

NOTA IMPORTANTE:

La entidad sólo puede hacer uso de esta norma para si misma, por lo que este documento NO puede ser reproducido, ni almacenado, ni transmitido, en forma electrónica, fotocopia, grabación o cualquier otra tecnología, fuera de su propio marco.

ININ/ Oficina Nacional de Normalización

NORMA CUBANA

NC

750: 2010

ACEITES VEGETALES — DETERMINACIÓN DE FÓSFORO POR ESPECTROFOTOMETRÍA

Vegetable oils — Determination of phosphorus by spectrophotometry

ICS: 67.200.10

1. Edición Marzo 2010
REPRODUCCIÓN PROHIBIDA

Oficina Nacional de Normalización (NC) Calle E No. 261 Vedado, Ciudad de La Habana. Cuba. Teléfono: 830-0835 Fax: (537) 836-8048; Correo electrónico: nc@ncnorma.cu; Sitio Web: www.nc.cubaindustria.cu



Cuban National Bureau of Standards

NC 750: 2010

Prefacio

La Oficina Nacional de Normalización (NC), es el Organismo Nacional de Normalización de la República de Cuba y representa al país ante las organizaciones internacionales y regionales de normalización.

La elaboración de las Normas Cubanas y otros documentos normativos relacionados se realiza generalmente a través de los Comités Técnicos de Normalización. Su aprobación es competencia de la Oficina Nacional de Normalización y se basa en las evidencias del consenso.

Esta Norma Cubana:

- Ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización NC/CTN 16 de Aceites y grasas, integrado por representantes de las entidades siguientes:
 - Unión de la carne, aceites y grasas comestibles
 - Empresa Refinadora Santiago Erasol
 - Grupo empresarial de Aceites y Grasas Comestibles
 - Centro Nacional de Inspección de la Calidad (CNICA-MINAL)
 - Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA-MINAL)
 - Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA-MINSAP)
 - Laboratorio CubaControl SA
 - Ecasol (MINFAR)
 - Oficina Nacional de Normalización
 - ALIMPORT
 - Centro nacional de Higiene de los Alimentos (CNHA)

- Se basa en el método de la AOCS Official Method Ca 12-55; a la cual se le amplió el alcance, añadiéndole el neutralizado y el blanqueado.

© NC, 2010

Todos los derechos reservados. A menos que se especifique, ninguna parte de esta publicación podrá ser reproducida o utilizada en alguna forma o por medios electrónicos o mecánicos, incluyendo las fotocopias, fotografías y microfilmes, sin el permiso escrito previo de:

Oficina Nacional de Normalización (NC)

Calle E No. 261, Vedado, Ciudad de La Habana, Habana 4, Cuba.

Impreso en Cuba.

ACEITES VEGETALES — DETERMINACIÓN DE FÓSFORO POR ESPECTROFOTOMETRÍA**1 Objeto**

Esta norma especifica un método para la determinación del contenido de fósforo o equivalentes fosfátidos en aceites vegetales crudos, desgomados, neutralizados, blanqueados y totalmente refinados.

2 Referencias normativas

Las siguientes normas contienen disposiciones que al ser citadas en el texto, constituyen a su vez disposiciones de esta Norma Cubana. La edición indicada está vigente al momento de esta publicación. Como toda norma está sujeta a revisión, se recomienda a todos aquellos que realicen acuerdos sobre la base de ella, que analicen la conveniencia de usar la edición más reciente de la norma citada seguidamente. La Oficina Nacional de Normalización posee en todo momento la información sobre las normas internacionales, regionales y cubanas en vigencia.

ISO 5555:2001 Aceites y grasas animal y vegetal. Muestreo.
NC/ISO 661:2001 Aceites y grasas origen animal y vegetal. Preparación de la muestra de ensayo.
NCISO 3696:2004 Agua para uso de laboratorios de análisis. Especificaciones y métodos de ensayo.

3 Términos y definiciones

Es la cantidad de fósforo o fosfátidos equivalentes presentes en una muestra de aceite expresada en por ciento en peso.

4 Principio

Este método determina el contenido de fósforo o el contenido de equivalentes fosfátidos por calcinación de la muestra en presencia de óxido de zinc, seguido de la medición espectrofotométrica de fósforo como un complejo azul del ácido fosfomolibdico.

5 Aparatos

1. Crisoles o equivalentes de 50 mL capaz de soportar temperaturas de horno mufla de al menos 600 °C.
2. Vidrio reloj de 75 mm de diámetro.
3. Plancha eléctrica con controlador de temperatura.
4. Horno mufla, con pirómetros y controladores para mantener una temperatura de 550-600°C.
5. Embudo de vidrio de vástago corto de 50 mm de diámetro.
6. Papel de filtro, libre de cenizas de 90 mm de diámetro, Whatman no. 42 o equivalente.
7. Frasco lavador de 1 L, para usar con agua caliente.
8. Frascos volumétricos, 50; 100; 250, 500 y 1000 mL con tapa de cristal.
9. Pipetas de 2; 5; 10 y 25 mL.
10. Pipeta tipo Morh de 10 mL con subdivisiones de 0.1 mL.
11. Espectrofotómetro, capaz de medir absorbancia de 650 nm con una repetibilidad de 0.5 %.
12. Cubetas 1.000 ±0.005 cm para usar en la región visible del espectro.

6 Reactivos

1. Acido clorhídrico (HCL) concentrado, con densidad de 1.19 g/ml (ver notas en *Precaución*).
2. Oxido de zinc, grado comercial o grado reactivo.
3. Hidróxido de potasio (KOH) perlas, grado reactivo (ver notas en *Precaución*).
4. Acido sulfúrico (H₂SO₄) concentrado, con densidad 1.84 g/ml (ver notas en *Precaución*).
5. Molibdato de sodio, grado reactivo.
6. Sulfato de hidracina grado reactivo (ver notas en *Precaución*).
7. Di-Hidrógeno fosfato de potasio, grado reactivo, secado a 101 °C por 2 horas antes del uso.

7 Soluciones

1. Molibdato de sodio: añadir cuidadosamente 140 mL de ácido sulfúrico concentrado a 300 mL de agua destilada. Enfriar hasta temperatura ambiente y añadir 12.5 g de molibdato de sodio. Diluir a 500 mL con agua destilada, mezclar completamente y dejar reposar la solución por lo menos 24 horas antes del uso.
2. Sulfato de hidracina, 0,015 %: disolver 0.150 g de sulfato de hidracina en 1L de agua destilada.
3. Hidróxido de potasio, solución al 50 %: disolver 50 g de KOH en 100 mL de agua destilada con enfriamiento (ver notas en *Precaución*)
4. Solución estándar de fosfato:
 - a) Solución estándar stock: disolver 1,0967 g de di-hidrogeno fosfato de potasio seco (7) en agua destilada y diluir a 250 mL en un frasco volumétrico. Esta solución contiene 1 mg de de fósforo/mL.
 - b) Solución estándar de trabajo: pipetear 5 mL de la solución estándar stock en un frasco volumétrico de 500 mL y diluir al volumen con agua destilada. Esta solución contiene 0.01 mg de fósforo/mL.

8 Procedimiento

1. Pesar de 3.0 a 3.2 ± 0.001 g de muestra en un crisol. Añadir 0.5 g de oxido de zinc.
2. Calentar lentamente sobre una plancha caliente hasta que la muestra seque, entonces incrementar gradualmente el calor hasta que la masa sea completamente carbonizada.
3. Colocar el crisol en el horno mufla e incrementar la temperatura paulatinamente hasta 550-600 °C y mantener por 2 horas. Remover y enfriar hasta temperatura ambiente.
4. Añadir a la ceniza 5 mL de agua destilada y 5 mL de ácido clorhídrico concentrado.
5. Cubrir el crisol con un vidrio reloj y calentar a suave ebullición por 5 minutos.
6. Filtrar la solución hacia un frasco volumétrico de 100 ml. Lavar el interior del vidrio reloj y los lados del crisol con 5 mL de agua destilada caliente, usando un frasco lavador con un chorro fino de agua. Lavar el crisol y el papel de filtro con cuatro porciones adicionales de 5 mL de agua destilada caliente.
7. Enfriar la solución hasta temperatura ambiente y neutralizar hasta una ligera turbidez con la adición de gotas de la solución de KOH al 50 %. Añadir gotas de HCL concentrado hasta que el precipitado de oxido de zinc se disuelva, entonces adicional dos gotas adicionales. Diluir al volumen con agua destilada y mezclar completamente.
8. Pipetear 10 mL de esta solución hacia un frasco volumétrico de 50 mL seco y limpio (ver Notas, 1).
9. Añadir 8,0 mL de solución de sulfato de hidracina y 2 mL de solución de molibdato de de sodio, en el orden dado.

10. Tapar e invertir tres o cuatro veces. Retirar el tapón y calentar por 10 ± 0.5 minutos en un baño de agua hirviendo vigorosamente.
11. Retirar del baño, enfriar a 25 ± 5 °C en un baño de agua, diluir al volumen y mezclar completamente (ver Notas, 2).
12. Transferir la solución a una cubeta seca y limpia. Medir la absorbancia a 650 nm con el instrumento ajustado para leer 0 % absorbancia (100 % de transmitancia) con una cubeta conteniendo agua destilada (ver Notas, 1).
13. Preparar el blanco sin añadir el aceite siguiendo el procedimiento como se establece en el Procedimiento, 1 a 12.
14. Medir el contenido de fósforo de la muestra y del blanco por comparación con la curva de calibración, obtenida como sigue:

Preparación de la curva:

- (a) Pipetear 0,0; 1,0; 2,0; 4,0; 6,0; 8,0; y 10 mL de la solución estándar de trabajo [Soluciones, 4, (b)] hacia frascos volumétricos de 50 mL. Diluir cada uno a 10 mL con agua destilada, usando una pipeta. Proceder directamente como en Procedimiento, 9-12. Las alícuotas responden a 0,0; 0,01; 0,02; 0,04; 0,06; 0,08 y 0,1 mg de fósforo respectivamente.
- (b) Plotear la absorbancia de cada estándar contra su contenido de fósforo en miligramos para obtener el gráfico.

9 Cálculos

$$1. \text{ \% de fósforo} = \frac{10(A - B)}{M \times V}$$

Donde:

- A = Contenido de fósforo en la alícuota de muestra en mg.
- B = Contenido de fósforo en la alícuota del blanco en mg.
- M = Masa de la muestra en g.
- V = Volumen de la alícuota tomado en Procedimiento, 8.

$$2. \text{ \% de fosfátidos equivalentes} = \text{ \% de fósforo} \times 30 \text{ (ver Notas, 4).}$$

Notas

Precaución

El ácido clorhídrico es un ácido fuerte y puede causar quemaduras severas. Debe usarse ropa protectora cuando se trabaja con este ácido. Este es tóxico por ingestión e inhalación y un irritante fuerte para los ojos y la piel. Es recomendado el uso de una campana de extracción de gases. Cuando se diluya el ácido, añadir siempre el ácido al agua, nunca al inverso.

El hidróxido de potasio, como todos los álcalis, puede quemar la piel, los ojos y el tracto respiratorio severamente. Usar guantes de caucho pesado y careta para proteger contra álcalis líquidos concentrados. Usar una campana eficiente de extracción de gases o máscara de gas para proteger el tracto respiratorio contra los polvos o vapores de álcalis.

Cuando se trabaja con materiales sumamente cáuticos, tales como hidróxido de potasio, añadir siempre las perlas al agua y no al inverso. Los álcalis son extremadamente exotérmicos cuando se mezclan con agua. Tomar precauciones para guardar las soluciones cáusticas, en el caso de que el recipiente de mezclado se rompa por el calor extremo generado.

El ácido sulfúrico es un ácido fuerte y puede causar severas quemaduras. Debe usarse ropa protectora cuando se trabaje con este ácido. Este es un agente oxidante y no debe ser almacenado cerca de materiales orgánicos. Tomar gran precaución en el mezclado con el agua debido a la evolución de calor que puede causar salpicaduras explosivas. Adicionar siempre el ácido sobre el agua, nunca al inverso.

El sulfato de hidracina puede causar irritación de los ojos, piel y en las membranas mucosas, y daños en el hígado y los riñones. Este compuesto es un carcinógeno conocido en animales de laboratorio, causando tumores de pulmón e hígado en ratas. Este es un compuesto sospechoso como carcinógeno en humanos. Las precauciones y cuidados de este compuesto incluyen el uso de guantes, protección respiratoria y de los ojos. Evitar la inhalación del polvo. Disponer el material y las soluciones de desecho de manera segura y apropiada.

Notas numeradas

1. Si la absorbancia de la solución coloreada medida según Procedimiento, 8.12 es muy alta ($>0,9$), tomar una alícuota más pequeña de la solución de la muestra que la especificada en Procedimiento, 8.8 (por ejemplo 2,0 mL), diluir a 10 mL con agua destilada usando una pipeta y continuar directamente según Procedimiento, 9-12.
2. Las muestras de altos contenidos de fósforo pueden todavía dar valores de absorbancia $>0,9$. Si este es el caso, pipetear 10 mL de la solución de la muestra preparada en Procedimiento, 7 hacia un frasco volumétrico de 100 mL y diluir a volumen con agua destilada. Lleve a cabo la secuencia de desarrollo del color especificada en 8-12, usando una alícuota apropiada diluida a 10 mL con agua destilada. Multiplique el contenido de fósforo obtenido, usando la ecuación en Cálculos, por el factor de dilución (10, si se sigue el Procedimiento descrito en este párrafo).
3. No debe ocurrir retraso entre el desarrollo de color descrito en el Procedimiento, 8.11 y la medida de la absorbancia en Procedimiento, 8.14.
4. Esto es una aproximación para convertir el por ciento de fósforo a por ciento de fosfátidos en el aceite de soya.