sólido con 100 mL de agua destilada y cerrar el recipiente.
- b. Por aparte pesar 3 gramos de yoduro de potasio y 2 gramos de bicarbonato de sodio.
 - c. En una probeta medir 5 mL de ácido clorhídrico concentrado. Realizar el procedimiento en la campana de extracción para evitar los vapores irritantes.
 - d. En el recipiente en donde se preparó la solución de dicromato de potasio. Retirar el tapón y rápidamente agregar el yoduro de potasio, el bicarbonato de sodio y 5 mL de ácido clorhídrico.
 - e. Insertar el tapón cuidadosamente en el frasco y agitar para mezclar.
 - f. Dejar reposar la solución en la oscuridad por 10 minutos.
 - g. Utilizando una pizeta lavar el tapón y las paredes del recipiente con poco de agua destilada.
 - h. Llenar una bureta con tiosulfato de sodio 0.1N, asegurándose de lavarla antes con un poco de la solución.
 - i. Valorar el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio 0.1 N, hasta que la solución se torne color verde amarillento.

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

- j. Agregar 3 mL de indicador de almidón y continuar la valoración hasta que se presente un color azul intenso. Anotar el volumen total gastado.
- k. Calcular la normalidad.

5. CALCULOS PARA NORMALIDAD

a. Normalidad = miliequivalentes (meq) de tiosulfato/ mililitros (mL) de Tiosulfato

Para averiguar meq de tiosulfato:

$$\text{Peso exacto de dicromato} \times \frac{6,000 \text{ meq}}{214.19 \text{ gramos}} = \text{meq de dicromato}$$

b. miliequivalentes de dicromato = miliequivalentes de tiosulfato

c. $N = \frac{\text{meq de tiosulfato}}{\text{Volumen de tiosulfato en mL gastados en la valoración}}$

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Título: Preparación y estandarización de solución de tiosulfato de sodio 0.01N	Código: R-005	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</i></p> <p>1. OBJETIVO</p> <p>Establecer la forma de preparación y estandarización de la solución de tiosulfato de sodio 0.01 N.</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es responsable de cumplir este procedimiento toda persona que prepare y/o estandarice una solución de tiosulfato de sodio 0.1 N.</p> <p>3. PROCEDIMIENTO</p> <p>a. En un recipiente adecuado pesar cerca de 2.48 gramos de tiosulfato de sodio y por aparte pesar 19.08 miligramos (0.01908 g) de carbonato de sodio.</p> <p>b. Disolver ambos sólidos con agua recientemente hervida y enfriada, en un balón aforado de 1000 mL de capacidad.</p> <p>c. Aforar la solución, agitar y estandarizar como se describe.</p> <p>4. ESTANDARIZACIÓN</p> <p>a. Para estandarizar la solución de tiosulfato de sodio 0.01 N se debe preparar una solución de dicromato de potasio como se describe:</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

- i. En un horno o una mufla calibrada a 120 °C, colocar en un recipiente adecuado un poco mas de 21 mg de estándar primario de dicromato de potasio durante 4 horas.
 - ii. Después de transcurrido el tiempo sacar y dejar enfriar en una desecadora durante 15 minutos aproximadamente.
 - iii. En un erlenmeyer con boca y tapón esmerilados de 250 mL de capacidad pesar 21 mg del estándar primario de dicromato de potasio previamente pulverizado y secado. Se debe anotar el peso exacto de dicromato.
 - iv. Disolver el sólido con 100 mL de agua destilada y cerrar el recipiente.
- b. Por aparte pesar 0.3 gramos de yoduro de potasio y 0.2 gramos de bicarbonato de sodio.
 - c. En una probeta medir 0.5 mL de ácido clorhídrico concentrado. Realizar el procedimiento en la campana de extracción para evitar los vapores irritantes.
 - d. En el recipiente en donde se preparó la solución de dicromato de potasio. Retirar el tapón y rápidamente agregar el yoduro de potasio, el bicarbonato de sodio y ácido clorhídrico.
 - e. Insertar el tapón cuidadosamente en el frasco y agitar para mezclar.
 - f. Dejar reposar la solución en la oscuridad por 10 minutos.
 - g. Utilizando una pizeta lavar el tapón y las paredes del recipiente con poco de agua destilada.
 - h. Llenar una bureta con tiosulfato de sodio 0.01N, asegurándose de lavarla antes con un poco de la solución.

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Continuación...

- i. Valorar el yodo liberado con la solución de tiosulfato de sodio 0.01 N, hasta que la solución se torne color verde amarillento.
- j. Agregar 1.5 mL de indicador de almidón y continuar la valoración hasta que se presente un color azul intenso. Anotar el volumen total gastado.
- k. Calcular la normalidad.

5. CALCULOS PARA NORMALIDAD

- a. Normalidad = miliequivalentes (meq) de tiosulfato/ mililitros (mL) de
Tiosulfato

Para averiguar meq de tiosulfato:

$$\text{Peso exacto de dicromato} \times \frac{6,000 \text{ meq}}{214.19 \text{ gramos}} = \text{meq de dicromato}$$

- b. miliequivalentes de dicromato = miliequivalentes de tiosulfato

$$c. N = \frac{\text{meq de tiosulfato}}{\text{Volumen de tiosulfato en mL gastados en la valoración}}$$

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

Título: Preparación de la solución de yoduro de potasio 100 g / L	Código: R-006	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTÁNDAR DE OPERACIÓN</i></p> <p>1. OBJETIVO</p> <p>Establecer la forma de preparación de una solución de yoduro de potasio 100 g / L.</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es responsable de cumplir este procedimiento toda persona que prepare la solución de yoduro de potasio 100 g / L.</p> <p>3. PROCEDIMIENTO</p> <p>a. En un recipiente adecuado pesar exactamente 100 g de yoduro de potasio.</p> <p>b. En un balón aforado disolver el sólido en agua destilada.</p> <p>c. Agitar y aforar la solución.</p> <p>d. La solución se debe almacenar en un recipiente de vidrio color ambar, herméticamente cerrado y en un lugar protegido de la luz.</p> <p>e. La solución puede ser utilizada mientras permanezca clara o ligeramente amarillenta, de lo contrario se debe remplazar.</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Título: Preparación de soluciones indicadoras: fenolftaleína, almidón y rojo de metilo	Código: R-007	Fecha de vencimiento: Sustituye al de fecha:
<p><i>PROCEDIMIENTO ESTANDAR DE OPERACION</i></p> <p>1. OBJETIVO</p> <p>Establecer la forma de preparación de tres soluciones indicadoras como lo son la fenolftaleína, el rojo de metilo y la solución de almidón.</p> <p>2. RESPONSABLE</p> <p>Es responsable de cumplir este procedimiento toda persona que prepare la solución de yoduro de potasio 100 g / L.</p> <p>6. PROCEDIMIENTO</p> <p>6.1. Fenolftaleína:</p> <p>6.1.1. En un recipiente adecuado pesar exactamente 2 gramos de indicador de fenolfaleína.</p> <p>6.1.2. Con una probeta medir 200 mL de etanol al 95%.</p> <p>6.1.3. Disolver completamente la fenolftaleína sólida en el etanol.</p> <p>6.1.4. Almacenar en un recipiente herméticamente cerrado, alejado del calor.</p> <p>6.2. Rojo de metilo:</p> <p>6.2.1. En un recipiente adecuado pesar exactamente 100 mg de indicador de rojo de metilo sólido.</p> <p>6.2.2. En una probeta medir 100 ml de alcohol y disolver el sólido en dicho volumen.</p>		
Emitido por:	Revisado por:	Aprobado por:

Continuación...

6.2.3. Filtrar la solución si es necesario.

6.2.4. Almacenar en un recipiente herméticamente cerrado, alejado del calor.

6.3. Almidón:

6.3.1. Pesar en un recipiente adecuado 1 gramo de almidón natural soluble.

6.3.2. Medir 100 mL de agua destilada y disolver el almidón.

6.3.3. Para obtener mejor resultado en los ensayos se recomienda calentar la solución de almidón manteniendo agitación constante y utilizarla tibia.

6.3.4. Se recomienda que la solución de almidón se prepare cada vez que sea necesario, ya que se contamina fácilmente no se debe almacenar por mucho tiempo.

Emitido por:

Revisado por:

Aprobado por:

