

Metodología analítica para la determinación del contenido de cloro total en aceite de palma crudo mediante análisis elemental (oxidativo y microcoulombimetría)

Analytical methodology for the determination of total chlorine content in crude palm oil by elemental analysis (oxidative and microcoulometry)

CITACIÓN: Zárate, J. M., Rodríguez, N. J., Baquero, B. A., & García-Núñez, J. A. (2023). Metodología analítica para la determinación del contenido de cloro total en aceite de palma crudo mediante análisis elemental (oxidativo y microcoulombimetría). *Palmas*, 44(3), 30-42.

PALABRAS CLAVE: cloro total, aceite de palma crudo, 3-MCPD, microcoulombimetría, análisis elemental.

KEYWORDS: total chlorine, palm oil, Crude, 3-MCPD, microcoulometry, Analysis Elemental.

JULIANA MARITZA ZÁRATE JIMÉNEZ
Programa de Procesamiento y Valor Agregado - Área de Calidad de la Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma
Autor para correspondencia:
jmzarate@cenipalma.org

NÉSTOR JAVIER RODRÍGUEZ PALACIO
Laboratorio Servicios Geológicos Integrados - SGI S.A.S.

BRAYAN ALONSO BAQUERO GIRALDO
Laboratorio Servicios Geológicos Integrados - SGI S.A.S.

JESÚS ALBERTO GARCÍA NÚÑEZ
Programa de Procesamiento y Valor Agregado - Área de Calidad de la Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite, Cenipalma

Resumen

Los mecanismos analíticos para la determinación del contenido total de cloro en aceites vegetales para consumo humano no han sido estudiados con robustez; sin embargo, siguen atrayendo el interés en la comunidad química analítica debido a las consecuencias que genera el cloro como precursor de contaminante en los aceites durante su refinación al llegar a la síntesis

involuntaria de compuestos, como 2-monocloropropano-1,3-diol (2-MCPD) y 3-monocloropropano-1,2-diol (3-MCPD), que afectan en gran medida la salud humana y que están sujetos a estrictos controles de calidad y seguridad alimentaria. Por lo tanto, los métodos analíticos destinados a su cuantificación rápida, sensible y precisa son de gran importancia para la industria de los aceites, que tiene mercados en el segmento de los alimentos, los cosméticos y los fármacos.

En este trabajo se describe una metodología analítica desarrollada para la cuantificación de cloro total por medio de combustión oxidativa y microcoulombimetría, mediante la implementación de un analizador elemental multi EA 5000. En el desarrollo de la metodología se logró un R^2 de 0,9999, un LMC (límite de cuantificación del método) para Cl de 0,1 μg y LMD (límite de detección del método) de 0,02 μg . En este estudio se evaluaron 32 muestras y se determinó, para la estandarización de la metodología, la precisión, la exactitud y la reproducibilidad del método. Los resultados se compararon con los obtenidos por la empresa Analytik Jena en Alemania, en una validación cruzada, en la que se obtuvo un porcentaje de desviación estándar relativa (%RSD) inferiores del 10 %.

Abstract

Analytical mechanisms for the determination of total chlorine content in vegetable oils for human consumption have not been robustly studied, but continue to attract interest in the analytical chemistry community because of the consequences of chlorine as a contaminant precursor in oils during refining, by leading to the unintentional synthesis of compounds such as 2-monochloropropane-1,3-diol (2-MCPD) and 3-monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD) that greatly affect human health and are subject to strict quality and food safety controls. Therefore, analytical methods for its rapid, sensitive and accurate quantification are of great importance for the oil industry, which has markets in the food, cosmetics and pharmaceutical industries. This work describes an analytical methodology developed for the quantification of total chlorine by means of oxidative combustion and microcoulombimetry, implementing a multi EA 5000 elemental analyzer. In the development of the methodology, an R^2 of 0.9999, a LCM (method limit of quantification) for Cl of 0.1 μg and LDM (method limit of detection) of 0.02 μg were achieved. In this study, 32 samples were evaluated and the precision, accuracy and reproducibility of the method were determined for the standardization of the methodology, the results were compared with those obtained by the company Analytik Jena in Germany, in a cross validation, obtaining a percentage of relative standard deviation (%RSD) lower than 10%.

1. Introducción

Los aceites vegetales para consumo humano, como el aceite de palma, contienen diferentes componentes importantes que están relacionados con la calidad del producto; dentro de estos se encuentran los cloropropanoles, los cuales son sustancias que se sintetizan de manera involuntaria durante las operaciones de producción del alimento. El grupo de cloropropanoles [e. g., 2-MCPD, 3-MCPD, 1,3-DCP (dicloropropanol)] actualmente está clasificado por la Agencia Internacional de Investigación del Cáncer (IARC, por sus siglas en inglés) como probablemente

cancerígeno para los humanos (2A) y también genotóxico (Contaminants in the Food Chain [CONTAM], 2020). Así mismo, el 3-MCPD libre (3-monocloro-1,2-propanodiol) se clasificó como posiblemente cancerígeno para los humanos (2B), lo que significa que el IARC tiene pruebas suficientes de que puede causar cáncer en los humanos, pero aún no son concluyentes (Andres *et al.*, 2013; CONTAM, 2020; Gao *et al.*, 2020). Las grasas y los aceites están constituidos por glicéridos que, a altas temperaturas, reaccionan con precursores de contaminantes como el cloro, ya sea orgánico e inorgánico, por medio de radicales libres y sustitución nucleofílica SN_2 , lo que

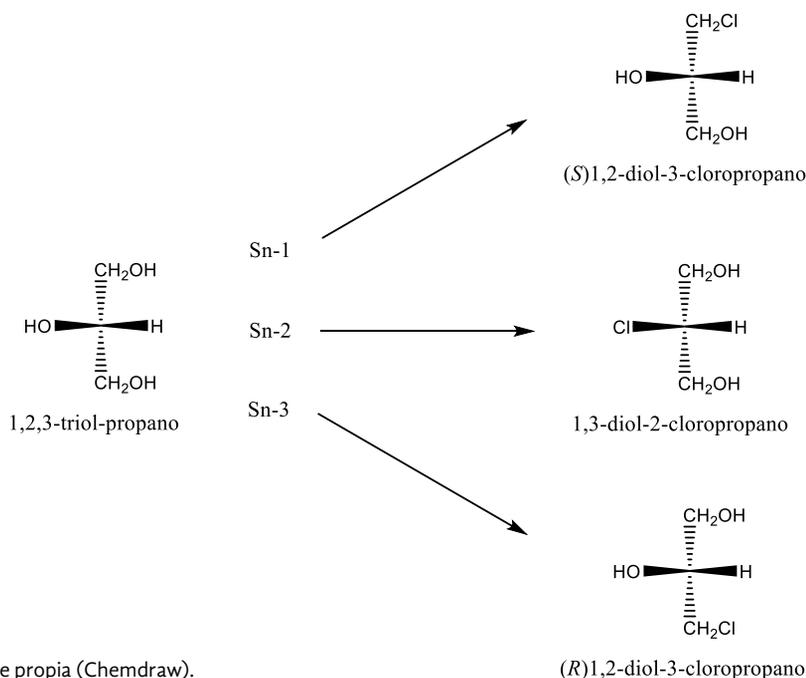
produce ésteres de ácidos grasos (Li *et al.*, 2016; Syed *et al.*, 2023). Tres tipos de cloropropanoles se producen con uno o dos átomos de cloro en la posición 1 o 2 en el glicerol; es decir, con prefijo de mono- o di- (Gesteiro *et al.*, 2020; Li *et al.*, 2016; Syed *et al.*, 2023), como se muestra en la Figura 1.

Por lo tanto, la determinación del contenido de cloro en los aceites vegetales para consumo humano es fundamental con el fin de conservar los estándares de calidad. Por esta razón, la Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha venido emitiendo en los últimos años los valores permisibles para cloro menor de 2,0 mg/kg y 3-MCPD menor de 2,5 mg/kg. Existen una variedad de métodos para la cuantificación de cloruros desarrollados por la Asociación de Químicos Analíticos Oficiales (AOAC, por sus siglas en inglés), que involucran gravimetría, potenciometría y volumetría. Estos métodos se utilizan en matrices de aguas, suelos y tejido vegetal, y suelen realizarse por medio de descomposición del analito o extracción de sales. Son precisos, pero tienen desventajas en cuanto al costo de los instrumentos y al tiempo de respuesta. Además, la Sociedad Estadounidense para Pruebas y Materiales (ASTM, por sus siglas en inglés) ha publicado varios procedimientos para la determinación de cloruro en crudo de petróleo, dentro de los cuales se destacan ASTM 4929 (2008), ASTM 5808 (2008) y D7359 (2023).

Las normas ASTM D4929-99, D5808 y D7359-14 son métodos utilizados en la industria para determinar propiedades específicas de diferentes materiales. El contenido de la D4929-99, prueba de método B, y D5808-95 se refiere a la cuantificación de cloro por descomposición térmica y detección por ion selectivo, y es aplicable para muestras de aceite mineral, lubricantes, sintéticos, diésel y gasolina. La ASTM D7359-14, por su parte, utiliza una combustión pirohidrolítica seguida de una detección por cromatografía iónica para cuantificar cloro y otros halógenos en diferentes matrices, que incluye aceite vegetal; es un método avanzado y tiene mayor precisión y sensibilidad en comparación con los otros dos, por lo que puede ser la opción preferida. Sin embargo, es importante ver las necesidades y requisitos específicos para la selección del método como: desarrollo instrumental, tiempo, manipulación de matriz, costos y posibilidad de automatización. De acuerdo con lo anterior, se optó por el análisis elemental como una alternativa factible para la cuantificación de cloro total en aceite de palma crudo bajo la ASTM D4929-99 (prueba de método B); la decisión también se basó en la comparación de normativas, alcance de cada metodología evaluada y campo de aplicación.

A partir de lo descrito en el método seleccionado fue posible modificarlo para la detección y análisis

Figura 1. Sustitución nucleofílica Propano-1,2,3-triol



Fuente propia (Chemdraw).

cuantitativo de cloro total en aceite de palma mediante el uso del analizador Analytik Jena multi EA 5000.

En el multi EA 5000, los compuestos organoclorados se oxidan por medio de una combustión hasta convertirlos en haluro de hidrógeno, dióxido de carbono y agua. El flujo de gas de medición es conducido a través de una línea de transferencia al módulo de detección; allí, los haluros de hidrógeno (HCl) se determinan por microcoulombimetría. En un primer paso, el cloruro de hidrógeno (HCl) se disuelve en el electrolito y se disocia en iones de hidrógeno y de cloruro (H^+ , Cl^-). En la celda de medición, los iones de cloruro reaccionan con los iones de plata generados electrolíticamente para formar cloruro de plata. Para lograr una reacción al AgCl lo más completa posible se realiza la valoración en una celda electrolítica de ácido acético débil (Analytikjena, 2021).

Para materializar la aplicabilidad del método se evaluaron parámetros, como linealidad de la metodología, límite de detención (LDM), límite de cuantificación (LCM), precisión y exactitud. Adicionalmente se realizaron ensayos cruzados con un laboratorio externo y se estimó la incertidumbre en las medidas y resultados, para lo cual se aplicaron criterios técnicos uniformes y consistentes.

2. Metodología

2.1. Materiales

Se utilizó una centrífuga con capacidad máxima de 13.500 rpm (marca Hermle Z300, Alemania), horno de

convección simple (marca Binder ED 115, Alemania), sistema de agua ultrapura Milli-Q (marca Millipore Q Direct-Q8, Alemania) para todas las soluciones.

2.2. Reactivos

o-xileno (99 % de pureza), acetato de sodio anhidro (99 % de pureza), sulfato de sodio, los cuales se adquirieron con la empresa PanReac AppliChem; p-clorofenol (99 % de pureza) de la firma Sigma-Aldrich y ácido sulfúrico (98 % de pureza) y ácido acético glacial del fabricante Merck. Todos los reactivos químicos son de grado analítico. Los gases utilizados, oxígeno (99,9 % de pureza) y argón (99,9 % de pureza), se obtuvieron con el proveedor Messer.

2.3. Equipo de detección

El equipo analizador elemental utilizado fue Analytik Jena multi EA 5000 (Figura 2). Su funcionamiento se describe por módulos en la Figura 3.

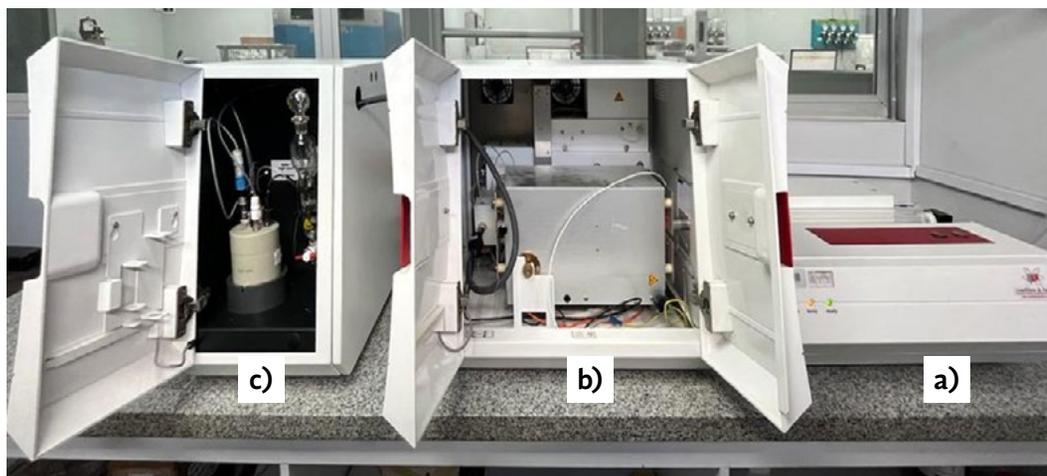
2.4. Condiciones operacionales

Las condiciones de operación se determinaron de acuerdo con las condiciones sugeridas en la nota de aplicación por Analytikjena (2021), con algunas modificaciones como puede observarse en la Tabla 1. Se ajustó el tiempo de purga, la temperatura de celda y la deriva máxima con el fin de mejorar la sensibilidad del método y obtener resultados con mayor veracidad.

Figura 2.
Analizador elemental multi EA 5000 (vista exterior)



Figura 3. Analizador elemental multi EA 5000 (vista interior)



a) Automatic Boat Drive (ABD). El proceso inicia desde el momento en el que se introduce la muestra en el módulo ABD, el cual ingresa la muestra de aceite en el horno por medio de una barra de cuarzo. Según la concentración de la muestra, realiza varios ciclos hasta finalizar con la combustión.

b) Módulo de combustión. Cuenta con un horno de combustión, que opera en forma horizontal, donde la muestra ingresada mediante el transportador Automatic Boat Drive sufre una pirólisis en un ambiente enriquecido con argón. A continuación, se lleva a cabo un proceso de oxidación con un flujo de oxígeno. Posteriormente, los productos generados de esta operación (haluros de hidrógeno, dióxido de carbono y agua) son llevados por una línea de transferencia hacia el módulo de detección.

c) Módulo de detección. Consta de una entrada para el ingreso de la muestra en forma gaseosa a través de una línea de transferencia, donde se conecta a un tubo que contiene ácido sulfúrico (H_2SO_4), cuya función es remover la humedad restante en el analito. En seguida, la corriente se introduce a la celda (*high sens*), compuesta por un electrodo de sensor (electrodo de plata, electrodo de platino, tubo de introducción de gas y un extractor de succión) (Figura 4). Después se inyecta a la celda una solución electrolítica (ácido acético glacial + acetato de sodio), que permite el paso de los iones (cloruro) entre el electrodo y el analito. La cuantificación de cloro se realiza conforme a la ley de Faraday, a partir de la cantidad de carga consumida para la generación de iones plata, procedimiento que se denomina microcoulombimetría.

Figura 4. Módulo de detección - celda *high sens*



Tabla 1. Condiciones operacionales del equipo Analytik Jena multi EA 5000.

Condiciones operacionales			
Parámetro	Valor	Rango	Predefinido
Temperatura del horno	1050	0 a 100 ° C	1050
Combustión	60	0 a 900 s	60
Argón	100	50 a 200 mL / min	100
Oxígeno	100	50 a 200 mL / min	100
Tiempo de purga	20	0 a 600 s	0
Máximo tiempo de integración	1200	60 a 1200 s	1200
Valor umbral	300	0 a 1000 cuentas	300
Deriva máxima	100	1 a 1000 cuenta / min	50
Temperatura de celda	22	18 a 35 ° C	23
Retraso valoración	1	1 a 20° 30 s	1
Umbral	25	0 a 250 cuenta	25

*cuenta: medición del potencial de celda antes de la combustión de la muestra.

2.5. Preparación de soluciones

Solución electrolítica. Se prepararon 1.000 mL de solución electrolítica, en la que se disolvieron 2,7 g de acetato de sodio anhidro en 200 mL de agua desionizada y 800 mL de ácido acético glacial.

Solución estándar para la curva de calibración.

La curva de calibración se elaboró a partir de una solución constante de p-clorofenol a una concentración de 57,80 mg Cl/kg aceite de palma crudo, implementando cinco puntos de calibración con volúmenes de 2 uL, 5 uL, 10 uL, 20 uL y 50 uL equivalentes a 0,10 - 0,25 - 0,5 - 1 y 2,5 ug de cloro. Las concentraciones para estas soluciones se obtienen de la siguiente manera (Ecuación 1):

(Ecuación 1)

$$18,13 \text{ mg ClC}_6\text{H}_4\text{OH} \cdot \frac{1 \text{ mol ClC}_6\text{H}_4\text{OH}}{128,56 \text{ g ClC}_6\text{H}_4\text{OH}} \cdot \frac{1 \text{ mol Cl}}{1 \text{ mol ClC}_6\text{H}_4\text{OH}} \cdot \frac{35,453 \text{ g Cl}}{1 \text{ mol Cl}} = 5,0 \text{ mg Cl}$$

Teniendo en cuenta que la curva de calibración se construyó en masa es necesario realizar la conversión del estándar de 5,0 mg cloro a $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ utilizando el volumen de 0,1 L de o-xileno. Con esto se obtiene la concentración de 0,05 $\mu\text{g Cl}/\mu\text{L}$ (Ecuación 3).

$$\text{(Ecuación 2)} \quad \frac{5 \text{ mg Cl}}{0,1 \text{ L}} = \frac{50 \text{ mg Cl}}{\text{L}} = \frac{50 \mu\text{g Cl}}{\text{mL}}$$

$$\text{(Ecuación 3)} \quad \frac{50 \mu\text{g Cl}}{\text{mL}} \cdot \frac{1 \text{ mL}}{1000 \mu\text{L}} = \frac{0,05 \mu\text{g Cl}}{\mu\text{L}}$$

A partir de la solución de 0,05 $\mu\text{g Cl}/\mu\text{L}$ se preparan los cinco puntos de la curva (Tabla 2).

Tabla 2. Puntos de la curva de calibración.

Volumen estándar 0,05 $\mu\text{g}/\mu\text{L}$ (μL)	Masa cloro (μg)
2	0,1
5	0,25
10	0,50
20	1,00
50	2,50

2.6. Obtención de las muestras

Las muestras de aceite de palma crudo utilizadas en la estandarización fueron tomadas en la planta de beneficio Entrepalmas S.A.S. Los muestreos se reali-

zaron en diferentes épocas del año para asegurar una variedad en la concentración del analito.

2.7. Preparación de la muestra

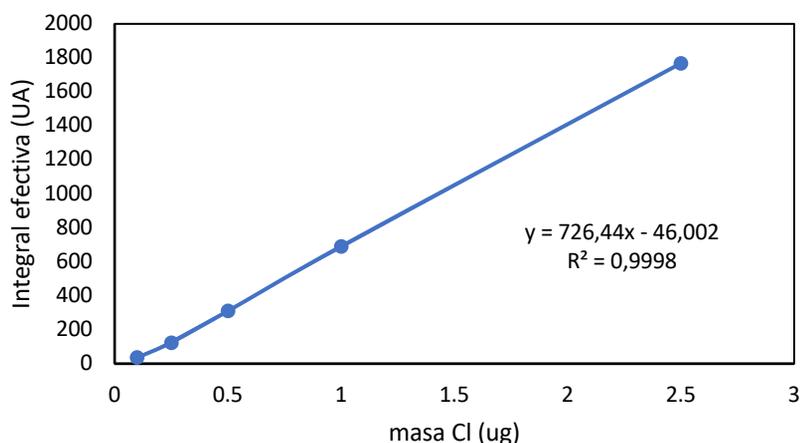
2.7.1. Determinación directa

Con la finalidad de establecer la importancia de la homogeneidad de la muestra en la determinación, se realizaron réplicas con una masa de 100 ± 10 mg de muestra sólida depositadas directamente en el módulo ABD sin ningún tratamiento previo. Con este proceso se dificultó la toma de alícuotas homogéneas, ya que aumentó la desviación entre las diferentes mediciones. Teniendo en cuenta esto, se procedió con la evaluación de diferentes pretratamientos de muestra con el fin de mejorar la homogeneidad y la repetibilidad en la determinación.

2.7.2 Determinación con pretratamiento

Se calentó la muestra sólida a una temperatura de 60°C por 1 hora; una vez fundida la muestra, se transfirió a un tubo de centrífuga de 50 mL de capacidad y se centrifugó durante 5 minutos a 1.100 rpm, para eliminar impurezas. A continuación, se dispuso la muestra en un recipiente de vidrio y se dejó en agitación constante entre 500 y 900 rpm, a una temperatura de 60°C , durante 2 minutos. Finalmente, se pesó una cantidad de muestra fundida entre 40-75 mg (homogeneizada), directamente en una barquilla de cuarzo para posteriormente ingresarla en el módulo ABD al horno, en donde ocurrió el proceso de pirólisis y de determinación final de cloro total por microcoulombimetría.

Figura 5. Curva de calibración de cloro



3. Resultados y discusión

3.1. Calibración y linealidad

La curva de calibración se realizó a partir de la inyección directa del estándar primario, según se estableció en la Tabla 1. Cada punto fue analizado por triplicado y los resultados fueron: un coeficiente de determinación de 0,99991, una calidad de réplica de 0,99981, una desviación estándar del método de 0,01332 y un LMC de 0,1 ug. Al comparar con Abdul Hammid y sus colaboradores que trabajaron con el equipo NSX2100H, del fabricante Nittoseiko Analytech, se detectó que existe una diferencia en soluciones estándar y condiciones de equipo aplicadas, puesto que obtuvieron una relación lineal similar de R^2 (0,999) y %RSD inferior de 6,77 con la implementación de una solución estándar 2,4-dinitroclorobenceno/tolueno, para determinar cloro en matrices de aceite crudo y comercial (Abdul Hammid, 2022).

Al mismo tiempo, cabe señalar que en la Figura 5 se ve claramente una tendencia lineal en las lecturas de la integral efectiva (UA), sin dispersión significativa. El cumplimiento de la curva de calibración se evaluó mediante el cálculo de la pendiente, el intercepto y el coeficiente de correlación. Los resultados obtenidos se recalcularon por interpolación con la ecuación de la recta $Y = mx + b$. Posteriormente, se calcularon los porcentajes de recuperación y los valores obtenidos oscilaron entre 88,59 % y 106,20 %. Además, los resultados de %RSD fueron inferiores al 10 % (Tabla 3). Estos recuperados se encuentran dentro de los límites establecidos por la ISO 17025:2017 (Incontec, 2017).

Tabla 3. Resultados de la curva de calibración.

Concentración	I-neto*	Concentración interpolada	% Recuperación
0,10	36,00	0,11	88,59
0,25	125,00	0,24	106,20
0,50	310,00	0,49	102,03
1,00	691,00	1,02	98,57
2,50	1.768,00	2,50	100,12
Pendiente	726,44		
Intercepto	-46,00		
Coefficiente de correlación r	0,99		
LMC	0,100 µg		
LMD	0,021 µg		

* I-neto: integración que contabiliza la corriente aplicada por el tiempo.

3.2. Evaluación de la precisión y exactitud

En este apartado se evaluaron la precisión y la exactitud del sistema instrumental, y se analizaron una serie de patrones, que estuvieron dentro de los rangos de linealidad del método desarrollado experimentalmente. El análisis se efectuó cuatro veces para cada solución estándar, lo que significó un total de 16 corridas por un mismo analista, y las lecturas fueron tomadas con la implementación del mismo equipo.

El estudio de precisión se realizó bajo las mismas condiciones de ensayo (Tabla 1); por lo tanto, el % Recuperación osciló entre 90,96 hasta 114,26, el cual fue calculado en función de la masa interpolada en la curva de calibración para los estándares de 0,1 – 0,5 – 1,0 y 2,5 µg de cloro. Adicionalmente, el %RSD se encuentra entre 3,65 y 9,76 (Tabla 4). Los resultados obtenidos cumplen los criterios de calidad establecidos por diferentes normativas para el análisis de aguas, crudo y otras matrices como *Standard Methods*, EPA, ASTM e ISO, lo que demuestra la conformidad en las directrices para el análisis de recuperación y coincide con los requisitos del criterio de aceptación menor al 20 % (ASTM 4929, 2008; Guadalupe & Reyes-, 2018; Incontec, 2017). Por este motivo, el laboratorio opta por incluir este valor como criterio interno para la

evaluación de repetibilidad y reproducibilidad del método analítico desarrollado. En relación con el estudio de Abdul, este demostró un %R que va de 84 % al 96 % para el nivel de precisión del método, el cual trabajaron con el equipo NSX2100H, del fabricante Nittoseiko Analytech (Abdul Hammid, 2022).

Con los resultados obtenidos en la determinación de los estándares se procede a realizar la prueba estadística ANOVA (análisis de varianza de dos factores con varias muestras con grupo), con la cual se determinan los niveles de precisión intermedia. En la Tabla 5 se especifica que el valor de F es menor al crítico en columnas e interacción, lo que demuestra que no hay diferencias estadísticamente significativas en la determinación de cloro total en diferentes días de análisis.

3.3. Comparación de laboratorios

Este análisis tiene como objetivo determinar el grado de comparabilidad de los datos generados por un laboratorio externo (Alemania), donde se empleó la metodología ASTM D7359 (modificado). En la tabla 6 se presenta la obtención de desviaciones estándar inferiores a 0,53 y cercanas a 0,03, respectivamente. En cuanto a la exactitud, la prueba proporciona sesgos inferiores al 20 % en RSD. Se

Tabla 4. Estándares de control.

Nombre de análisis	CI resultado (µg)	Masa teórica (µg)	% Recuperación	Promedio	Desviación estándar	%RSD*
0,10 µg	0,11	0,10	114,26			
0,10 µg	0,09	0,10	91,86			
0,10 µg	0,10	0,10	96,02	0,10	0,01	9,76
0,10 µg	0,10	0,10	98,67			
0,50 µg	0,49	0,50	97,89			
0,50 µg	0,48	0,50	96,82			
0,50 µg	0,46	0,50	91,09	0,47	0,02	3,65
0,50 µg	0,46	0,50	91,82			
1,00 µg	0,78	1,00	78,18			
1,00 µg	0,91	1,00	91,38			
1,00 µg	0,91	1,00	90,96	0,88	0,07	7,42
1,00 µg	0,91	1,00	91,38			
2,50 µg	2,53	2,50	101,31			
2,50 µg	2,34	2,50	93,72			
2,50 µg	2,38	2,50	95,04	2,47	0,14	5,48
2,50 µg	2,63	2,50	105,25			

* Desviación estándar residual.

Tabla 5. Análisis de varianza de precisión intermedia.

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Muestra	13,05025	3	4,350083333	600,0114943	9,41594E-10	4,066180551
Columnas	0,003025	1	0,003025	0,417241379	0,536401228	5,317655072
Interacción	0,006725	3	0,002241667	0,309195402	0,81835055	4,066180551
Dentro del grupo	0,058	8	0,00725			
Total	13,118	15				

demonstró la aprobación del método con una alta precisión y exactitud. Adicionalmente, se evidencia que solo una muestra tiene un porcentaje de error relativamente alto, lo que puede deberse a la variabilidad en la matriz oleosa y al tiempo trans-

currido en que esta muestra fue analizada en Alemania y en Colombia. Es bien sabido que, además de la exposición a las perturbaciones ambientales, la descomposición de las muestras puede afectar la calidad del analito.

Tabla 6. Comparación con Analytik Jena (Alemania).

Código interno	Cl_Resultado (mg/kg)	Promedio (mg/kg)	Desviación estándar	%RSD*	Alemania (mg/kg)	% Error
1	11,87	11,85	0,03	0,24	9,40	26,02
1	11,83					
2	3,31	3,02	0,42	13,88	3,00	0,53
2	2,72					
3	5,15	5,53	0,53	9,61	5,50	0,46
3	5,90					
4	4,14	4,22	0,11	2,51	3,70	13,96
4	4,29					
5	6,48	6,26	0,32	5,09	6,90	9,35
5	6,03					

*Desviación estándar residual.

3.4. Reproducibilidad en muestras

Con el fin de incrementar la repetibilidad y la precisión en el método microvolumétrico, objeto de la estandarización, se prepararon y analizaron 32 muestras en el transcurso de la investigación, y se realizaron modificaciones en el pretratamiento de las muestras. Los resultados relacionados en la Tabla 7 corresponden a pretratamientos en los que se modificaron las condiciones, como el centrifugado de muestra, la temperatura de fundición, agitación y toma de la alícuota. En esta se evidencia un porcentaje de RSD (desviación porcentual relativa) entre el 15,77 y el 84,96 %, lo que indica que la metodología no se encuentra bajo control analítico, pero se logra evidenciar que, en la medida en la que se estandarizó el proceso de homogeneización, los resultados mejoraron al igual que la estabilidad en la lectura de cloro total por el equipo multi EA 5000.

Los resultados presentados en la Tabla 8 corresponden al análisis de 24 muestras con el pretratamiento estandarizado mencionado en la sección relacionada con la preparación de la muestra. En este se observa una mejora significativa en la repetibilidad y reproducibilidad del método, con el que se obtienen resultados de %RSD entre 1,88 y 12,67 %. Con

esto se puede establecer que la homogeneización de la muestra es un proceso crítico en la determinación del analito; no obstante, al realizar el procedimiento según se describe en este texto, los niveles de exactitud mejoran.

4. Conclusiones

La determinación de cloro es una herramienta valiosa para el control de la calidad del aceite de palma crudo, dado su potencial para actuar como precursor de contaminantes organoclorados como los cloropropanoles durante la refinación del aceite. Para desarrollar y estandarizar el método anterior, se validaron las condiciones analíticas establecidas en la literatura, se identificó el analito y se estimó la incertidumbre del método. Esto dio como resultado una elevada confiabilidad y sensibilidad en el procedimiento.

Se consideraron variables como el pretratamiento de las muestras, el flujo de gas, la estabilidad de la señal a lo largo del tiempo y la concentración de la muestra, con la finalidad de determinar condiciones de trabajo favorables en la detección de cloro total.

El porcentaje de recuperación en las mediciones realizadas durante la investigación estuvieron com-

Tabla 7. Reproducibilidad en muestras con diferentes pretratamientos.

Código interno	Cl(mg/kg)	Desviación estándar	%RSD
M22-06769	23,21	19,72	84,96
M22-06769	48,6	30,24	62,22
M22-06775	15,09	11,17	74,02
M22.07095	2,14	0,93	43,32
M22-07095	2,05	0,75	36,45
M22-07097	4,42	1,09	24,6
M22-07106	3,11	0,49	15,77
M22-07117	1,9	0,32	16,9

Tabla 8. Muestras con pretratamiento estandarizado.

Código interno	Cl(mg/kg)	Desviación estándar	%RSD
M22-06610	10,51	0,25	2,36
M22-07095	1,78	0,13	7,30
M22-07099	7,89	0,38	4,85
M22-07101	5,31	0,42	7,99
M22-07102	8,3	0,29	3,50
M22-07103	6,88	0,28	4,02
M22-07104	2,14	0,17	7,90
M22-07105	4,82	0,46	9,62
M22-07106	2,04	0,07	3,38
M22-07109	1,54	0,03	1,88
M22-07110	2,26	0,26	11,49
M22-07111	4,71	0,21	4,38
M22-07111	1,02	0,03	2,94
M22-07112	0,86	0,02	2,68
M22-07114	1,99	0,1	4,92
M22-07115	1,45	0,13	8,67
M22-07116	1,73	0,22	12,67
M22-07119	1,63	0,06	3,56
M22-07121	2,04	0,07	3,33
M22-07122	1,31	0,1	7,80
M22-07123	0,82	0,05	6,48
M22-07126	1,28	0,05	4,13
M22-07129	1,99	0,05	2,36
M22-07130	2,12	0,22	10,57

prendidas entre el 88 y el 106 %, lo que indica que el método estandarizado es exacto y preciso; por lo tanto, se considera adecuado para las determinaciones de cloro en aceite de palma.

Se declara que la metodología desarrollada en laboratorio SGI S.A.S. es apta para la determinación de cloro total en aceite de palma crudo, en donde se cumplieron los criterios estadísticos de precisión y exactitud establecidos por las diferentes entidades normativas para métodos de laboratorio de ensayo.

5. Agradecimientos

Los autores agradecen al Fondo de Fomento Palmero (FFP), administrado por Fedepalma, a la Corporación Centro de Investigación en Palma de Aceite (Cenipalma) y Entrepalmas S.A.S., por las muestras de aceite utilizadas en el estudio, así como al laboratorio Servicios Geológicos Integrados (SGI S.A.S.) por las instalaciones y equipo utilizados para la detección de cloro total.

Referencias bibliográficas

- Abdul Hammid, A. N. (2022). Method for the Determination of Total Chloride Content in Edible Oils. *Journal of Oil Palm Research*. <https://doi.org/10.21894/jopr.2022.0016>
- Analytik Jena. (2021). Manual de instrucciones multi EA 5100 Analizador de elementos C / N / S / Cl. *Analytik Jena GmbH*, 190. www.analytik-jena.com
- Andres, S., Appel, K. E., & Lampen, A. (2013). Toxicology, occurrence and risk characterisation of the chloropropanols in food: 2-Monochloro-1,3-propanediol, 1,3-dichloro-2-propanol and 2,3-dichloro-1-propanol. *Food and Chemical Toxicology*, 58, 467–478. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.05.024>
- Apha, Awwa, & Wef. (2017). 4500-Cl- B. Argentometric Method. *Standard Methods for the Examination of Water & Wastewater. Online Edition*. 4, 1–2.
- ASTM 2522. (1995). Standard Test Method for Chlorine Content of Polybutenes Used for Electrical. *Astm*, 10, 11–13.
- ASTM 4929. (2008). Standard Test Methods for Determination of Organic Chloride Content in Crude Oil. *Manual on Hydrocarbon Analysis, 6th Edition*, 11, 760–766. <https://doi.org/10.1520/mnl10952m>
- ASTM 5194. (2008). Standard Test Method for Trace Chloride in Liquid Aromatic Hydrocarbons. *Manual on Hydrocarbon Analysis, 6th Edition*, 96, 821–823. <https://doi.org/10.1520/mnl10963m>
- ASTM 5808. (2008). Standard Test Method for Determining Organic Chloride in Aromatic Hydrocarbons and Related Chemicals by Microcoulometry. *Manual on Hydrocarbon Analysis, 6th Edition*, 11, 977–977–4. <https://doi.org/10.1520/mnl10992m>
- ASTM 5812. (2002). *Standard Test Method for Determination of Organochlorine Pesticides in Water by Capillary Column Gas Chromatography*. 11.

- ASTM D7359-23. (2023). Standard Test Method for Total Fluorine, Chlorine and Sulfur in Aromatic Hydrocarbons and Their Mixtures by Oxidative Pyrohydrolytic Combustion followed by Ion Chromatography Detection (Combustion Ion Chromatography-CIC).
- Contaminants in the Food Chain. (2016). Risks for human health related to the presence of 3- and 2- monochloropropanediol (MCPD), and their fatty acid esters, and glycidyl fatty acid esters in food. *Efsa Journal*, 14(5).
- Gao, B., Jin, M., Zheng, W., Zhang, Y., & Yu, L. L. (2020). Current progresses on monochloropropane diol esters in 2018-2019 and their future research trends. *Journal of agricultural and food chemistry*, 68(46), 12984-12992. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c00387>
- Gesteiro, E., Guijarro, L., Francisco, J. S., Troncoso, A., Venanci, L., Jimeno, V., Quilez, J., & Anad, A. (2020). *Palm Oil on the Edge*. 1–36.
- Guadalupe, J., & Reyes, M. L. (2018). Modification of the mohr volumetric technique to quantify sodium in fresh cheese. *Unidad Académica Multidisciplinaria Zona Huasteca de La Universidad Autónoma de San Luis Potosí*, 5(16), 1–4.
- Icontec. (2017). NTC-ISO/IEC 17025. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración (Instituto Colombiano de Normas Técnicas y Calibración).
- Li, C., Zhou, Y., Zhu, J., Wang, S., Nie, S., & Xie, M. (2016). Formation of 3-chloropropane-1,2-diol esters in model systems simulating thermal processing of edible oil. *LWT - Food Science and Technology*, 69, 586–592. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.02.012>
- Syed, S., Basirun, W., Elgharbawy, A., Hayyan, M., Abdulmonem, W., Aljohani, A., & Hayyan, A. (2023). 3-Monochloropropane-1,2-diol (3-MCPD): a review on properties, occurrence, mechanism of formation, toxicity, analytical approach and mitigation strategy. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 3592–3615. <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01883-y>
- Tian, Y., Zhang, P., Zhao, K., Du, Z., & Zhao, T. (2020). *Application of Ag / AgCl Sensor for Chloride Monitoring of Mortar under Dry - Wet Cycles*. 1–14. <https://doi.org/10.3390/s20051394>
- Wang, S., Liu, G., & Cheng, W. (2021). Chloride-mediated co-formation of 3-monochloropropanediol esters and glycidyl esters in both model vegetable oils and chemical model systems. *Food Research International*, 140, 109879. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109879>
- Yao, Y., Cao, R., Liu, W., Zhou, H., Li, C., & Wang, S. (2019). Molecular Reaction Mechanism for the Formation of 3-Chloropropanediol Esters in Oils and Fats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(9), 2700–2708. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b06632>