

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

Procedimiento de ensayo de Determinación de Índice de Peróxidos

AOXLAB S.A.S.

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

DOCUMENTO CONTROLADO

PROC-TC-071 Procedimiento de ensayo de determinación de Índice de Peróxidos.

Copia controlada No.: 1

| | Nombre | Puesto o función | Firma | Fecha |
|------------------------------------|----------------------------|---|-------|------------|
| Elaboró: | Santiago Valencia Álvarez | Analista fisicoquímica | | 2020-01-21 |
| Revisó: | Dario Pardo Pardo | Líder de Calidad | | 2020-01-22 |
| Aprobó: | Yasmin Eliana Lopera Pérez | Gerente y Director Técnico | | 2020-04-01 |
| Localización del documento: | | http://107.190.139.42/~aoxlabsgc/sig/ | | |

Control de Cambios

| Estado | Fecha de inicio de vigencia | Revisión | Descripción del cambio realizado | Realizó | Revisó | Aprobó |
|---------|-----------------------------|----------|----------------------------------|---------|--------|--------|
| Vigente | 2020-04-01 | 1 | Ninguno | SVA | DPP | YELP |
| | | | | | | |

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

ÍNDICE

| | | |
|------------|--|----|
| 1 | OBJETIVO Y ALCANCE | 4 |
| 1.1 | Objetivo..... | 4 |
| 1.2 | Alcance..... | 4 |
| 2 | DEFINICIONES Y NOTACIONES | 4 |
| 2.1 | Definiciones..... | 4 |
| 2.2 | Notaciones..... | 5 |
| 3 | REFERENCIAS | 5 |
| 4 | DESARROLLO | 6 |
| 4.1 | CONDICIONES GENERALES | 6 |
| 4.1.1 | Revisión general..... | 6 |
| 4.1.2 | Estabilización..... | 6 |
| 4.1.3 | Verificación de equipos..... | 6 |
| 4.1.4 | Manejo de la muestra..... | 7 |
| 4.1.5 | Medidas de seguridad..... | 7 |
| 4.2 | INSTRUCCIONES DE ENSAYO | 7 |
| 4.2.1 | Preparación de soluciones:..... | 7 |
| | Solución Ácido acético – Cloroformo:..... | 7 |
| | Solución saturada de yoduro de potasio:..... | 8 |
| | Solución estándar de Tiosulfato de sodio 0,1N:..... | 8 |
| | Solución estándar de Tiosulfato de sodio 0.01N:..... | 8 |
| 4.2.2 | Ensayo..... | 9 |
| 4.3 | INFORME | 9 |
| 4.4 | CONTROL DE LA CALIDAD | 11 |
| 5 | RESPONSABILIDADES | 11 |
| 5.1 | Director técnico..... | 11 |
| 5.2 | Líder de Calidad..... | 11 |
| 5.3 | Líder de Laboratorio..... | 12 |
| 5.4 | Analista..... | 12 |
| 6 | FORMATOS RELACIONADOS | 13 |
| 7 | ANEXOS | 13 |

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

1 OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar el ensayo análisis de índice de peróxidos de acuerdo con los parámetros de la AOAC 965.33 Official Methods of analysis - OMA Edición Online 1995 [2] y los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

| Prueba o ensayo | Norma o método de referencia | Técnica o Método | Rango de medición |
|--------------------------------------|--|------------------|-------------------|
| Determinación de Índice de Peróxidos | AOAC 965.33 Official Methods of analysis - OMA Edición Online 1995 [2] | Titulométrico | 0% - 100% |

Este método se aplica a las siguientes matrices:

- Aceites
- Grasas
- Margarinas

2 DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Rancidez: El enranciamiento de las grasas y aceites es un proceso natural por el cual la composición de estas se altera con el tiempo, lo que provoca, entre otras cosas, un cambio en las propiedades organolépticas de las mismas, entre ellas un cambio en su sabor.

La reacción de oxidación del aceite consiste en la incorporación del oxígeno en el doble enlace del ácido graso insaturado (ya sea libre o incorporado en un acilglicérido) para formar peróxidos e hidroperóxidos.

| | | |
|---|--|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

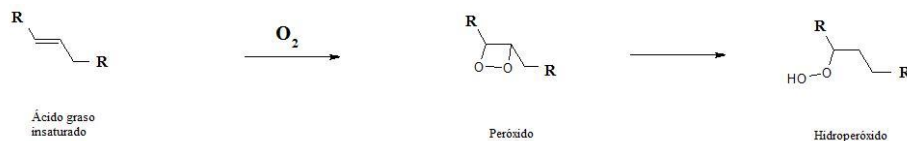


Figura 1. Reacción de oxidación de ácidos grasos insaturados

Índice de peróxidos: Es el producto de la reacción entre las grasas presentes en el aceite y el oxígeno, define su estado de oxidación primaria y nos da por tanto un parámetro de su tendencia al enranciamiento. Se asocia con la presencia de peróxidos derivados de los ácidos grasos presentes en la muestra.

El método consiste en la disolución de la muestra ácido acético y cloroformo, se trata con solución de yoduro potásico el cual es oxidado por las sustancias presentes en la muestra. El yodo liberado se valora con solución valorada de tiosulfato sódico hasta el viraje del almidón. Finalmente, los resultados se expresan en términos de miliequivalentes de oxígeno activo por kg de grasa o aceite.

2.2 Notaciones.

Para propósitos de este documento, se hacen las siguientes consideraciones:

“**Laboratorio**”: se refiere al laboratorio AOXLAB S.A.S.

“**Servicios**”: para referir a los servicios de ensayo que el Laboratorio ofrece.

“**Ítem**”: se refiere a los objetos o materiales bajo ensayo.

3 REFERENCIAS.

[1] ISO/IEC 17025:2017 General requirements for the competence of testing and calibration laboratories / Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.

[2] AOAC 965.33. Peroxide Value of Oils and Fats.

[3] AOAC 942.27, Standards Solutions of Sodium Thiosulfate.

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

4 DESARROLLO

Para realizar el ensayo se utilizan los siguientes equipos y componentes clave:

| Equipos |
|---|
| Balanza analítica con resolución de 0.1 mg |
| Cabina de extracción |
| Plancha de calentamiento y agitación. |
| Agitadores magnéticos |
| Equipo de volumetría (balones, pipetas, bureta) |
| Purificador de agua |

Comentado [A1]: Documentar la lista de materiales necesarios. Ej. Pipeta de Mohr, papel de filtro, etc

4.1 CONDICIONES GENERALES

4.1.1 Revisión general.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, ésta es inspeccionada con el fin de verificar que las condiciones de cantidad, empaque y preservación se mantienen, conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que se cuenta con mínimo 10 gramos de muestra para realizar este análisis.

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, realizar la observación en el FOR-TC-092 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de Índice de Peróxidos", e informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de laboratorio.

4.1.2 Estabilización.

Los ítems de ensayo, patrones y controles de calidad deben atemperarse con suficiente antelación de tal manera que se encuentren en equilibrio térmico con el ambiente en el cual se ejecutarán los ensayos.

La balanza analítica y otros equipos electrónicos que realicen mediciones de alguna magnitud correspondiente a condiciones de influencia en la ejecución del ensayo deben encenderse por lo menos media hora antes de su uso. Así mismo, deben verificarse los equipos, de acuerdo con lo establecido en el numeral 4.1.3

4.1.3 Verificación de equipos.

Antes de iniciar el ensayo, debe verificarse que el estado de funcionamiento de los equipos sea adecuado. Esto puede llevarse a cabo revisando que cuenten con la etiqueta de mantenimiento vigente y que estos no tengan alguna etiqueta que lo identifique como "Fuera de servicio". Además, en el caso en el cual se lleve el control

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

de uso, deben registrarse los últimos registros consignados en el formato FOR-TC-017, con el propósito de verificar que no se han registrado fallas en el funcionamiento. Si algún equipo es utilizado para la medición de alguna magnitud de influencia en el ensayo, este debe estar calibrado. Por tanto, se debe verificar la etiqueta de calibración adherida a este, y comprobar que se encuentre vigente. Así mismo, debe verificarse que se haya realizado y registrado la verificación diaria de la balanza analítica en el formato FOR-TC-005. Además de lo anterior, debe verificarse la fecha de expiración de los patrones, materiales de referencia y controles de calidad empleados en el ensayo con el fin de evitar el uso de materiales vencidos.

4.1.4 Manejo de la muestra.

Durante el almacenamiento y ensayo de la muestra, esta debe permanecer herméticamente cerrada, con el fin de no alterar la humedad original que contiene la muestra durante estas actividades. La identificación, manejo, transporte, almacenamiento y descarte de la muestra, deben realizarse de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-008 Procedimiento de aseguramiento de integridad de las muestras bajo servicio.

Si la muestra es líquida, mezclar hasta homogeneidad aparente mediante agitación magnética, y con la ayuda de un gotero o una pipeta tomar la cantidad necesaria de muestra, mientras se continúa con la agitación.

NOTA: Si la muestra es sólida, se debe de realizar la extracción de la grasa, siguiendo el procedimiento PROC-TC-017 "Procedimiento de ensayo Determinación de grasa por el método Soxhlet" y el procedimiento PROC-TC-170 "Procedimiento de ensayo Determinación de grasa por el método Mojonnier".

4.1.5 Medidas de seguridad.

Durante el análisis tener en cuenta que se debe seguir el procedimiento aquí descrito sin modificar u omitir ningún paso.

Tener en cuenta las instrucciones dadas en el reglamento interno de trabajo PROC-GC- 015 Reglamento Interno AOXLAB S.Á.S, capítulo IX.

4.2 INSTRUCCIONES DE ENSAYO.

4.2.1 Preparación de soluciones:

Solución Ácido acético – Cloroformo:

Comentado [A2]: Documentar la directriz establecida en el método de referencia respecto de las condiciones de iluminación para la realización del análisis

Comentado [A3]: Documentar la lista de reactivos necesarios con su especificación de pureza.

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

En un beaker adicionar 100 mL de Cloroformo 99,9% y adicionar 150 mL de ácido acético glacial, mezclar hasta homogenizar, la preparación de esta solución se debe de realizar en la campana de extracción.

Solución saturada de yoduro de potasio:

A 14.8000 g ± 0.001 g 99,5% adicionar 10 mL de agua tipo I, mezclar hasta máxima solubilización, esta solución debe permanecer en sobresaturación, de lo contrario adicionar yoduro de potasio hasta sobresaturación. La solución saturada se debe de verificar de la siguiente manera:

Adicionar 0,5 mL de solución saturada de yoduro de potasio a 30 mL de Solución de Ácido acético – Cloroformo y adicionar 2 gotas de solución de almidón soluble 1%. Si la solución se torna azul y requiere más de 1 gota de solución estándar de Tiosulfato de sodio 0,1N para la desaparición del color, se debe preparar nueva solución, esta debe mantenerse protegida de la luz directa.

Comentado [A4]: El método dice que debe realizarse a diario (cada vez que se realice el ensayo)

Comentado [A5]: Este procedimiento de preparación no concuerda en lo establecido en el método de referencia. ¿Qué es sobresaturación?

Solución estándar de Tiosulfato de sodio 0,1N:

Pesar 2,5000 g ± 0.001 g Na₂S₂O₃.5H₂O al 99,5%, llevar a 100 mL con agua tipo I.

Solución estándar de Tiosulfato de sodio 0.01N:

Medir 10 mL de la solución estándar de tiosulfato de sodio 0,1 N y llevar a 100 con agua tipo I.

Las soluciones de Tiosulfato de sodio deben de ser estandarizadas de la siguiente manera:

Pesar con precisión 0,20 – 0,23g de K₂Cr₂O₇ (previamente secado a 105°C durante 2 Horas) y disuelva en 80 mL de agua purificada que contenga 2 g de KI. Adicione con agitación constante 20 mL de HCl 1N e inmediatamente almacene en oscuridad. Tomar una alícuota de 10 mL y aforar a 100 mL con agua purificada. Titule con solución estándar de Tiosulfato de sodio 0,1N, titular hasta que el color amarillo casi haya desaparecido, adicione solución 1% de almidón, continúe la titulación hasta desaparición del color.

Nota: Los resultados de las estandarizaciones deben de ser registrados en el formato FOR-TC-092.

Solución de almidón soluble 1%: Pesar 1,0000 g ± 0,001 g de almidón soluble, adicionar suficiente agua para formar una pasta, luego adicionar 100 mL de agua hirviendo, la solución resultante se pone en calentamiento hasta ebullición durante 1 minuto con agitación constante.

Comentado [A6]: Esta instrucción no se encuentra en el método de referencia

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

4.2.2 Ensayo

El análisis se puede realizar directamente cuando la matriz es Grasas y aceites. Para el caso de margarinas se debe realizar la preparación de muestras correspondiente (Ver Anexo 1).

- Pesar $5,0000 \pm 0,05$ (g) de muestra preparada en un erlenmeyer de 250mL y registrar el peso.
- Adicionar 30 mL de Solución de Ácido acético – Cloroformo y mezclar para disolver la muestra.
- Adicionar 0,5 mL de Solución saturada de yoduro de potasio y dejar en reposo con agitación ocasional durante 1 minuto.
- Adicionar 30 mL de H₂O purificada.
- Lentamente titular con solución estándar de Tiosulfato de sodio 0,1N con agitación vigorosa hasta casi la desaparición total de la coloración amarilla.
- Adicionar 0,5 mL de solución de almidón soluble 1% y continuar la titulación agitando vigorosamente para la liberación de todo el I₂ de la capa CHCl₃, hasta la desaparición de la coloración azul.

Comentado [A7]: ¿Con qué se mide?

Comentado [A8]: ¿Cómo?

Comentado [A9]: El método de referencia establece que para esto debe emplearse una pipeta Mohr

Comentado [A10]: ¿Con qué se mide?

Nota: Si el volumen requerido en la titulación fue menor a 0,5 mL se debe repetir el análisis utilizando solución estándar de Tiosulfato de sodio 0,01N.

Realizar un blanco del análisis (el resultado debería ser menor a 0,1 mL solución estándar de tiosulfato de sodio 0,01N) y restar el volumen gastado de la titulación de la muestra.

4.3 INFORME

Los resultados se analizan de la siguiente manera:

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC-092 "Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de Índice de Peróxidos" la cual contiene la siguiente información.

Tabla 3. Tabla de información y resultados obtenidos en el análisis.

| Fecha | ID Muestra | Peso de muestra (g) | Volumen de Na ₂ S ₂ O ₃ | Normalidad de la solución de Na ₂ S ₂ O ₃ | Volumen de la solución de Na ₂ S ₂ O ₃ gastados en el blanco |
|-------|------------|---------------------|--|--|---|
| | | | | | |

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

Estos resultados son registrados en el cuadro de mando de Excel del laboratorio para análisis fisicoquímicos, SOFT-TC-074 “Cuadro de mando para el ensayo de Índice de Peróxidos en alimentos”, en la ruta de acceso Laboratorio\REGISTROS\REGISTROS RT\Cuadros de mando.

En el cuadro de mando de Excel están programados:

El Cálculo de la normalidad de las soluciones estándar de Tiosulfato de sodio se realiza de la siguiente manera:

$$N = \frac{g \text{ de } K_2Cr_2O_7 * 1000}{mL Na_2S_2O_3 * 49,032}$$

El cálculo de índice de peróxidos se realiza de la siguiente forma:

$$\frac{miliequivalentes \text{ de Oxígeno activo}}{kg \text{ de muestra}} = \frac{S * N * 1000}{g \text{ muestra}}$$

Donde:

S = Volumen de consumido de solución estándar de tiosulfato de sodio substrayendo el volumen utilizado para la valoración del blanco.

N = Normalidad de la solución estándar de tiosulfato de sodio.

Además del resultado, debe consignarse los criterios de cumplimiento, CUMPLE / NO CUMPLE basados en la normativa vigente si esta aplica.

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

4.4 CONTROL DE LA CALIDAD

El tipo, periodicidad y criterios de aceptación para los resultados obtenidos de los ensayos para el control de calidad se resumen en la tabla siguiente:

| CONTROL | PERIODICIDAD | CRITERIO |
|----------------------|-------------------------------|---|
| Duplicado por matriz | Cada que se realiza el ensayo | El coeficiente de variación obtenido debe ser menor o igual al 5% |
| Blanco | Cada que se realiza el ensayo | El consumo de Tiosulfato de sodio 0.01 N, debe ser menor de 0.1 mL. |

El seguimiento de los resultados obtenidos del control de calidad listado en la tabla control debe realizarse y analizarse mediante el uso de cartas control, de acuerdo con los lineamientos establecidos en el procedimiento PROC-TC-077.

5 RESPONSABILIDADES.

5.1 Director técnico.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Revisar y aprobar los informes técnicos una vez han sido revisados por el Líder de Laboratorio.
- Asesorar y orientar los analistas en la resolución de dudas e inconvenientes surgidos durante el desarrollo de los ensayos.
- Realizar o revisar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método y autorizar las indicaciones a seguir.
- Establecer los casos en los cuales se realiza la retención de muestras.

5.2 Director de Calidad.

- Asegurar la aplicación del presente documento y tomar decisiones en casos especiales no contemplados.
- Realizar y registrar las investigaciones pertinentes a los trabajos no conformes derivados de la ejecución del método.
- Revisar los resultados obtenidos del aseguramiento de calidad del método.
- Archivar los registros técnicos relacionados con los ensayos.

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

5.3 Líder de Laboratorio.

- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
- Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis (Cuadros de mando, formato de solicitud de servicio y salvaguardia de muestras, formatos de datos primarios) antes de enviar el informe final al director técnico.
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al director técnico las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder de calidad y al director técnico.
- Informar los casos en los que se deben de retener las muestras.
- Supervisar el cumplimiento de las actividades de aseguramiento de calidad.

5.4 Analista.

- Seguir todas las instrucciones establecidas en este procedimiento y en el reglamento del laboratorio
- Ingresar y entregar todos los resultados en los tiempos pactados.
- Entregar formatos de datos primarios completamente diligenciados al líder del laboratorio.
- Realizar revisión de datos primarios y cálculos realizados en los cuadros de mandos, informar al líder del laboratorio en caso de observar alguna desviación en los resultados obtenidos teniendo en cuenta las cartas control.
- Registrar los resultados de los ensayos de control de calidad y hacer el análisis de tendencias de estos.
- Realizar el análisis de los resultados de control de calidad de acuerdo con el procedimiento PROC-TC-077
- Realizar la revisión de resultados teniendo en cuenta la normativa vigente si esta aplica.
- Informar al líder de laboratorio las desviaciones que se den durante el desarrollo del método.
- Reportar y registrar los trabajos no conformes derivados del análisis al líder del laboratorio.
- Informar cualquier incidente que suceda durante la realización del método.
- Revisar que los equipos usados en el desarrollo del método tengan mantenimiento, calibración y/o verificación vigente, de acuerdo con el programa de mantenimiento y calibración.

| | | |
|---|---|--|
|  | Procedimiento de ensayo Determinación de Índice de Peróxidos AOXLAB S.A.S | Identificación: PROC-TC-071 |
| | | Revisión: 1 |
| | | Inicio de vigencia: 2020/04/01 |

6 FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-074 “Cuadro de mando para el ensayo de Índice de Peróxidos en alimentos”

FOR-TC- 092 “Formato para el registro de datos primarios para el ensayo de Índice de Peróxidos”.

7 ANEXOS

ANEXO 1: PREPARACIÓN DE MUESTRAS

Preparación de muestras para margarinas:

- Derretir la muestra por calentamiento con agitación constante en una placa de calentamiento a baja temperatura, o caliente en un horno de aire entre 60°C y 70°C (evitando un calentamiento excesivo o larga exposición).
- Cuando la muestra esté completamente derretida, mantener en un lugar caliente, hasta que la fase acuosa y la mayoría de los sólidos se hayan sedimentado.
- Decante el aceite en un beaker limpio y filtre a través de Whatman No.4 o papel equivalente.

Nota: No recalentar a menos que sea necesario para obtener un filtrado limpio.

- Proceder según 4.2.2

Comentado [A11]: Documentar la directriz de evitar el calentamiento prolongado y que la muestra debe alcanzar una temperatura inferior a 40°C.