

CARACTERIZACIÓN DE POS DE *PALMAS DEL CESAR S.A.*

Caracterización de los ácidos grasos libres presentes en el lodo de aceite de palma colectado de las lagunas facultativas de la industria aceitera en *Palmas del Cesar S.A.*

Paulinn Scolly Ferrer González

Trabajo de Grado para Optar al Título de Química

Director

Juan Manuel Urbina González

Dr. rer. nat.

Codirectora

Luz Yolanda Vargas Fiallo

Química, MSc.

Universidad Industrial de Santander

Facultad de Ciencias

Escuela de Química

Bucaramanga

2024

Dedicatoria

Dedico este primer logro a mis hermanas, Alexa, Marián y Gissella,
por ser mi escucha a lo largo de mi vida, pero sobre todo a mi madre,
Iberleida, por estar siempre conmigo y ser mi punto de apoyo.

Agradecimientos

Agradezco principalmente, desde el fondo de mi corazón, a mi director, el profesor Juan Manuel Urbina, por acogerme como su estudiante, por estar siempre pendiente de mi trabajo, pero especialmente por tenerme tanta paciencia durante el desarrollo de este proyecto.

En segunda instancia agradezco a mi codirectora la profesora Luz Yolanda Vargas, por dedicar su valioso tiempo a instruirme y guiarme en esta área.

Agradezco también al grupo de investigación CICTA (Ciencia y Tecnología de Alimentos) especialmente al profesional Luis Carlos Rodríguez, por brindarme su apoyo y permitirme desarrollar parte de mi trabajo en sus instalaciones.

Agradezco profundamente a “mi amorcito”, por ayudarme siempre que lo necesité, por escucharme y estar presente, por ser mi lugar de paz y felicidad, pero principalmente por ser el que más me impulsó a terminar este proyecto con éxito.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a todas las personas con las que me crucé en mi carrera, amigos, compañeros, técnicos y profesores; todos formaron parte de esta etapa de mi vida y siempre estaré agradecida por el apoyo que me brindaron.

Tabla de contenido

Introducción	15
1. Objetivos.....	17
1.1 Objetivo general.....	17
1.2 Objetivos específicos	17
2. Marco teórico.....	18
2.1 Grasas y aceites.....	18
2.2 Ácidos grasos	19
2.3 Aceite de palma.....	22
2.4 Lodo de aceite de palma (Lodo-POS).....	25
2.5 Productos derivados, de valor agregado, del lodo de aceite de palma (POS).....	27
2.6 Pruebas fisicoquímicas de ácidos grasos libres en grasas y aceites	30
2.6.1 Índices estructurales	30
2.6.2 Índices de calidad	31
2.7 Técnicas analíticas en grasas y aceites.....	34
3. Metodología.....	35
3.1 Extracción de ácidos grasos por extracción Soxhlet.....	35
3.2 Caracterización de la fracción extraída del Lodo-POS proveniente de las lagunas facultativas.....	37
3.2.1 Densidad.....	37
3.2.2 Humedad y material volátil	38
3.2.3 Contenido de cenizas.....	38

3.2.4	Punto de fusión.....	39
3.2.5	Índice de acidez.....	39
3.2.6	Índice de yodo.....	40
3.2.7	Índice de peróxido.....	41
3.3	Preparación de metil ésteres de ácidos grasos (FAMES).....	41
4.	Resultados y discusión.....	46
4.1	Densidad.....	48
4.2	Humedad y materia volátil.....	50
4.3	Contenido de cenizas.....	52
4.4	Punto de fusión.....	55
4.5	Índice de acidez (Acidity Value, AV).....	56
4.6	Índice de yodo (Iodine Value, IV).....	57
4.7	Índice de peróxidos (Peroxide Value, PV).....	59
4.8	Perfil de ácidos grasos mediante GC-MS.....	61
4.9	Identificación de ácidos grasos en el Lodo-POS mediante ¹ H-RMN.....	67
5.	Conclusiones.....	72
	Referencias.....	73
	Apéndices.....	82

Lista de Tablas

Tabla 1. Composición de ácidos grasos en el aceite de palma (a) Aceite proveniente de Malasia (b) Rango promedio establecido en el aceite.....	23
Tabla 2. Datos registrados en la determinación de densidad para la muestra purificada del Lodo- POS	49
Tabla 3. Datos registrados en la determinación de humedad y materia volátil	51
Tabla 4. Valores registrados en la determinación de porcentaje de cenizas de la muestra purificada del Lodo-POS.....	52
Tabla 5. Valores registrados en la determinación de porcentaje de cenizas del Lodo-POS crudo, sin extraer por Soxhlet ni purificar con sílica gel	53
Tabla 6. Rangos de temperatura registrados en la medición del punto de fusión	55
Tabla 7. Valores registrados en la medición del índice de acidez (AV).....	57
Tabla 8. Valores registrados en la medición del índice de yodo (IV).....	58
Tabla 9. Valores registrados en la medición del índice de peróxidos (PV)	60
Tabla 10. Ésteres metílicos de ácidos grasos presentes en la primera muestra esterificada del Lodo- POS	62
Tabla 11. Ésteres metílicos de ácidos grasos presentes en la segunda muestra esterificada del Lodo-POS	66
Tabla 12. Corrimiento químico de las señales presentes en un espectro ¹ H-RMN (CDCl ₃ , 400 MHz) de ácidos grasos	69
Tabla 13. Comparación de parámetros estudiados con resultados reportados en la literatura en Malasia y Nigeria.....	71

Tabla C1. Datos reportados en el proceso de extracción Soxhlet..... 84

Lista de Figuras

Figura 1. Ácidos grasos Omega 3 (arriba) y Omega 6 (abajo)	21
Figura 2. Procesos para la obtención del aceite crudo de palma	26
Figura 3. Fotografía de la tercera laguna de oxidación de la empresa Palmas del Cesar S.A.	26
Figura 4. Clasificación de los surfactantes	29
Figura 5. Montaje experimental para la extracción de la muestra de Lodo-POS utilizando el método de Soxhlet.....	36
Figura 6. Montaje para la esterificación de FFA, formación de metil ésteres de ácidos grasos (FAMEs)	42
Figura 7. Montaje experimental para la destilación del metanol.....	44
Figura 8. Montaje experimental para la extracción líquido-líquido con CH_2Cl_2 de FAMEs	45
Figura 9. Comparación de espectros infrarrojo	47
Figura 10. Cromatogramas con sus respectivos tiempos de retención	61
Figura 11. Comparación de cromatogramas de ésteres metílicos derivatizados de la muestra purificada del Lodo-POS utilizando diferentes catalizadores.....	65
Figura 12. Espectros ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) del ácido palmítico, ácido oleico y muestra purificada del Lodo-POS	67
Figura 13. Identificación de señales en el espectro ^1H -RMN (CDCl_3 , 400 MHz) de la muestra purificada del Lodo-POS	69
Figura C1. Diagrama de barras de los datos reportados en la extracción Soxhlet.	85

Figura E1. Comparación del espectro de masas obtenido para el patrón del palmitato de metilo con el registrado en la base de datos *NIST*..... 88

Figura F1. Comparación del espectro de masas obtenido para el patrón del oleato de metilo con el registrado en la base de datos *NIST* 90

Figura G1. Comparación del espectro de masas obtenido para la tercera señal del cromatograma observada a los 16,286 min con el registrado en la base de datos *NIST*..... 93

Lista de Esquemas

Esquema 1. Formación de un triglicérido a partir de glicerol y ácido palmítico.....	18
Esquema 2. (a) Reacción de esterificación de Fischer (b) Transesterificación de un glicérido (c) Interesterificación de un triglicérido.....	28

Lista de Apéndices

Apéndice A. Mecanismo de reacción en la determinación del índice de yodo.....	82
Apéndice B. Mecanismo de reacción en la determinación del índice de peróxido.....	82
Apéndice C. Valores reportados en el proceso de extracción Soxhlet.....	84
Apéndice D. Datos adicionales en la determinación de densidad.....	85
Apéndice E. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS del metil éster del ácido palmítico.	87
Apéndice F. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS del metil éster del ácido oleico.	89
Apéndice G. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS de la mezcla de metil ésteres de la muestra purificada de Lodo-POS utilizando el PTSA como catalizador.....	91
Apéndice H. Certificado de análisis del ácido oleico utilizado como patrón para su respectiva esterificación como oleato de metilo.	94
Apéndice I. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS de la mezcla de metil ésteres de la muestra purificada de Lodo-POS utilizando el H ₂ SO ₄ como catalizador de la reacción de esterificación.....	95

Abreviaturas

AcOEt Acetato de Etilo

AV Acid Value (índice de acidez)

DBO Demanda Bioquímica de Oxígeno

DQO Demanda Química de Oxígeno

EP Éter de Petróleo

FAME Fatty Acids Methyl Esters

FFA Free Fatty Acids

GC-MS Gas Chromatography – Mass Spectrometry

FTIR Fourier Transform InfraRed Spectroscopy

ISO International Organization for Standardization

IV Iodine Value (índice de yodo)

MT Megatoneladas

NTC Normas Técnicas Colombianas

POME Palm oil Mill Effluent

POS Palm Oil Sludge

PTSA *p*-Toluenesulfonic Acid

PV Peroxide Value (índice de peróxido)

Resumen

Título: Caracterización de los ácidos grasos libres presentes en el lodo de aceite de palma colectado de las lagunas facultativas de la industria aceitera en *Palmas del Cesar S.A.* *

Autor: Paulinn Scolly Ferrer González**

Palabras Clave: Aceite de palma, Lodo de aceite de palma, Ácidos grasos, Ésteres metílicos de ácidos grasos

Descripción:

El presente estudio tuvo como finalidad determinar características fisicoquímicas del lodo de aceite de palma, denominado Lodo-POS a lo largo de este documento, del complejo lagunar de la empresa Palmas del Cesar S.A. del municipio San Martín – Cesar, en Colombia. Se purificó el Lodo-POS mediante extracción Soxhlet, utilizando éter de petróleo (EP) como disolvente, y filtración en sílica gel. Se midieron diferentes características fisicoquímicas siguiendo Normas Técnicas Colombianas (NTC). Las pruebas de humedad, ceniza y punto de fusión proporcionaron información sobre la pureza de la porción de ensayo; pruebas como el índice de acidez, índice de yodo e índice de peróxido, evidenciaron la presencia y saturación de dichos ácidos. Mediante una esterificación de la porción purificada del Lodo-POS y su medición en GC-MS se determinó el perfil de ácidos grasos en la muestra.

Se encontró que más del 80% del Lodo-POS fue extraído y purificado por el EP, que el producto extraído era en su mayoría ácidos grasos libres (FFA) encontrando un alto valor en el índice de acidez (172,88 mgKOH/g), de los cuales en su mayoría son ácidos saturados, y un índice de yodo con un valor relativamente bajo de 26,58 gI₂/100g. Adicionalmente, se encontró un bajo contenido de materia inorgánica, con un valor de cenizas de 0,15% y un porcentaje de humedad de 2,58%. Dadas estas características se estableció y comparó una ruta de esterificación para la formación de metil ésteres de ácidos grasos (FAME), una reacción de un paso en medio ácido, utilizando tanto PTSA como H₂SO₄ como catalizadores. Se realizó la extracción de los ésteres utilizando diclorometano, y con el GC-MS se encontró la presencia de los ácidos palmítico, oleico y esteárico. Eventualmente estos FAMEs pueden utilizarse en la formulación de un biocombustible o un tensoactivo, considerando las características de los FFA, en el Lodo-POS.

* Trabajo de Grado

** Facultad de Ciencias. Escuela de Química. Programa de Química. Director: Juan Manuel Urbina González. Dr. rer. nat. Codirectora: Luz Yolanda Vargas Fiallo. Química, MSc.

Abstract

Title: Characterization of free fatty acids from the sludge collected in facultative lagoons of palm oil industry in *Palmas del Cesar S.A.* *

Author: Paulinn Scolly Ferrer Gonzalez**

Key Words: Palm oil, Palm oil sludge, Fatty acids, Fatty acid methyl esters.

Description:

The purpose of this study was to determine physicochemical characteristics in some palm oil sludge (POS), which is called Lodo-POS along this document, from the lagoon complex of *Palmas del Cesar S.A.* company, from San Martín – Cesar, in Colombia. The Lodo-POS was purified by Soxhlet extraction, using petroleum ether (PE) as solvent and silica gel filtration to purify the extracted product. Different physicochemical characteristics were measured following Colombian technical methods (Normas Técnicas Colombianas, NTC). The determination of humidity, ash content and melting point provided information about the purity of the sample; other tests such as the acidity value, iodine value and peroxide value, showed the presence and type of saturation of these fatty acids in the Lodo-POS. Additionally, the esterification of the Lodo-POS and its measurement by GC-MS, determined the fatty acid profile in the sample.

It was found that more than 80% of the Lodo-POS was extracted and purified by the PE. Finding a high value in the acidity index, 172,88 mgKOH/g, means that the extracted product was mainly free fatty acids (FFA). The iodine value provided a low value of 26.58 gI₂/100g, indicating that the majority of the FFA are saturated. Additionally, a low content of inorganic matter was found, with an ash value of 0.15% and a humidity percentage of 2.53%. Given these characteristics, it was possible to establish and compare an esterification route that allowed the formation of fatty acid methyl esters (FAME), being a one-step reaction in an acidic medium, using both PTSA and H₂SO₄ as catalysts. The FAMEs were extracted using dichloromethane and the GC-MS results indicate that the acid profile corresponds to palmitic acid, oleic acid and stearic acid. As a note, eventually these FAMEs can be used in the formulation of biofuels or surfactants, due to the characterization reported in this document.

* Degree Work

** Science Faculty. School Chemistry. Chemistry Program. Director: Juan Manuel Urbina González. Dr. rer. nat. Co-director: Luz Yolanda Vargas Fiallo. Química, MSc.

Introducción

Según la Federación de Cultivadores de Palma de Aceite (Fedepalma), hay 161 municipios ubicados en 21 departamentos de Colombia que poseen actualmente cultivos de palma aceitera (planta *Elaeis guineensis* Jacq.) (Fedepalma, 2023). Colombia se ubica como el cuarto país productor de aceite de palma a nivel mundial y el primero en América. Sin embargo, debido a la basta producción de aceite de palma, también existe una gran cantidad de desechos generados (Awoh *et al.*, 2023). Estos residuos generalmente son reciclados, de tal forma que puedan tener una vida útil después de la producción del aceite. Por ejemplo, residuos como el raquis, la fibra y la cáscara, además de poder ser utilizados como alimento para ganado, son empleados como material combustible en calderas; incluso los lodos provenientes de las lagunas facultativas son utilizados posteriormente como fertilizantes. Sin embargo, este último desecho puede ser de gran empleabilidad dada la cantidad de materia orgánica que tiene en su composición.

Estudios previos en Malasia muestran que el lodo de aceite de palma, Lodo-POS, es rico en ácidos grasos libres (FFA) teniendo en su composición un porcentaje de entre 50 y 80% de estos (Nasaruddin *et al.*, 2013; Usman *et al.*, 2009; Wafti *et al.*, 2012), en los cuales se exhibe un perfil de ácidos grasos principalmente de palmítico (45%), oleico (40%) y linoleico (10%) (Hayyan *et al.*, 2010; Loh *et al.*, 2021). Adicionalmente, estos estudios muestran que es posible obtener ésteres metílicos y etílicos a partir de ácidos grasos mediante un proceso de esterificación, con más del 90% de rendimiento. Teniendo en cuenta que tanto los biocombustibles como muchos surfactantes están compuestos principalmente de estos ésteres metílicos o etílicos, se evidencia que es posible utilizar el Lodo-POS proveniente de esta industria como fuente de materia prima

para la fabricación de biocombustibles y tensoactivos (Hayes, 2017; Lu *et al.*, 2009). Sin embargo, con el fin de realizar el respectivo proceso de esterificación y obtener así el biocombustible o tensoactivo deseado, es necesario inicialmente realizar la caracterización de la materia prima, que en este caso corresponde al Lodo-POS, con el fin de determinar el tipo y cantidad de ácidos grasos presentes.

En este trabajo se estudió el desecho proveniente de la tercera laguna facultativa de tratamiento de residuos de la empresa aceitera *Palmas del Cesar S.A.* Los lodos provenientes de la industria de aceite de palma, como se mencionaba anteriormente, se caracterizan por su alto contenido de ácidos grasos. En este documento se presentan los resultados de una serie de pruebas analíticas de propiedades fisicoquímicas que han sido establecidas según las Normas Técnicas Colombianas (NTC), las cuales permitieron estudiar la composición del Lodo-POS evaluando la cantidad de glicéridos y de FFA, lo que permitió verificar su viabilidad para que dichos ácidos grasos se empleen como material de partida para obtener productos de mayor valor agregado, como biocombustibles o tensoactivos.

1. Objetivos

1.1 Objetivo general

Demostrar que el Lodo-POS proveniente de la tercera laguna de oxidación de la planta de aceite de palma *Palmas del Cesar S.A.* posee en su composición ácidos grasos libres, que se pueden utilizar para la generación de metil y etil ésteres, empleados actualmente como biocombustibles o tensoactivos.

1.2 Objetivos específicos

Aplicar normas técnicas relacionadas con la determinación de diferentes parámetros utilizados en la caracterización de grasas y aceites sobre una muestra colectada de la empresa *Palmas del Cesar S.A.* con el fin de determinar y conocer la composición fisicoquímica del Lodo-POS.

Identificar el perfil de ácidos grasos libres en el Lodo-POS, utilizando cromatografía de gases acoplado a espectrometría de masas, mediante la esterificación de los ácidos con metanol, para establecer la proporción de ácidos grasos presentes en el Lodo-POS.

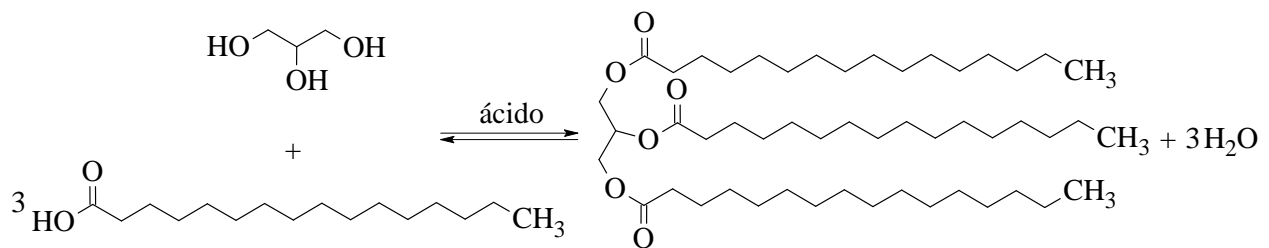
2. Marco teórico

2.1 Grasas y aceites

Las grasas y aceites están compuestas principalmente de triglicéridos, los cuales son llamados así porque su composición o estructura deriva de una molécula de glicerol unida a tres ácidos grasos, que pueden ser iguales o diferentes, mediante la esterificación de los -OH; en el Esquema 1 se muestra el ejemplo del triglicérido derivado del ácido palmítico. Si los ácidos grasos son todos iguales, el triglicérido es llamado “triglicérido simple”, pero si al menos uno de estos ácidos es diferente se habla de un “triglicérido mixto” (Yurkanis, 2008).

Esquema 1.

Formación de un triglicérido a partir de glicerol y ácido palmítico



Nota: Adaptado de (Tenbohlen & Koch, 2010).

Comúnmente, se establecen los términos “grasa” y “aceite” dependiendo del estado físico en el que se encuentren; las grasas hacen referencia a lípidos que se encuentran en estado sólido a temperatura ambiente y los aceites normalmente se encuentran en estado líquido a esta misma temperatura (Carey, 2003). Sin embargo, la gran diferencia en estos dos tipos de cuerpos grasos corresponde a la estructura de los ácidos grasos que poseen en su composición, pero más que nada

a la forma de empaquetar estos ácidos. Las grasas saturadas tienen una forma más sencilla, que les permite ordenarse eficientemente en un retículo cristalino, dado que, al tener enlaces sencillos en toda su estructura, les permite moverse y ajustarse libremente; sin embargo, en los aceites ocurre lo opuesto: al ser insaturados, los enlaces C=C generan flexiones en las cadenas hidrocarbonadas, haciendo que los fragmentos de los ácidos sean más rígidos y por ende más difícil “empaquetarlos” en una forma cristalina, que no les permite organizarse de manera adecuada. Mientras más dobles enlaces se encuentren en la estructura, es más difícil para las moléculas llegar a cristalizarse, de allí que el punto de fusión para los aceites sea bajo y que este disminuya dependiendo de las insaturaciones que presentan los ácidos grasos (McMurry, 2012).

2.2 Ácidos grasos

Los ácidos grasos se caracterizan principalmente por tener en su estructura un grupo carboxilo unido a una cadena hidrocarbonada, la cual, al variar la longitud, proporciona una gran diversidad de ácidos; normalmente estos exhiben una cantidad par de átomos de carbonos en su estructura, exceptuando el ácido propanoico y el ácido valérico, C3 y C5 respectivamente (deMan, 1999). Una división común es considerar el número de carbonos presentes en su estructura; se denominan de cadena corta si tienen de 4 a 10 átomos de carbono, mediana si la longitud es de 12 a 14 átomos y larga si tienen de 16 a más carbonos en su estructura. Sin embargo, esta división no es tan aplicada, ya que en muchos reportes no consideran el término mediano y tienen la denominación de “cadena corta” cuando se tiene menos de 16 átomos de carbono en su estructura. Por otra parte, aparece otra división que se aplica con más notoriedad y se recalca con más énfasis en los documentos; esta división se realiza teniendo en cuenta el tipo de uniones que presentan en

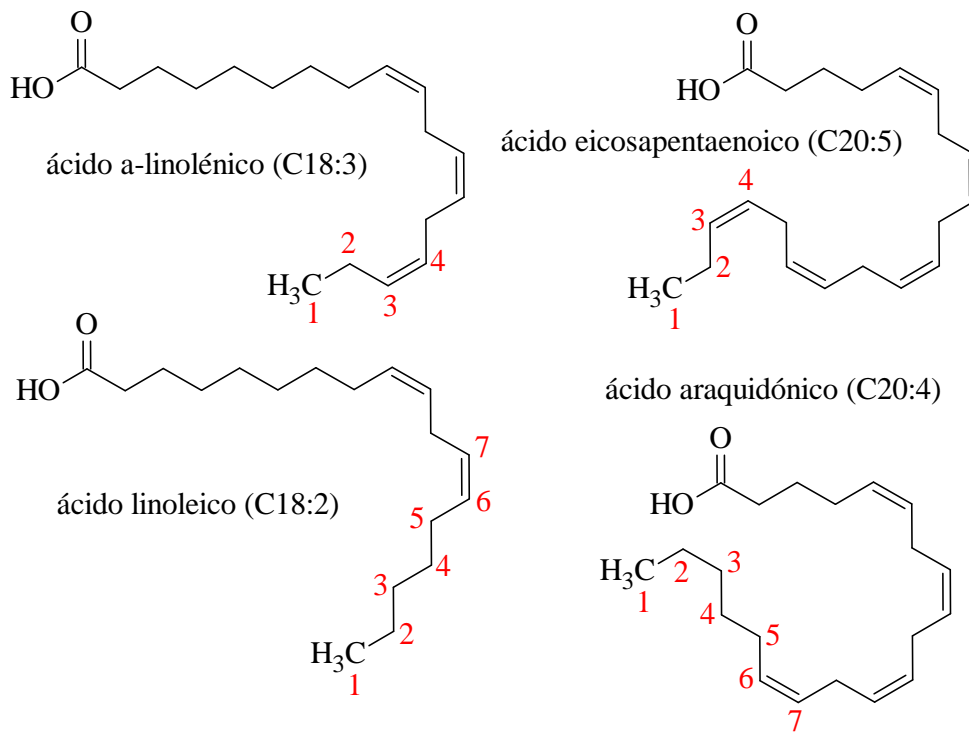
la cadena hidrocarbonada los átomos de carbono, es decir, si están unidos mediante un enlace sencillo o si están unidos mediante un doble o triple enlace. Se establece que un ácido es saturado si toda la cadena de carbonos está compuesta únicamente por enlaces simples. Si por el contrario tiene al menos un enlace doble en dicha cadena, hace parte de un ácido graso insaturado; también es denominado “poliinsaturado” si presenta varias insaturaciones en la estructura. Adicionalmente, se debe tener en cuenta que, por la insaturación, se tendrán isómeros estructurales *cis-* y *trans-*. Cabe recalcar que la mayoría de los ácidos grasos presentes en la naturaleza son ácidos grasos insaturados, y a su vez son más abundantes los que se encuentran en su forma *cis* (Morrison & Boyd, 1992).

Una forma sencilla de nombrar los ácidos grasos es emplear una abreviatura en la cual se menciona el número de átomos de carbono que tiene el ácido en su estructura y la cantidad de insaturaciones que presenta este, separándose dichos números mediante el símbolo de los dos puntos “:”; si el ácido presenta una insaturación *cis* se escribe la *c* seguida del número del carbono en el cual se da dicho enlace y *t* si presenta la isomería *trans* (Mathews *et al.*, 2002). Actualmente se conocen más de 100 ácidos grasos y casi 40 de ellos se encuentran distribuidos en la naturaleza. Los ácidos saturados más comunes son el ácido palmítico (C16:0) y el ácido esteárico (C18:0). Ácidos como el oleico (C18:1) y linoleico (C18:2) son los ácidos insaturados que se encuentran en mayor abundancia. El ácido oleico es un ejemplo de ácido monoinsaturado dado que sólo tiene un enlace doble en su estructura, mientras que el ácido linoleico es un ácido poliinsaturado porque tienen más de un enlace doble (Morrison & Boyd, 1992).

Existe otra clasificación importante para los ácidos insaturados, la cual corresponde a las denominaciones de ácidos omega 3 y omega 6; estos ácidos son considerados muy beneficiosos para la salud humana ya que se ha evidenciado que ayudan a la regulación del colesterol en la sangre y a prevenir ataques al corazón. Estos ácidos son nombrados “omega” porque la numeración de la cadena carbonada no inicia en el grupo carboxilo, sino que se empieza a contar desde el extremo no carboxílico; cuando la insaturación que presentan en la estructura se encuentra ubicada entre los carbonos 3 y 4 es denominado “omega 3”, y es un “omega 6” cuando la insaturación se encuentra entre los carbonos 6 y 7 (Lawson, 1995). En la Figura 1 se muestran cuatro ejemplos de los ácidos grasos mencionados anteriormente con su respectiva numeración.

Figura 1.

Ácidos grasos Omega 3 (arriba) y Omega 6 (abajo)



Nota: Adaptado de (Caballero *et al.*, 2006).

2.3 Aceite de palma

El aceite de palma es obtenido principalmente de la planta *Elaeis guineensis* Jacq., la cual es una planta originaria de la selva tropical ecuatorial en África, precisamente en el golfo de Guinea. Actualmente es cultivada en diferentes regiones tropicales, generalmente en África (Nigeria), América del Sur (Colombia) y Asia (Malasia, Tailandia e Indonesia) (Ntsomboh-Ntsefong *et al.*, 2016). El fruto de esta planta es una drupa, fruto sencillo pero carnoso con una semilla en su interior, el cual es generalmente llamado nuez de palma; este fruto es utilizado en la industria para realizar la producción del aceite de palma mediante los diferentes procesos de esterilización, digestión, prensado, decantación, clarificación y el respectivo refinamiento del aceite (Berger, 1983).

El aceite de palma tiene en su composición triglicéridos, principalmente de los ácidos palmítico y oleico. Antes del refinado este presenta una coloración rojiza debido a la cantidad de carotenoides (pigmentos orgánicos que proporcionan la coloración de una sustancia) que posee, principalmente alfa y betacarotenos, en una concentración comprendida entre 500 – 700 ppm (deMan, 1999). Dada la cantidad de carotenoides que presenta este aceite crudo, este se degrada con mayor facilidad, tornándose de una coloración oscura; sin embargo, en esta forma rojiza el aceite es más saludable para el consumo, ya que los carotenoides son buenos antioxidantes y favorecen la absorción de vitaminas en el cuerpo humano. Posterior al proceso de refinación se obtiene el aceite de palma comercial, al cual se le ha realizado la remoción de dichos carotenoides mediante una destilación a baja temperatura, obteniéndose ahora un producto de color amarillo claro y un poco transparente.

La proporción de ácidos grasos saturados e insaturados determinada es usualmente de 50:50; en la composición del aceite de palma producido en Malasia se evidencia más cantidad de ácido palmítico (saturado) que de ácido oleico (insaturado), esto hace que tenga una composición semisólida. En la Tabla 1 se muestra la composición de los diferentes ácidos grasos en una muestra de aceite de palma de Malasia, junto con el rango promedio en el cual deberían encontrarse estos valores (Oi-Ming *et al.*, 2020).

Tabla 1.

Composición de ácidos grasos en el aceite de palma (a) Aceite proveniente de Malasia (b)

Rango promedio establecido en el aceite

Ácidos grasos	% Total	
	a. Resultado	b. Rango
C12:0 Ácido láurico	----	0 - 0.4
C14:0 Ácido mirístico	----	0.5 - 2.0
C16:0 Ácido palmítico	46	40 - 48
C16:1 Ácido palmitoleico	----	0 - 0.6
C18:0 Ácido esteárico	4	3.5 - 6.5
C18:1 Ácido oleico	40	36 - 44
C18:2 Ácido linoleico	10	6.5 - 12.0
C18:3 Ácido linolénico	<1	0 - 0.5
C20:0 Ácido araquídico	0.38	0 - 1
C20:1 Ácido gadoleico	----	0 - 0.2
C22:0 Ácido behénico	----	0 - 0.1
C24:0 Ácido lignocérico	----	0 - 0.2

Nota: Adaptado de (Oi-Ming *et al.*, 2020).

La producción mundial de aceite de palma ha venido incrementando drásticamente durante los últimos 40 años, debido a la gran expansión del cultivo de esta planta, siendo más evidente en países del sur de Asia como Malasia e Indonesia, y al oeste de África en Nigeria, que ha presentado un crecimiento considerable, pero en comparación con las producciones asiáticas ha sido más lenta. Al igual que Colombia, estos países son los productores principales de aceite de palma en cada una de sus respectivas regiones. En el año 2023 Indonesia se ubicó como el primer productor mundial de aceite palma, con un porcentaje de producción anual de 59% (47 000 MT), seguido de Malasia con 19 000 MT (24%), posteriormente Tailandia con 4% (3 450 MT) y en el cuarto puesto aparece Colombia, con una producción anual de 1 900 MT (2%) (IPAD, 2023).

Para la producción de aceite de palma es requerida una gran cantidad de agua; se estima que por cada tonelada de racimos de frutos secos se consume 1 tonelada de agua (Lam & Lee, 2011). Si bien gran parte de esta agua se pierde como vapor durante los procesos, la mayoría es desechada como efluente del molino, (palm oil mill effluent) POME por las siglas en inglés. Este efluente es generado principalmente mediante los procesos de esterilización y clarificación del aceite, procesos en los cuales se utiliza la mayor cantidad de agua caliente, por lo cual el POME es una suspensión coloidal de color marrón compuesta de agua, aceite y sólidos suspendidos. Este efluente, dada la cantidad de ácidos grasos que tiene, presenta un pH de entre 4 – 5, y por la gran cantidad de materia orgánica que posee tiene un elevado valor de demanda bioquímica de oxígeno (DBO), haciendo que este desecho sea más peligroso, en términos de contaminación ambiental, que las aguas residuales domésticas (Saad *et al.*, 2021). Existen varias formas de evitar esta contaminación, y entre ellas está el tratamiento completo de este efluente a través de sistemas

lagunares de oxidación que permita el posterior vertimiento del agua a fuentes hídricas y el aprovechamiento de este desecho semisólido acumulado en las lagunas.

El POME ha demostrado ser una buena fuente de fertilizantes dado su alto contenido de nutrientes (especialmente nitrógeno y potasio) al presentar un alto valor de DBO y de demanda química de oxígeno (DQO). También existe una característica que no se menciona comúnmente: dada la cantidad de ácidos grasos libres que presenta en su composición, el POME puede ser utilizado como materia prima, después de ser purificado, para la obtención de productos de valor agregado como biocombustibles y surfactantes, mediante una esterificación de dichos ácidos grasos libres (Mohammad *et al.*, 2021).

2.4 Lodo de aceite de palma (Lodo-POS)

En el proceso para la obtención del aceite de palma se realiza una serie de operaciones consecutivas de clarificación, centrifugación y sedimentación al producto líquido obtenido del prensado del fruto de la palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.). De dichos procesos se obtienen unos sedimentos los cuales se depositan en unos tanques florentinos (ver Figura 2) para ser ubicados posteriormente en un espacio abierto denominado lagunas de oxidación, en las cuales se espera a que los desechos se degraden para poder ser vertidos en las fuentes hídricas.

Figura 2.

Procesos para la obtención del aceite crudo de palma



Nota: Adaptado de (Velayuthan, 1986).

Figura 3.

Fotografía de la tercera laguna de oxidación de la empresa Palmas del Cesar S.A.



En la Figura 3 se muestra la tercera laguna de oxidación en la empresa Palmas del Cesar S.A., en la cual se observa una capa espesa formada en la parte superior de la laguna, esta corresponde a una capa grasa producto de los residuos de la producción del aceite; esta capa grasa es la denominada lodo de aceite de palma (Lodo-POS), la cual está formada por restos del aceite, materia orgánica como restos de pulpa de la fruta, y ácidos grasos (Loh *et al.*, 2021).

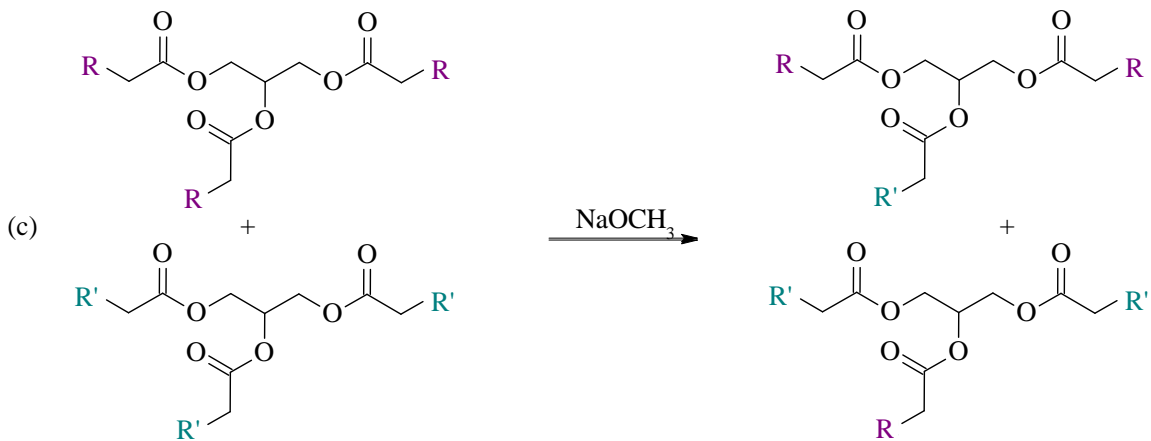
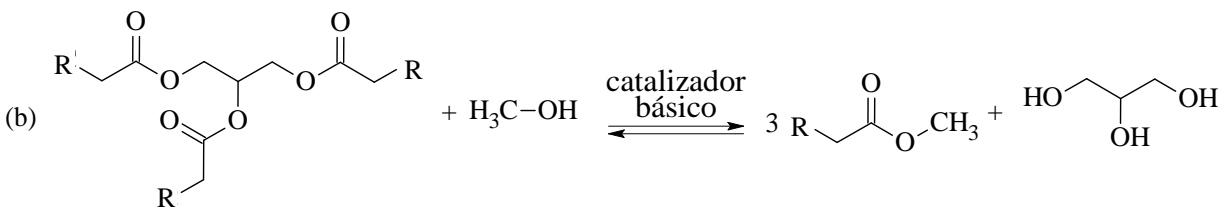
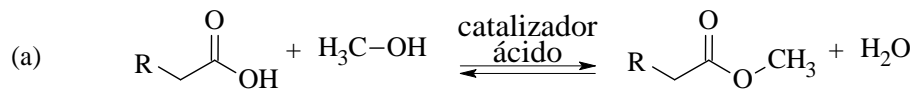
2.5 Productos derivados, de valor agregado, del lodo de aceite de palma (POS)

Los biocombustibles son considerados una fuente de energía renovable. Generalmente pueden obtenerse mediante tres procesos diferentes, (1) la degradación o fermentación de alcoholes, (2) el procesamiento de aceites mediante hidrogenación para producir derivados hidrocarbonados y (3) mediante la separación de aceite de una biomasa y la posterior obtención de ésteres metílicos de ácidos grasos, (fatty acids methyl esters) FAME por sus siglas en inglés (Roberts & Patterson, 2014). En este último caso el biodiesel se forma mediante la transesterificación de un triglicérido (con ácidos grasos de cadena larga) y un alcohol, generalmente se utiliza el metanol. Dado que el biodiesel comúnmente se produce a partir grasas y aceites de consumo humano, por lo general vegetales, los ácidos grasos dentro de este proceso son el C16 (palmítico) y los C18 (oleico, linoleico, linolénico y esteárico). En el Esquema 2(a) se observa la reacción entre el ácido graso libre y el metanol, en el Esquema 2(b) se observa la transesterificación de un triglicérido y en el Esquema 2(c) se aprecia el intercambio de la fracción de un ácido graso en una reacción de interesterificación.

Esquema 2.

(a) *Reacción de esterificación de Fischer* (b) *Transesterificación de un glicérido* (c)

Interesterificación de un triglicérido



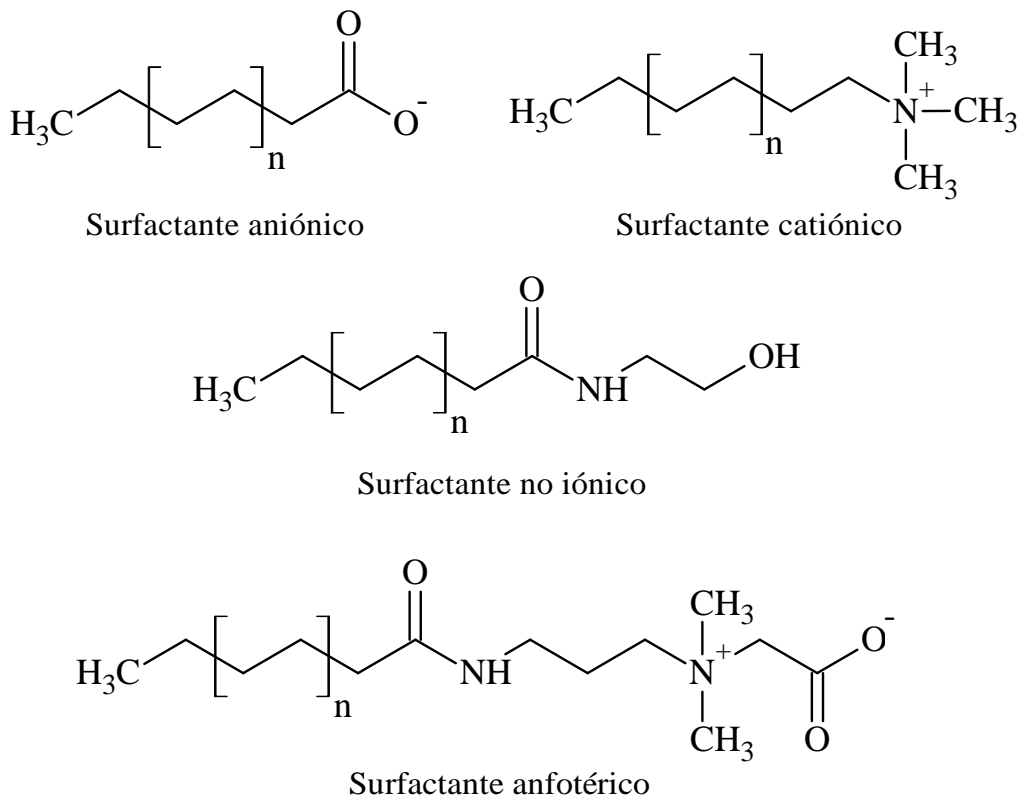
Nota: (a) y (b) Adaptados de (Tavizón-Pozos *et al.*, 2021) (c) Adaptado de (Belitz *et al.*, 2009).

Los surfactantes o tensoactivos son sustancias emulsificantes que se utilizan regularmente como agentes limpiadores, y se caracterizan principalmente por ser sustancias que presentan en su estructura grupos funcionales con diferente afinidad, por lo cual se conocen como anfipáticos.

Estos poseen una cadena carbonada extensa de carácter hidrofóbica, la cual depende del ácido graso precursor que se haya utilizado al momento de la transesterificación, usualmente tienen una cadena C8 – C22; también tienen un extremo polar que corresponde al grupo funcional que presenta afinidad con el agua, es decir, es hidrofílico (Nakama, 2017). Dependiendo del tipo de grupo hidrofílico, el tensoactivo se puede clasificar como no iónico, aniónico, catiónico o anfótero. En la Figura 4 se muestran ejemplos de estas clasificaciones.

Figura 4.

Clasificación de los surfactantes



Nota: Adaptado de (Rapp, 2017).

2.6 Pruebas fisicoquímicas de ácidos grasos libres en grasas y aceites

Los métodos analíticos en la química de los ácidos grasos se pueden clasificar como índices estructurales o de calidad, dependiendo de qué estén evaluando; como sus nombres lo indican, hacen referencia a si determinan características estructurales o solo quieren mostrar aspectos de calidad en la grasa. Por ejemplo, pruebas como el índice de yodo y el punto de fusión son pruebas que se consideran estructurales porque proporcionan información sobre la estructura de la molécula; pruebas como el índice de peróxido, la cantidad de ácidos grasos, la humedad y materia volátil son considerados índices cualitativos (Knothe, 2002).

2.6.1 Índices estructurales

El punto de fusión define la temperatura a la cual la grasa tiene menos del 4% de su composición en estado sólido. Estudios anteriores han mostrado que existen varios factores estructurales que influyen en este valor para los compuestos orgánicos, especialmente los ácidos grasos, factores tales como la longitud de la cadena carbonada del ácido, el peso molecular, las insaturaciones presentes e incluso la disposición de los mismos (Karabulut *et al.*, 2004; Knothe & Dunn, 2019); adicionalmente, es un parámetro utilizado para la clasificación de grasas y aceites, ya que el valor de este parámetro es diferente en ambos casos. Dado que el valor reportado corresponde a la temperatura a la cual se funde la muestra, este valor se expresa en unidades de temperatura.

El índice de yodo o iodine value, IV por sus siglas en inglés, es utilizado principalmente para indicar el grado de insaturación que presentan los ácidos grasos y de esta manera determinar la estructura común que tendría dicha molécula, ya que no muestra los ácidos grasos específicos (Knothe, 2002). Este parámetro generalmente se determina mediante el procedimiento que involucra el reactivo de Wijs, el cual es monocloruro de yodo en ácido acético, nombrado de esta forma gracias a *Jacob Jan Alexander Wijs*, quien descubrió la adición del monocloruro de yodo en los dobles enlaces, siendo utilizado como método estándar (Kyriakidis & Katsiloulis, 2000), ver Apéndice A. Este índice es expresado como el porcentaje de yodo que es absorbido por la muestra, al interaccionar el reactivo de Wijs con las insaturaciones presentes en el compuesto de interés, es decir, se expresa como los gramos de yodo absorbidos por cada 100 gramos de muestra (Huang *et al.*, 2022).

2.6.2 Índices de calidad

La densidad, definida como la cantidad de masa que puede ocupar un volumen, es una de las propiedades intensivas que está correlacionada principalmente con el índice de yodo y el contenido de ácidos grasos libres, dado que por cada unidad de incremento en el valor del yodo la densidad aumenta aproximadamente 0,14 g/mL y disminuye 0,2 por el incremento del 1% de ácidos grasos (Timms, 1985); adicionalmente, este parámetro disminuye linealmente con el incremento de la temperatura, a mayor temperatura la grasa se expande ocupando un mayor volumen, disminuyendo la densidad en hasta un 10% de su valor (Rodenbush *et al.*, 1999). Este parámetro se expresa generalmente como el peso de la grasa en g por el volumen en mL (g/mL).

Uno de los factores importantes en las características de las grasas y aceites es la cantidad de agua que esta tiene en su composición, dado que es imposible tener una grasa, ya sea sólida, semisólida o líquida, totalmente anhidra, a pesar de la naturaleza hidrofóbica que estas posean (Cozzolino *et al.*, 2008); adicionalmente, este parámetro es importante para evaluar la durabilidad y estabilidad de los productos alimenticios como las grasas y los aceites: un producto con un alto porcentaje de humedad es más propenso a deteriorarse. Este parámetro se exhibe en porcentaje, representando los gramos de humedad y material volátil presente en cada 100 gramos de muestra.

El porcentaje de cenizas hace referencia al residuo inorgánico remanente después de quemar una porción de muestra a altas temperaturas, entre 550 °C – 600 °C, momento en el cual se completa la oxidación de la materia orgánica. Este parámetro se utiliza principalmente para determinar la cantidad de materia inorgánica presente en la muestra; es considerado de gran importancia en la industria alimentaria, ya que tiene la finalidad de evaluar la pureza y la composición de los alimentos. Por lo general, el contenido de cenizas en los alimentos frescos no exhibe un valor mayor al 5 %, en especial las grasas y los aceites, los cuales muestran una cantidad casi nula en este parámetro (Marshall, 2010). Dado que corresponde a una porción de la muestra que no puede ser descompuesta, su valor es expresado como un porcentaje en peso (% m/m) de la fracción restante después del proceso de calcinación, en comparación con la porción de muestra utilizada para el ensayo.

Las grasas y los aceites son materias primas propensas a oxidarse con facilidad durante su producción o su almacenamiento, dependiendo principalmente de la temperatura, la luz o el oxígeno presente durante el proceso. El índice de peróxidos o peroxide value (PV, por sus siglas

en inglés) es uno de los parámetros con más utilidad, dado que permite verificar la oxidación del aceite o la grasa y sirve para controlar la calidad de la materia prima que se tiene (Gotoh & Wada, 2006); usualmente es aplicado para medir productos de oxidación primaria, como hidroperóxidos presentes en la muestra (ver Apéndice B), los cuales son usados para medir el estado de oxidación de la grasa o el aceite. Un valor de PV alto indica una mayor oxidación en la muestra, por lo tanto, una disminución en la calidad del producto (Zhang *et al.*, 2021). Este valor se exhibe como la cantidad de peróxidos presentes en la muestra, por lo cual se define como la cantidad de oxígeno activo en meq por cada kg de grasa o aceite.

El índice de acidez o acidity value, AV por sus siglas en inglés, al igual que los parámetros anteriores, es una de las características que expresa la calidad de la grasa o el aceite. Mide la cantidad de ácidos grasos presentes en la grasa o aceite, los cuales se originan debido a la hidrólisis de los triglicéridos al momento en el que se degrada la muestra (O'Keefe & Pike, 2010). Es un parámetro de gran importancia al momento de realizar la refinación, ya que dependiendo de qué tan alto sea el valor de este índice, se debe escoger el proceso por el cual refinar la grasa, procesos químicos o utilizando procesos físicos (McMurry, 2012); en la industria alimentaria también es de importancia, debido a que es un indicador de calidad y frescura de la materia prima al mostrar la oxidación de la grasa: un valor de AV alto indica una mayor degradación del aceite o la grasa y por ende un impacto negativo, tanto en la estabilidad de la materia prima como en su olor y sabor (Kusu *et al.*, 1994). Se determina mediante una titulación con una base fuerte, usualmente se utiliza hidróxido de potasio (KOH), por lo cual su valor se expresa en mg de KOH necesarios para neutralizar un gramo de muestra (mg KOH/g).

2.7 Técnicas analíticas en grasas y aceites

La caracterización de grasas y aceites, particularmente de FFA, es crucial en diversas industrias como la alimentaria, farmacéutica y cosmética. Las técnicas de espectroscopia como la espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR), la cromatografía de gases acoplada a espectrometría de masas (GC-MS) y la espectroscopia de resonancia magnética nuclear de protones ($^1\text{H-NMR}$) desempeñan un papel vital en el análisis de ácidos grasos; estas técnicas proporcionan información valiosa sobre la estructura molecular, la composición y las propiedades de los ácidos grasos presentes en una muestra (Aslani & Armstrong, 2022).

La espectroscopia FTIR es utilizada para la identificación de grupos funcionales y ayuda a determinar el grado de insaturación en ácidos grasos (Guillén & Cabo, 1999). GC-MS es una poderosa herramienta empleada para separar, identificar y establecer una proporción de los ácidos grasos individuales presentes en una mezcla, mediante su derivatización a los respectivos metil ésteres antes de ser introducidos en la columna cromatográfica (Chiu & Kuo, 2020). $^1\text{H-NMR}$ proporciona una información más detallada sobre la estructura molecular de los ácidos grasos, además estima la proporción de FFA insaturados presentes en la muestra de ensayo utilizada (Siudem *et al.*, 2022).

La combinación de estas técnicas espectroscópicas permite la caracterización integral de los FFA, lo cual es esencial para garantizar la calidad y autenticidad de las grasas y los aceites. Además, estas técnicas tienen aplicaciones en la detección de adulteraciones, seguimiento de oxidación y desarrollo de nuevos productos con propiedades específicas (Ordoudi *et al.*, 2023).

3. Metodología

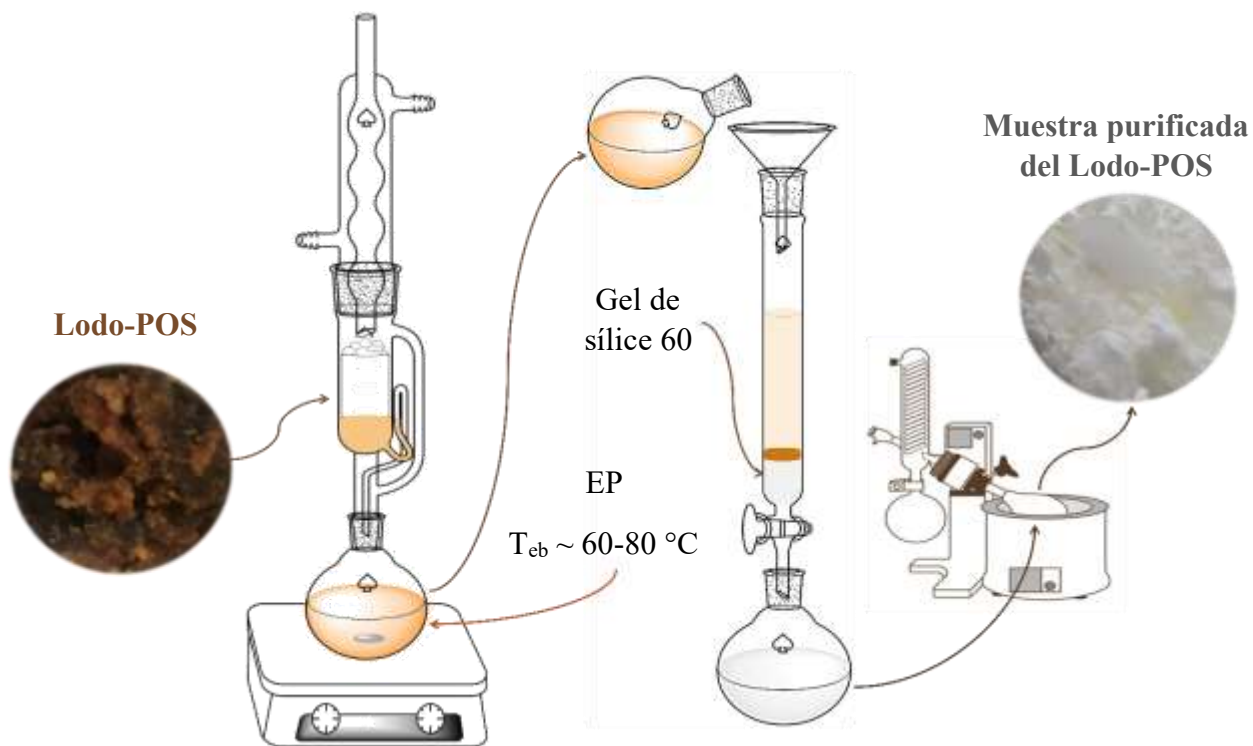
El material orgánico analizado provino de una muestra tomada de la tercera laguna facultativa de oxidación del complejo de purificación de aguas de la empresa *Palmas del Cesar S.A.* ubicada en el municipio de San Martín, Cesar.

3.1 Extracción de ácidos grasos por extracción Soxhlet

Inicialmente se realizó la extracción de los ácidos grasos libres mediante la extracción Soxhlet (extracción sólido-líquido). En el interior del Soxhlet se encajó un dedal de papel en el cual se depositó una porción de muestra ($16,5 \pm 1,0$ g) y se cubrió la parte superior del dedal con un pedazo de algodón, con el fin de evitar que el material semisólido se saliera del dedal una vez empezara el proceso de extracción. Por otra parte, un balón de fondo redondo de 500 mL se llenó hasta aproximadamente $2/3$ del volumen con éter de petróleo (EP) para realizar la correspondiente extracción sólido-líquido. Como se muestra en la Figura 5, se hizo encajar el Soxhlet con la muestra, junto con el balón con el EP, y adicionalmente se unió a un condensador que tenía circulación constante de agua para favorecer la condensación del solvente; posteriormente se sumergió el balón en un recipiente con aceite mineral y con ayuda de una placa de calentamiento, se inició el proceso de extracción calentando el sistema a 70 °C, se realizó un conteo de la cantidad de sifones que se hacían y se cronometró el tiempo hasta que completó el ciclo número 60.

Figura 5.

Montaje experimental para la extracción de la muestra de Lodo-POS utilizando el método de Soxhlet



Una vez finalizado el proceso de extracción se dejó enfriar el montaje para posteriormente filtrar el producto extraído utilizando una columna de cromatografía con una porción de sílica gel 60 marca Merck, previamente pesada (aproximadamente 14 g) y humedecida con EP, con el fin de separar aquellos compuestos que no correspondían a los ácidos grasos pero que de igual forma fueron extraídos por el EP. El filtrado se recogió en un balón de 500 mL para finalmente, con ayuda de un rotaevaporador y una bomba de vacío, separar el solvente de la muestra, obteniendo así la muestra purificada para poder realizar los respectivos análisis. Igualmente, se retiró el dedal de papel del Soxhlet, se dejó secar y posteriormente se pesó para saber el porcentaje de muestra que no fue extraída.

3.2 Caracterización de la fracción extraída del Lodo-POS proveniente de las lagunas facultativas

Cada uno de los ensayos enunciados a continuación se realizaron por triplicado; también se realizó un ensayo adicional para calcular el respectivo blanco en las pruebas del índice de yodo e índice de peróxidos, ensayos en los cuales se adicionaron todos los solventes y reactivos utilizados en la prueba, con las cantidades estipuladas, en el matraz utilizado, obviando únicamente la porción de muestra; se siguió la misma metodología planteada para cada uno de estos índices, se tituló de la misma forma en la que se enunció y finalmente se registró el volumen consumido del agente titulante.

3.2.1 Densidad (ICONTEC, 2016)

Para medir el volumen de la muestra se utilizó un picnómetro de 10 mL, como establece la norma NTC 336, el cual se pesó antes de realizar las respectivas mediciones. Con el fin de corroborar la calibración del picnómetro se calculó el error que tenía el mismo utilizando como comparación la densidad del agua, esta medición se hizo 5 veces.

Por otra parte, se fundió una porción de muestra en un vaso de precipitado y una vez estuvo completamente líquida se depositó en el picnómetro y se esperó a que se enfriara. Posteriormente se procedió a pesar el picnómetro nuevamente, en una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,001$ g, junto con la muestra en su interior. Finalmente se calculó la densidad correspondiente a

las porciones de muestra y se realizó la respectiva corrección con ayuda del error encontrado con las mediciones de agua.

3.2.2 Humedad y material volátil (ICONTEC, 2018)

Inicialmente se prepararon 3 cajas de Petri, las cuales se calentaron a 105 °C durante 1 hora con el fin de quitar la humedad de estas, se esperó a que se enfriaran dejándolas en un desecador y se pesó la caja vacía, utilizando una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,0001$ g, posteriormente se depositaron aproximadamente 4 gramos de muestra en cada una de las cajas de Petri, utilizando la misma balanza, las cuales se sometieron a una temperatura de 105 °C durante 3 horas en un horno. Finalmente, se extrajeron las cajas de Petri con muestra del horno y se depositaron en el desecador, donde se dejaron enfriar para luego pesarlas y verificar por diferencia de masas cuál era la humedad presente en la muestra, como establece la NTC 287.

3.2.3 Contenido de cenizas (ISO, 2008)

Se pesó 1 gramo de muestra en cada uno de los crisoles, utilizando nuevamente una balanza analítica con precisión de $\pm 0,0001$ g, empleando la muestra usada anteriormente en la prueba de humedad y materia volátil; se ubicaron los crisoles en una placa de calentamiento con el fin de reducir la muestra antes de ponerlas en la mufla, se calentó a 250 °C durante 3 horas aproximadamente, en cabina de extracción. Una vez dejó de burbujear la muestra y de generar combustión se apagó la placa, posteriormente siguiendo la norma ISO 6884 se dejaron en la mufla a 550 °C durante 4 horas.

Nota: la temperatura se aumentó de manera lenta dejando un tiempo de estabilización de 10 min cada 100 °C.

3.2.4 Punto de fusión (ICONTEC, 2013)

El punto de fusión se determinó utilizando dos capilares y un termómetro como establece la NTC 213. En los capilares se ubicó una porción de muestra en cada uno de ellos (a una altura de aproximadamente 1 cm) del Lodo-POS extraído y purificado, y se amarraron con una liga al termómetro. Posteriormente, se calentó la muestra 5 – 10 °C por encima del punto de fusión esperado con el fin de observar la temperatura a la cual la muestra se funde por completo. Posteriormente se dejó enfriar los capilares con la muestra y se inició el calentamiento lentamente en un baño de agua, se observó el momento en el cual la muestra pasa de estado sólido a estado líquido y se registró el valor que se mostraba en el termómetro como punto de fusión.

3.2.5 Índice de acidez (ICONTEC, 2011a)

Siguiendo lo establecido en la norma NTC 218, inicialmente se depositaron 50 mL de etanol en un erlenmeyer de 250 mL, a los cuales se le añadieron unas gotas de fenolftaleína y un agitador magnético, para posteriormente calentar hasta ebullición y neutralizar con una solución etanólica de hidróxido de sodio (NaOH) 0,1 M. Previamente, en un erlenmeyer de 250 mL se pesaron 0,4 – 0,5 gramos de muestra, en una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,001$ g, a los cuales se les añadieron los 50 mL de etanol neutralizados anteriormente junto con el agitador, se agregaron nuevamente unas gotas de fenolftaleína, se calentó hasta ebullición y finalmente, se

procedió a titular con la solución etanólica de NaOH 0,1M. Se reportó el volumen gastado de la solución etanólica de NaOH, se realizó la medición del blanco y con estos datos se calculó el índice de acidez de la muestra.

3.2.6 Índice de yodo (ICONTEC, 2019)

Siguiendo lo establecido en la norma NTC 283, se pesó 0,2 gramos de muestra, con una precisión de $\pm 0,0001$ g, en un erlenmeyer de 500 mL con tapa, a este se le adicionó 20 mL de cloroformo y una vez disuelta la muestra se añadió 25 mL del reactivo de Wijs 0,1 M (1,8 gramos de monocloruro de yodo en 100 mL de ácido acético glacial); posteriormente se tapó el erlenmeyer, se agitó y se dejó reposar en un lugar oscuro durante 30 min. Una vez transcurrido este tiempo se añadieron 20 mL de una solución acuosa de yoduro de potasio (150 g/L) seguidos de 150 mL de agua. Inmediatamente se tituló la muestra con una solución de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$) 0,1 M hasta que cambió su coloración a amarillo, en este momento se adicionaron unas gotas de almidón (10 g/L) cambiando nuevamente la coloración a negro; finalmente, se continuó la titulación hasta que la solución se tornó incolora y se reportó el volumen gastado de la solución de tiosulfato.

Por último, se realizó la medición del blanco y con este dato y el reportado anteriormente, se calculó el índice de yodo correspondiente a la muestra; sin embargo, dado que se encontró un valor menor a 50 $\text{gI}_2/100\text{g}$, el cual era el valor esperado, se repitió la prueba dos veces más utilizando un porción de muestra de aproximadamente 0,4 gramos, como se especifica en la norma.

3.2.7 Índice de peróxido (ICONTEC, 2011b)

Siguiendo la norma NTC 236, se pesaron inicialmente 4 gramos de muestra en un erlenmeyer de 250 mL, utilizando una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,001$, al cual se le adicionaron 30 mL de una solución 3:2 de ácido acético : cloroformo para disolver la muestra, por lo cual se agitó vigorosamente. Luego se añadieron 0,5 mL de una solución saturada de yoduro de potasio (14 g KI / 8 mL H₂O destilada) y se agitó suavemente con el erlenmeyer tapado. Se mantuvo en reposo a temperatura ambiente durante un minuto e inmediatamente se adicionaron 30 mL de agua. Posteriormente, se tituló la muestra con una solución de tiosulfato de sodio (Na₂S₂O₃) 0,1 M hasta que su coloración cambió a un amarillo pálido, inmediatamente, se adicionaron unas gotas de almidón (10 g/L) cambiando al instante su coloración a negro; finalmente, se continuó titulando hasta que la solución se tornó incolora y se reportó el volumen de tiosulfato gastado. Por último, se realizó la medición del blanco, con este valor y el reportado anteriormente, se calculó el índice de peróxido correspondiente a la muestra.

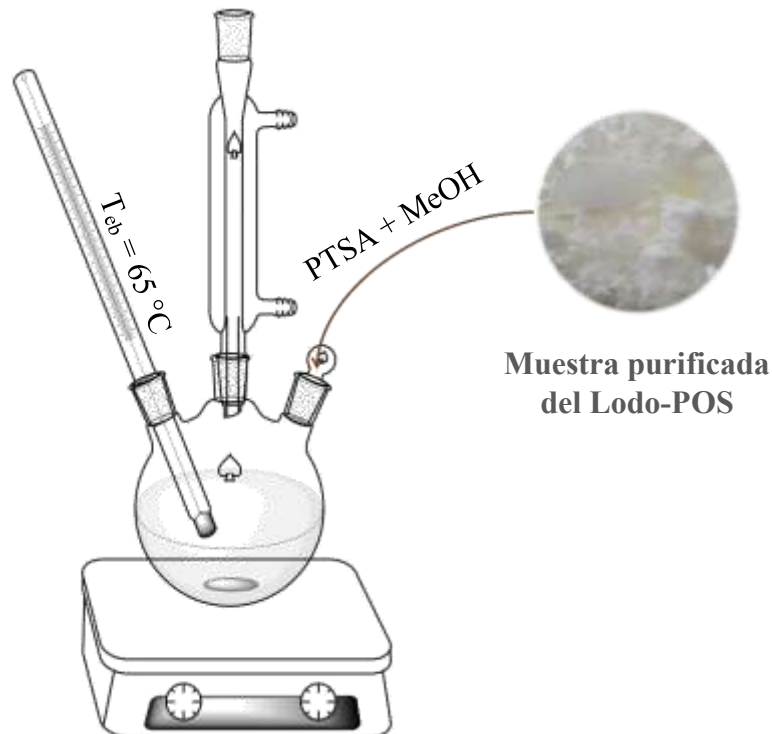
3.3 Preparación de metil ésteres de ácidos grasos (FAMEs)

Siguiendo la metodología de Hayyan y colaboradores (Hayyan *et al.*, 2010), se pesaron 5 gramos del Lodo-POS extraído y purificado, con una precisión de $\pm 0,001$ g, en un balón de tres bocas de fondo redondo, al cual se le adicionaron 50 mL de metanol y 0,080 g de ácido *p*-toluenosulfónico, PTSA, el cual se utilizó como catalizador de la reacción; posteriormente se adicionó suavemente un agitador magnético y se conectó el balón a un condensador, proporcionando enfriamiento constante, el montaje se ubicó en un baño de aceite y se inició el

calentamiento a 65 °C con una agitación constante de 300 rpm durante 3 horas de reflujo, como se observa en la Figura 6.

Figura 6.

Montaje para la esterificación de FFA, formación de metil ésteres de ácidos grasos (FAMEs)



Una vez transcurrido el tiempo de reacción, se dejó enfriar el montaje, se extrajo una alícuota y se depositó en un vial de 10 mL, se le adicionó bicarbonato de sodio (NaHCO_3) y H_2O para neutralizar el catalizador y los FFA que pudieran quedar sin reaccionar. Se adicionó diclorometano (CH_2Cl_2), se tapó el vial con su respectivo septum y mediante agitación manual se realizó una microextracción. Se observó la separación de las fases y se extrajo la fase acuosa con una pipeta de Pasteur, a la fase orgánica se le adicionó sulfato de sodio (Na_2SO_4) para eliminar el

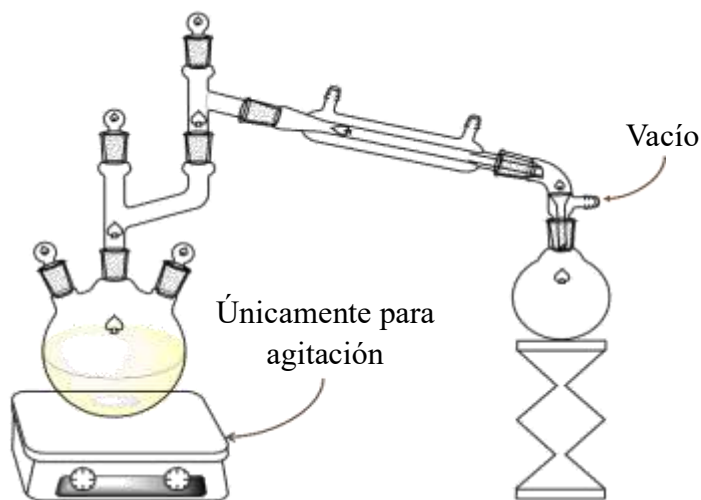
agua remanente. Finalmente, con ayuda de una pipeta de Pasteur se depositó la fase orgánica en otro vial y se procedió a realizar cromatografía en capa fina, con el fin de observar el avance de la obtención de los FAMES y la ausencia de los FFA.

Se hizo el análisis por cromatografía de capa fina, en una lámina de sílica gel 60 marca Merck, en la cual se sembraron tres muestras: (1) La mezcla de los FFA de la muestra purificada del Lodo-POS disuelta en CH_2Cl_2 . (2) La mezcla de FAMES producto de la esterificación y posterior extracción con CH_2Cl_2 . (3) Una mezcla de (1) y (2), es decir se sembró una parte de los FFA y otra de los FAME. Posteriormente, se corrieron las muestras utilizando como fase móvil una mezcla de EP:AcOEt 20:1, se observó el resultado en la lámpara UV a una longitud de onda de 254 nm y se realizó el respectivo revelado utilizando una solución de ácido fosfomolibdico, $\text{H}_3\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}$, en ácido sulfúrico (1,0 g de CeSO_4 , 6,0 mL de H_2SO_4 concentrado, 2,5 g de $\text{H}_3\text{PO}_4(\text{MoO}_3)_{12}$ y se afora con agua destilada hasta 100 mL).

Una vez observado en la capa fina que el producto final de FAMES no contenía más precursor (FFA), se enfrió el reactor, y se extrajo el crudo de la reacción, al cual se le adicionó 0,040 g aproximadamente, con una precisión de $\pm 0,001$ g, de bicarbonato de sodio (NaHCO_3), nuevamente con el fin de neutralizar el catalizador que se encontraba en el medio. Al balón de tres bocas se le unió un montaje de destilación como se muestra en la Figura 7 con el fin de retirar el metanol que se encontraba en exceso y quedó sin reaccionar, sin embargo, no se utilizó calentamiento para destilar el MeOH, sino que se hizo únicamente con vacío.

Figura 7.

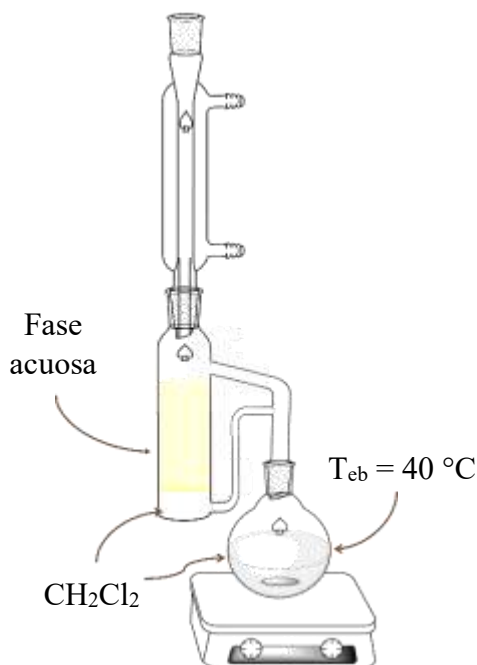
Montaje experimental para la destilación del metanol



Una vez retirado el metanol se desmontó el sistema de destilación y se adicionó una solución saturada de NaHCO_3 (9,3 g NaHCO_3 / 100 mL agua) para que el sistema quedara en un pH básico. Se realizó el respectivo montaje de extracción líquido-líquido, para solventes más densos que el agua, utilizando CH_2Cl_2 como agente extractor. Siguiendo el montaje que se muestra en la Figura 8, se adicionó 150 mL de CH_2Cl_2 en un balón fondo redondo de 250 mL, el cual se conectó al extractor líquido-líquido y se depositaron 40 mL de CH_2Cl_2 para luego añadir la mezcla acuosa básica de bicarbonato con los ésteres; tanto el balón de tres bocas como el vaso de precipitado donde se preparó la solución de bicarbonato se lavaron con CH_2Cl_2 , con el fin de disolver los FAMES que pudieran quedar en este material y se depositó en el extractor. Finalmente se conectó el condensador con flujo constante de agua y se inició el calentamiento en un baño de agua a 45 °C con agitación a 750 rpm.

Figura 8.

Montaje experimental para la extracción líquido-líquido con CH_2Cl_2 de FAMES



Al trascurso de 48 horas no se observó turbidez en la fase acuosa, por lo cual se dejó enfriar el montaje. El diclorometano en el extractor se pasó al balón con el CH_2Cl_2 que contenía ahora los ésteres metílicos y la fase acuosa se depositó en un vaso de precipitado de 250 mL. Como se mencionó anteriormente, al CH_2Cl_2 se le adicionó Na_2SO_4 para eliminar el agua remanente de la mezcla FAMES/ CH_2Cl_2 .

Se montó una columna para cromatografía con sílica gel 60 marca Merck, similar a la utilizada en el montaje realizado en la Figura 5, en la cual se filtraron los ésteres con el fin de eliminar el Na_2SO_4 , como fase móvil se utilizó CH_2Cl_2 y el filtrado se recogió en un balón fondo de redondo de 500 mL. Finalmente se ubicó el balón en el roto-evaporador, se calentó el baño de agua a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ y se procedió a retirar el CH_2Cl_2 sin utilizar vacío.

Por último, para la inyección de la muestra en el GC-MS se preparó una solución de los FAMES en CH₂Cl₂ al 0,05 % en masa, de la cual se hizo una dilución 1:1000 en CH₂Cl₂, para poder hacer la medición en el GC-MS. Se realizó una inyección de 0,1 µL de la muestra de FAMES en un cromatógrafo Agilent Technologies, con una columna HP-5MS UI 30m x 25µm Agilent (5% Fenil siloxano – 95% Metil siloxano), utilizando helio como gas de arrastre y una temperatura en el puerto de inyección de 225 °C. En la columna, sin embargo, se inició con una temperatura de 150° y se aumentó la temperatura de la siguiente forma: 3 °C/min hasta 200 °C, luego 5 °C/min hasta 220 °C y finalmente a 10 °C/min hasta 250 °C, temperatura a la cual se mantuvo por 10 min.

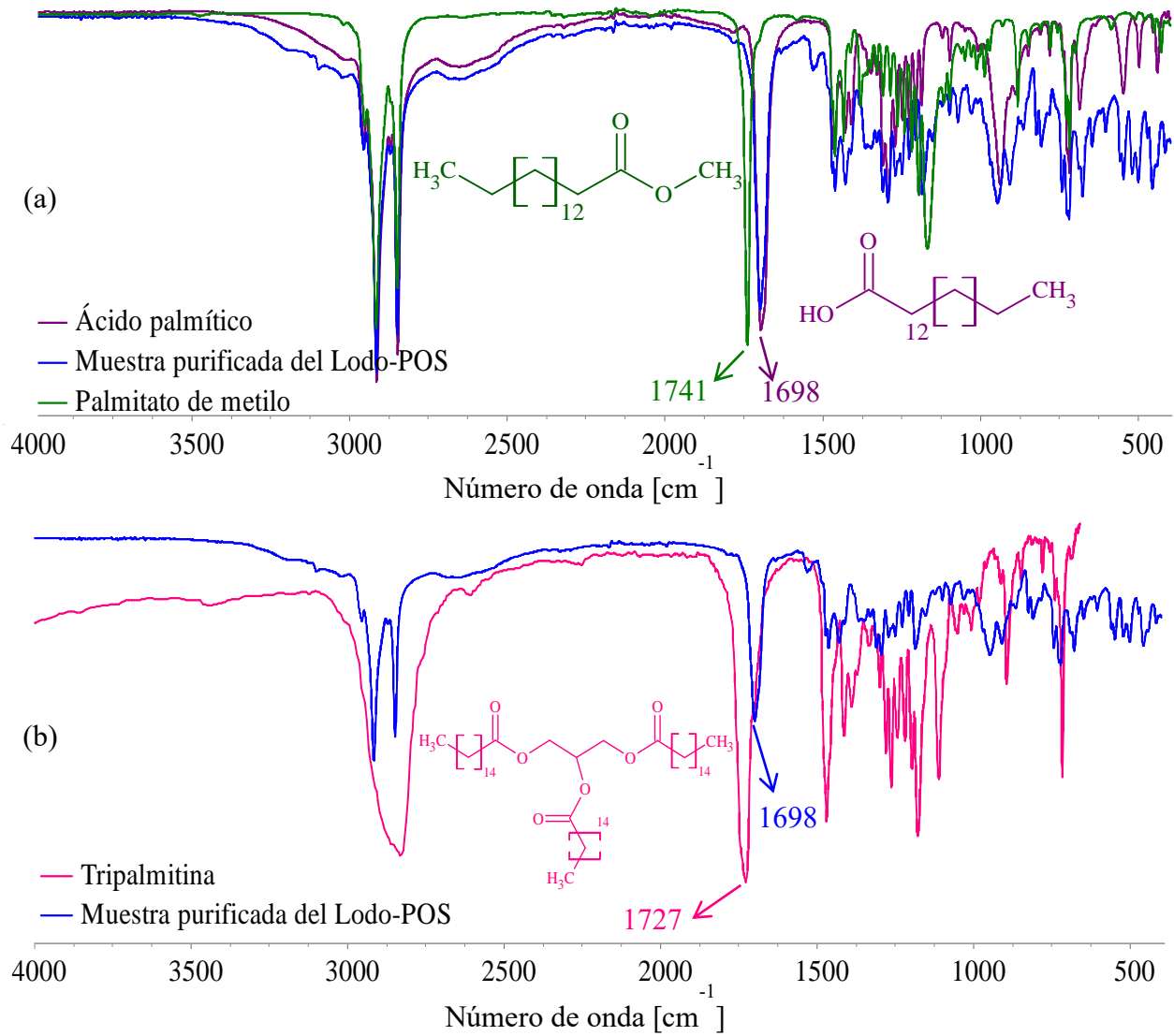
4. Resultados y discusión

En la Tabla C1, del Apéndice C, se muestran los datos registrados de las extracciones sólido-líquido realizadas para purificar el Lodo-POS y utilizarlo en los ensayos mencionados anteriormente. Como se observó en la Figura 5, en la Sección 3.1, fue posible purificar el Lodo-POS, pasando de tener una muestra de marrón a tener una muestra blanca, con un rendimiento de extracción de hasta 85% al transcurso de las 6 horas de extracción, como se puede apreciar en la Figura C1, del Apéndice C.

Se realizaron mediciones de espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) en un equipo *Jasco FT/IR-4X* en una celda ATR, sobre la muestra purificada del Lodo-POS, con el fin de compararla con dos patrones, uno de ácido graso (ácido palmítico) y otro de un éster metílico de ácido graso (palmitato de metilo).

Figura 9.

Comparación de espectros infrarrojo



Nota: (a) Ácido palmítico (morado), palmitato de metilo (verde) y muestra purificada del Lodo-POS (azul). (b) Tripalmitina (rosado) y muestra purificada del Lodo-POS (azul).

En la Figura 9(a) se observa la comparación antes mencionada, en la cual se evidencia que la muestra corresponde principalmente a ácidos grasos, debido a la presencia de la banda correspondiente al estiramiento C=O en 1698 cm^{-1} , característica de los ácidos carboxílicos.

También se confirma que el Lodo-POS no posee glicéridos en su composición debido a que la banda del estiramiento C=O, característica de los ésteres, se desplaza hacia números de onda mayores, en comparación con la de los ácidos carboxílicos; para el palmitato de metilo esta señal se encuentra en 1741 cm^{-1} y para la tripalmitina, la señal correspondiente al éster del glicérido se encuentra en 1727 cm^{-1} (ver Figura 9(b)).

La muestra purificada del Lodo-POS, que aparece en el espectro de color naranja, muestra alrededor de 3000 cm^{-1} las bandas anchas características de las vibraciones de tensión del H-O (incluyendo la señal en 2600 cm^{-1}) típica de los ácidos grasos.

A continuación, se muestran los resultados de las pruebas realizadas de los índices estructurales y de calidad, junto con el perfil de ácidos grasos obtenidos en el GC-MS a través de la esterificación de los FFA, una comparación de ácidos saturados e insaturados determinados utilizando $^1\text{H-RMN}$, y finalmente se realiza una comparación de los datos obtenidos en este proyecto con los datos reportados en la literatura para otros Lodos-POS.

4.1 Densidad

Inicialmente con las determinaciones de la densidad del agua en el picnómetro, se encontró que en promedio (utilizando el picnómetro de 10 mL) la densidad del agua tuvo un valor experimental de $0,98\text{ g/mL}$ a temperatura ambiente (ver Apéndice D). Utilizando la Ecuación 1 se comparó el valor experimental obtenido junto con el valor reportado de la misma a $25\text{ }^\circ\text{C}$, el cual según la NTC 336 es de $0,995\text{ g/mL}$, encontrando que el picnómetro posee un porcentaje de error

correspondiente a 1,40 %. Con este dato fue posible realizar la determinación de la densidad de la muestra con confiabilidad.

$$\%E = \frac{|\text{Valor}_{\text{Experimental}} - \text{Valor}_{\text{Real}}|}{\text{Valor}_{\text{Real}}} \times 100 \quad (1)$$

$$\text{Valor}_{\text{Real}} = \frac{\text{Valor}_{\text{Experimental}}}{1 + \frac{\%Error}{100}} \quad (2)$$

Al realizar las mediciones para la muestra se encontró que esta tenía un valor de densidad promedio de 0,91 g/mL, como se puede observar en la Tabla 2; utilizando el porcentaje de error calculado anteriormente, se encontró el valor corregido de densidad para la muestra al hacer la respectiva regresión, utilizando la Ecuación 2, encontrando que la densidad a 25 °C de la muestra de interés, la muestra purificada para el análisis proveniente del Lodo-POS, es de 0,894 g/mL con una desviación estándar de $\pm 0,003$.

Tabla 2.

Datos registrados en la determinación de densidad para la muestra purificada del Lodo-POS

	Peso Promedio (g)	Volumen (mL)	Densidad Experimental (g/mL)	Densidad Corregida (g/mL)
Picnómetro	15,574			
Picnómetro + Muestra	24,647	10	0,907	0,895
Muestra	9,073			

Picnómetro	15,573			
Picnómetro + Muestra	24,609	10	0,904	0,891
Muestra	9,036			
Picnómetro	15,574			
Picnómetro + Muestra	24,684	10	0,911	0,898
Muestra	9,110			
Picnómetro	15,575			
Picnómetro + Muestra	24,616	10	0,904	0,892
Muestra	9,041			

4.2 Humedad y materia volátil

Se midió el porcentaje de humedad y materia volátil mediante diferencia de pesos antes y después del calentamiento a 105 °C; los datos se encuentran registrados en la Tabla 3. Se encontró que la humedad promedio corresponde a 2,58 % \pm 0,03, lo cual corresponde a una cantidad mínima de materia volátil y agua presente en la muestra.

Tabla 3.

Datos registrados en la determinación de humedad y materia volátil

	Peso 1 (g)	Peso 2 (g)	Peso 3 (g)	Promedio (g)
Caja Petri #1	91,9005	91,9004	91,9005	91,9005
Caja Petri #1 + Muestra	95,9932	95,9930	95,9932	95,9931
Muestra ^(a)				4,0927
Caja Petri #1 + Muestra	95,8876	95,8877	95,8879	95,8877
Muestra ^(d)				3,9873
% Humedad y materia volátil #1				2,58%
Caja Petri #2	95,4487	95,4487	95,4488	95,4487
Caja Petri #2 + Muestra	99,4569	99,4571	99,4570	99,4570
Muestra ^(a)				4,0083
Caja Petri #2 + Muestra	99,3523	99,3525	99,3525	99,3524
Muestra ^(d)				3,9037
% Humedad y materia volátil #2				2,61%
Caja Petri #3	88,2294	88,2293	88,2294	88,2294
Caja Petri #3 + muestra	93,1778	93,1779	93,1779	93,1779
Muestra ^(a)				4,9485
Caja Petri #3 + Muestra	93,0513	93,0513	93,0513	93,0513

Muestra ^(d)	4,8219
% Humedad y materia volátil #3	2,56%

Nota: (a) Antes del calentamiento. (d) Después del calentamiento a 105 °C.

4.3 Contenido de cenizas

Igualmente, por diferencia de pesos, se determinó el porcentaje de cenizas presente, tanto en la muestra purificada de Lodo-POS (Tabla 4) como la muestra tomada directamente del Lodo-POS colectado de la laguna (Tabla 5), con el fin de identificar la relación de materia inorgánica presente en las muestras.

Tabla 4.

Valores registrados en la determinación de porcentaje de cenizas de la muestra purificada del Lodo-POS

	Peso 1 (g)	Peso 2 (g)	Peso 3 (g)	Promedio (g)
Crisol #1	18,3571	18,3571	18,3571	18,3571
Crisol #1 + Muestra	19,3171	19,3171	19,317	19,3171
Muestra ^(a)				0,9600
Crisol #1 + Muestra Calcinada	18,3571	18,357	18,3571	18,3571
Muestra ^(d)				0,0000
% Cenizas #1				0,00%

Crisol #2	51,6458	51,6458	51,6458	51,6458
Crisol #2 + Muestra	52,6807	52,6807	52,6806	52,6807
Muestra ^(a)				1,0349
Crisol #2 + Muestra Calcinada	51,6458	51,6458	51,6458	51,6458
Muestra ^(d)				0,0000
% Cenizas #2				0,00%
Crisol #3	28,2361	28,236	28,2359	28,2360
Crisol #3 + muestra	29,3277	29,3275	29,3275	29,3276
Muestra ^(a)				1,0916
Crisol #3 + Muestra Calcinada	28,2361	28,2360	28,2360	28,2360
Muestra ^(d)				0,0000
% Cenizas #3				0,00%

Nota: (a) Antes del calentamiento. (d) Después de calcinar a 550 °C.

Tabla 5.

Valores registrados en la determinación de porcentaje de cenizas del Lodo-POS crudo, sin extraer por Soxhlet ni purificar con sílica gel

	Peso 1 (g)	Peso 2 (g)	Peso 3 (g)	Promedio (g)
Crisol #4	17,9241	17,9242	17,924	17,9241
Crisol #4 + Muestra	19,0591	19,0593	19,0593	19,0592

	Muestra ^(a)			1,1351
Crisol #4 + Muestra Calcinada	17,9261	17,9261	17,9261	17,9261
	Muestra ^(d)			0,0020
	% Cenizas #4			0,18%
Crisol #5	18,5152	18,5152	18,5153	18,5152
Crisol #5 + Muestra	19,8594	19,8594	19,8593	19,8594
	Muestra ^(a)			1,3441
Crisol #5 + Muestra Calcinada	18,517	18,5171	18,517	18,5170
	Muestra ^(d)			0,0018
	% Cenizas #5			0,13%
Crisol #6	24,5622	24,5622	24,5622	24,5622
Crisol #6 + Muestra	25,6895	25,6895	25,6895	25,6895
	Muestra ^(a)			1,1273
Crisol #6 + Muestra Calcinada	24,5639	24,5639	24,5638	24,5639
	Muestra ^(d)			0,0017
	% Cenizas #6			0,15%

Nota: (a) Antes del calentamiento. (d) Después de calcinar a 550 °C.

Se encontró que el Lodo-POS muestreado tiene un porcentaje promedio de materia inorgánica de 0,15% con una variación de $\pm 0,02$. Por el contrario, se confirmó que con el proceso

de extracción Soxhlet utilizando el éter de petróleo y su posterior filtración en columna, se extrajo únicamente materia orgánica, dado que el porcentaje de cenizas para estas porciones de muestra fueron en todos los casos de 0,0%.

4.4 Punto de fusión

Inicialmente, se observó que la muestra funde parcialmente a 43 °C y se funde completamente a 46 °C, por lo cual en la Tabla 6 se establecen rangos de temperatura de fusión en vez de un valor específico para este parámetro.

Tabla 6.

Rangos de temperatura registrados en la medición del punto de fusión

Ensayo #	Temperatura Inicial (°C)	Temperatura Final (°C)
1	43	45
2	44	46
3	43	46
4	43	46

Se observan rangos de temperatura debido a que la muestra purificada del Lodo-POS es una mezcla de ácidos grasos, los cuales tienen valores diferentes para sus respectivos puntos de fusión. El ácido palmítico, encontrado en mayor proporción en el Lodo-POS, según la literatura, funde a 62,9 °C (Francis *et al.*, 1937), en cambio, el ácido oleico tiene un punto de fusión que le

permite ser líquido a temperatura ambiente, 15 °C (Scheffers, 1927). Al tener una mezcla de ácidos grasos esta posee un punto de fusión con un valor intermedio entre los puntos de fusión de las sustancias puras, por ello el estado físico del Lodo-POS, a temperatura ambiente, no es ni sólido ni líquido, debido a la proporción de estos ácidos en su composición. Gracias al porcentaje de ácido oleico presente en la muestra, se aprecia que esta tiene una apariencia semisólida, con más características de sólido que de líquido, por lo cual es posible clasificarlo como una grasa.

4.5 Índice de acidez (Acidity Value, AV)

Inicialmente se tomaron entre 0,4 – 0,5 g como se mencionó en la sección 3.2.5, gastando un volumen promedio de 13,6 mL de la solución de NaOH 0,1 M (la cual se estandarizó utilizando 0,1999 g de ftalato ácido de potasio, encontrando que la solución tiene una concentración de 0,099 M), obteniendo un valor para el índice de acidez de 172,7 – 173,2 mg KOH / g, el cual se determinó utilizando la Ecuación 3,

$$AV = \frac{56,1 \times V \times C}{m} \quad (3)$$

donde V corresponde al volumen de NaOH en mL gastado en la medición, m hace referencia a los gramos de la porción de muestra empleada en el ensayo y C es la concentración de la solución de NaOH (M). Cabe recalcar que, ya que el AV se basa en la cantidad de equivalentes necesaria para neutralizar los ácidos grasos, no hay ningún inconveniente si se utiliza NaOH o KOH como base neutralizadora, dado que ambas tienen la misma cantidad de equivalentes.

Tabla 7.*Valores registrados en la medición del índice de acidez (AV)*

	Cantidad de muestra (g)	Volumen de solución de NaOH 0,099 M consumido (mL)	Índice de acidez (mg KOH / g)
Muestra 1	0,458	14,30	173,19
Muestra 2	0,414	12,90	172,70
Muestra 3	0,437	13,60	172,76

En la Tabla 7, se observan los valores encontrados en las mediciones realizadas para la determinación de este parámetro, observando un valor significativamente alto de acidez, 172,88 mg KOH / g en promedio, con una desviación estándar de $\pm 0,27$, mostrando que la muestra purificada del Lodo-POS está formada principalmente por ácidos grasos.

4.6 Índice de yodo (Iodine Value, IV)

Inicialmente se determinó el blanco, el cual consumió un volumen de 43,2 mL de la solución 0,1 M de tiosulfato de sodio ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$). Teniendo en cuenta que, según la literatura, el valor del IV esperado para este tipo de muestra es aproximadamente de 53 y la NTC establece que se emplean 0,2 g de muestra para este valor de IV, se utilizó una porción de muestra de 0,2102 g, gastando en su valoración un volumen de 38,8 mL de la solución 0,1 M de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$. Utilizando la Ecuación 4 se encontró que el IV de la muestra es de 26,56 g I_2 / 100 g. Por lo tanto y según la norma, la cantidad de muestra utilizada para la valoración debe ser mayor, por lo cual para los

siguientes dos ensayos se utilizó una porción de muestra cercana a 0,4 g. Los datos de volumen gastado de solución 0,1 M de Na₂S₂O₃, junto con los pesos de muestra utilizados, se muestran en la Tabla 8.

$$IV = \frac{12,69 \times C \times (V_1 - V_2)}{m} \quad (4)$$

donde C es la concentración de la solución del Na₂S₂O₃, V₁ es el volumen en mililitros de la solución de Na₂S₂O₃ gastado en el blanco, V₂ corresponde al volumen en mililitros de la solución de Na₂S₂O₃ gastado en la valoración de la muestra y m hace referencia a la cantidad en gramos de muestra utilizada en el ensayo.

Tabla 8.

Valores registrados en la medición del índice de yodo (IV)

	Cantidad de muestra (g)	Volumen de la solución 0,1 M de Na ₂ S ₂ O ₃ gastado (mL)	Índice de yodo (g I ₂ / 100 g)
Blanco	0	43,20 ^(a)	-----
Muestra 1	0,2102	38,80 ^(b)	26,56
Muestra 2	0,4039	34,70 ^(b)	26,71
Muestra 3	0,4027	34,80 ^(b)	26,47

Nota: (a) Volumen (V₁) gastado en la valoración del blanco. (b) Volumen (V₂) gastado en la valoración de la muestra.

Finalmente se encontró que el IV de la muestra purificada del Lodo-POS era en promedio de 26,58 g I₂ / 100 g con una variación de ±0,12. Dado que valor del IV en este caso es menor que el reportado en la literatura para el lodo de aceite de palma, el cual es de 52 g I₂ / 100 g (Hayyan *et al.*, 2011), se espera una menor cantidad de ácidos grasos con insaturaciones, lo cual se confirma con las mediciones del perfil de FAMES en el GC-MS (Sección 4.8), mostrando que el Lodo-POS de San Martín, Cesar, contiene en su mayoría FFA saturados.

4.7 Índice de peróxidos (Peroxide Value, PV)

Inicialmente se determinó el blanco utilizando los reactivos empleados en el ensayo sin la porción de muestra; sin embargo, dado que este no cambió su coloración en ningún momento, ni después de que pasara el tiempo en la oscuridad, ni adicionando el almidón al 1%, se tomó este valor como cero.

Debido que no se conocía el valor de PV para la muestra, se tomaron 5,013 g de muestra, según lo establecido en la NTC 235; sin embargo, dado que fue difícil disolver la muestra en la mezcla de ácido acético : cloroformo, se optó por proseguir con la titulación utilizando la solución de Na₂S₂O₃ 0,1 M, gastando 5,9 mL en el ensayo. Como la norma establece utilizar una solución de Na₂S₂O₃ 0,01 M, se disminuyó la cantidad de la muestra a 2 g aproximadamente, donde de igual forma se encontró un valor de PV muy cercano al de la medición mencionada anteriormente, valor que se determinó utilizando la Ecuación 5,

$$PV = \frac{(V_1 - V_0) \times C \times 1000}{m} \quad (5)$$

donde V_1 corresponde al volumen de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ en mL gastado en la medición de la muestra, V_0 hace referencia igualmente al volumen de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ en mL utilizado en el blanco, C representa la concentración de la solución de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ en mol/L y m es el peso de la porción de muestra utilizada en la medición.

Tabla 9.

Valores registrados en la medición del índice de peróxidos (PV)

	Cantidad de muestra (g)	Volumen de la solución 0,1 M de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilizado (mL)	Índice de peróxidos (meq O_2 / kg)
Blanco	0	0,00	-----
Muestra 1	5,013	5,90	117,70
	Cantidad de muestra (g)	Volumen de la solución 0,01 M de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ utilizado (mL)	Índice de peróxidos (meq O_2 / Kg)
Muestra 2	2,047	24,10	117,75
Muestra 3	2,004	23,60	117,74

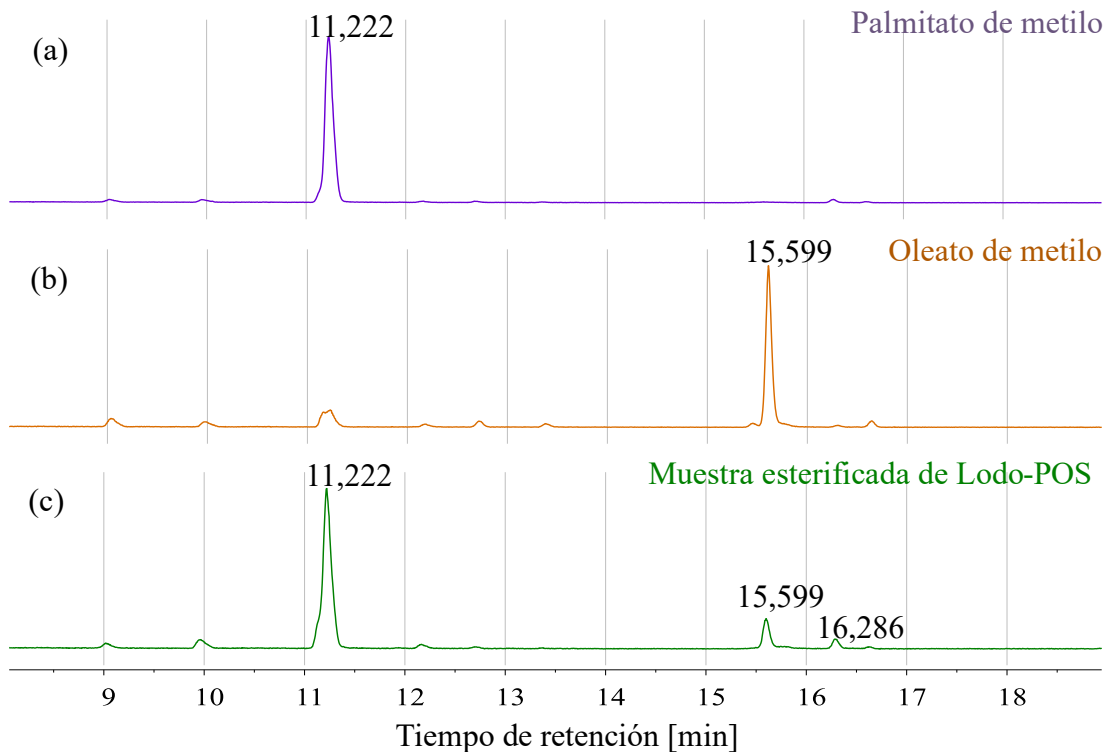
En la Tabla 9 se observan los valores del peso de la muestra en gramos y los volúmenes de las soluciones de $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ gastados en cada uno de los ensayos. Finalmente se encontró que el valor del índice de peróxido para la muestra purificada del Lodo-POS tiene un valor de 117,73 meq O_2 / kg con una desviación estándar de $\pm 0,03$. Esto quiere decir que la muestra tiene un alto

porcentaje de oxidación, debido a la exposición prolongada a altas temperaturas, a la radiación solar y al oxígeno de la atmósfera durante la estadía en las lagunas de oxidación. Como valor de comparación, una muestra comercial de grasa o aceite tiene permitida su venta al público si su valor de PV no supera los 10 meq O₂ / kg, momento en el cual empieza a notarse la rancidez del producto (Kong & Singh, 2011).

4.8 Perfil de ácidos grasos mediante GC-MS

Figura 10.

Cromatogramas con sus respectivos tiempos de retención



Nota: (a) Patrón de palmitato de metilo. (b) Patrón de oleato de metilo. (c) Ésteres metílicos derivatizados de la muestra purificada del Lodo-POS.

Utilizando GC-MS sobre la muestra esterificada, se encontró que el FFA predominante en la muestra purificada del Lodo-POS es el ácido palmítico, ya que se encontró el palmitato de metilo con una proporción del 85 %. En la Figura 10 se muestra una comparación de los cromatogramas de los patrones (palmitato y oleato de metilo) con la muestra esterificada del Lodo-POS (FAMEs) y en la Tabla 10 se muestran los ésteres metílicos de ácidos grasos derivatizados de la muestra purificada del Lodo-POS con sus respectivos porcentajes, los cuales se identificaron con el software *MassHunter* en el equipo de GC-MS.

Tabla 10.

Ésteres metílicos de ácidos grasos presentes en la primera muestra esterificada del Lodo-POS

Metil éster de ácido graso	Ácido graso precursor	Proporción
Palmitato de metilo	Ácido palmítico	85%
Oleato de metilo	Ácido oleico	12%
Estearato de metilo	Ácido esteárico	3%

Nota: FAMEs obtenidos de la reacción de esterificación utilizando PTSA como catalizador.

Se observó que los tiempos de retención para los patrones del palmitato de metilo y el oleato de metilo son de 11,222 min (Figura 10(a), ver Apéndice E) y de 15,599 min (Figura 10(b), ver Apéndice F), respectivamente, siendo estos dos ésteres las sustancias principales en la porción de FAMES analizada, producto de la esterificación de la muestra purificada del Lodo-POS, como se observa en la Figura 10(c). Utilizando la base de datos del *NIST* se realizó una comparación de los espectros de fragmentación de masas de las señales en los cromatogramas. En la Figura E1 del Apéndice E se observa el espectro de fragmentación del palmitato de metilo con una masa nominal m/z de 270, teniendo un factor de coincidencia de 926 y una probabilidad de 94,3% según el programa *MS Search 2.3* (Mass Spectral Search Program). En la Figura F1 del Apéndice F, se aprecia el espectro de fragmentación del oleato de metilo el cual tiene un ion molecular con m/z de 296, con un factor de coincidencia de 902 y una probabilidad de 97,7% según el programa *MS Search 2.3*.

Utilizando los patrones de fragmentación fue posible confirmar que en la muestra se encuentran presentes los ácidos palmítico y oleico; sin embargo, en la Figura 10(c) se evidencia que la muestra presenta tres señales. En la Figura G1 del Apéndice G se observa el espectro de masas correspondiente a la tercer señal mostrada en el cromatograma, con un tiempo de retención de 16,286 minutos, la cual tiene una masa nominal de 298 m/z , correspondiente al estearato de metilo; comparándole con la base de datos *NIST* se encontró que tiene un factor de coincidencia de 849 y una probabilidad de 96% según el programa *MS Search 2.3*.

Con el software *MassHunter* del equipo de GC-MS fue posible determinar el área del pico y posteriormente la proporción de cada uno de los FAMES, donde se encontró que el palmitato

proveniente del ácido palmítico es el ácido predominante, siendo la mayor parte de la muestra (85 %); el ácido oleico, por el contrario, se encuentra en una proporción del 12 % de la muestra y por último, con un 3 % de proporción, se encuentra el estearato de metilo, proveniente del ácido esteárico (Ver Apéndice G).

Cabe recalcar que en el cromatograma en la Figura 10b, correspondiente al patrón preparado del oleato de metilo, se puede apreciar una señal en 11,222 min correspondiente al palmitato de metilo, debido a que, como se puede observar en el Apéndice H, el precursor empleado en la esterificación (ácido oleico) no se encontraba puro, sino que contenía en su composición trazas de otros ácidos grasos, especialmente, el ácido palmítico (≤ 16 %).

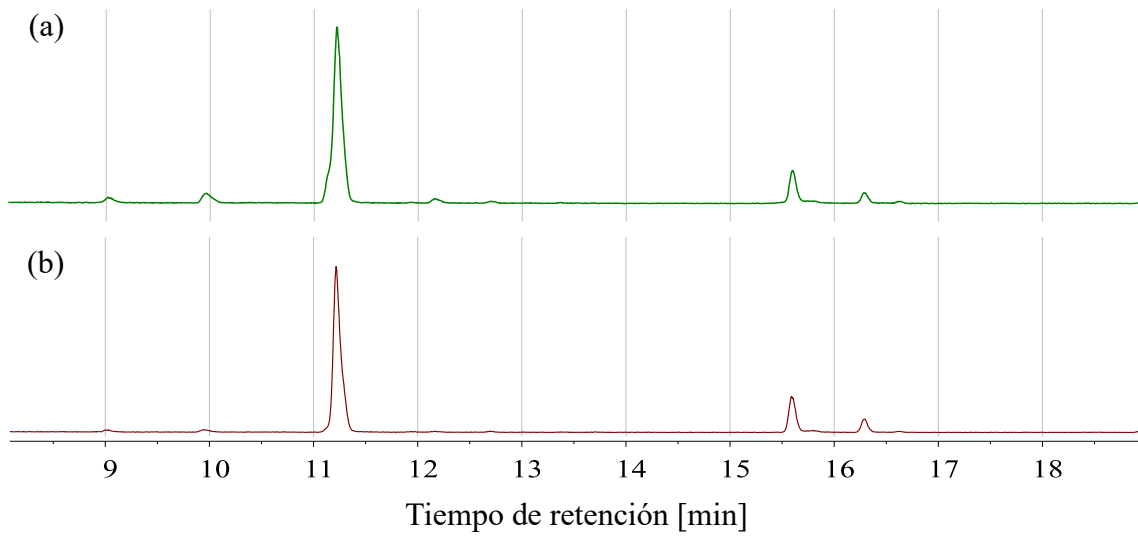
Se realizó una esterificación de la muestra purificada del Lodo-POS siguiendo la misma metodología descrita anteriormente en la sección 3.3, utilizando ácido sulfúrico (H_2SO_4) como catalizador en lugar del PTSA. Se realizó la respectiva medición por GC-MS con el fin de observar si había algún cambio respecto a la relación de los ácidos grasos presentes en la muestra o si se evidenciaba la presencia de otros FAMES diferentes a los encontrados anteriormente (Ver Apéndice I).

En la Figura 11 se observa una comparación de los cromatogramas de los ésteres metílicos de ácidos grasos obtenidos de la esterificación de la muestra purificada del Lodo-POS con los diferentes catalizadores. En esta figura se puede observar la presencia de las mismas señales en ambos cromatogramas, es decir, la reacción de esterificación con H_2SO_4 como catalizador presenta las mismas señales que las obtenidas de la reacción con el PTSA. Si bien la cantidad de ácido

palmítico registrado en la primera esterificación era de 85%, en la reacción con H_2SO_4 se obtuvo una mayor proporción del ácido oleico medido a través del oleato de metilo, como se muestra en la Tabla 11.

Figura 11.

Comparación de cromatogramas de ésteres metílicos derivatizados de la muestra purificada del Lodo-POS utilizando diferentes catalizadores



Nota: (a) Ésteres metílicos obtenidos utilizando PTSA. (b) Ésteres metílicos obtenidos utilizando H_2SO_4 .

Tabla 11.

Ésteres metílicos de ácidos grasos presentes en la segunda muestra esterificada del Lodo-POS

Metil éster de ácido graso	Ácido graso precursor	Proporción
Palmitato de metilo	Ácido palmítico	79%
Oleato de metilo	Ácido oleico	16%
Estearato de metilo	Ácido esteárico	5%

Nota: FAMES obtenidos de la reacción de esterificación utilizando H_2SO_4 como catalizador.

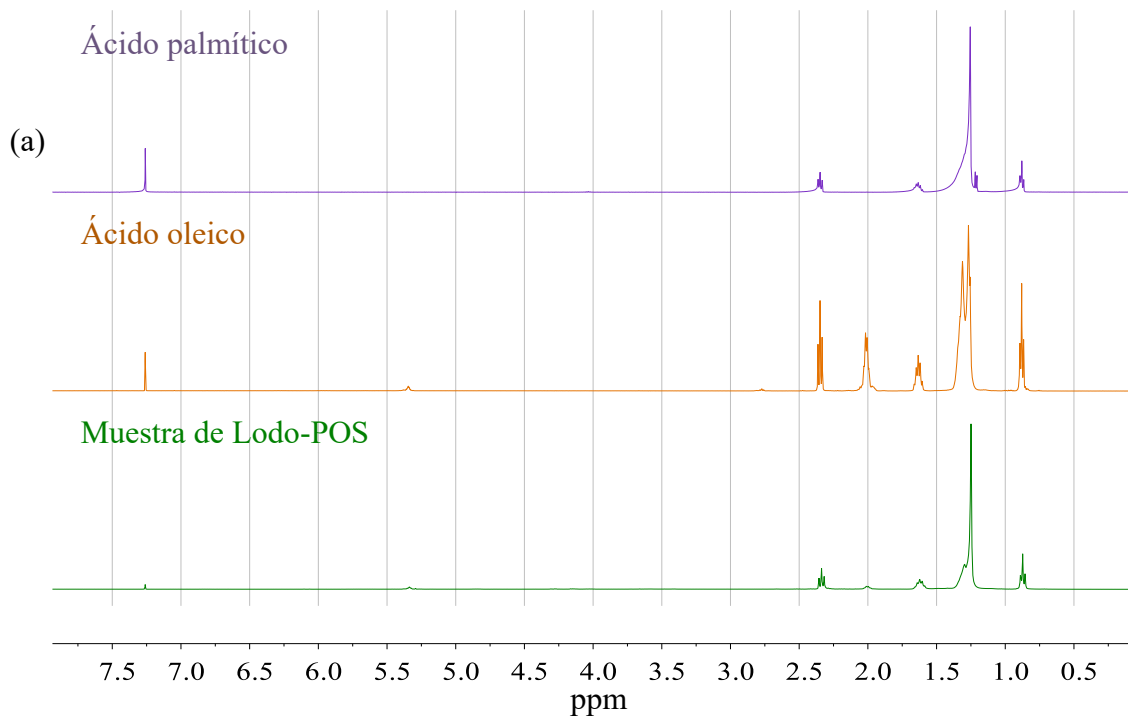
Aunque se observan las mismas señales de FAMES en las diferentes reacciones de esterificación, en la reacción utilizando el H_2SO_4 se registra una mayor proporción del oleato de metilo (ver Tabla 11) en comparación con el obtenido de la reacción con el PTSA (ver Tabla 10). Debido a la similitud en los resultados mostrados anteriormente se infiere que independiente de cuál catalizador ácido sea empleado en la reacción, se obtendrán resultados equivalentes relacionados con la proporción de ácidos grasos, mediante los respectivos FAMES, presentes en la muestra de Lodo-POS.

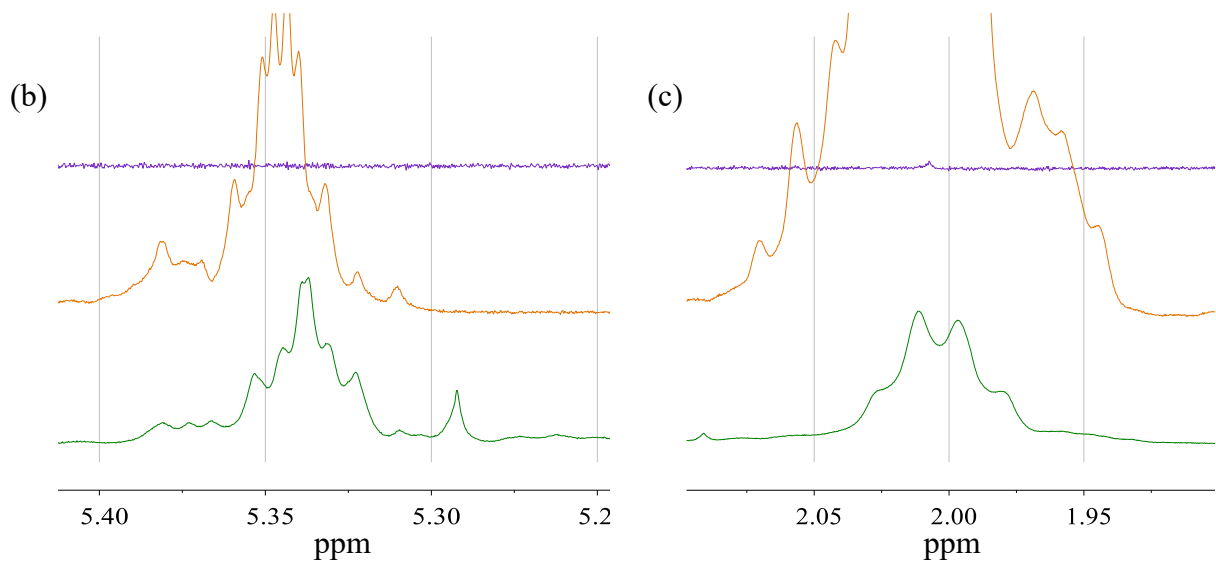
4.9 Identificación de ácidos grasos en el Lodo-POS mediante ^1H -RMN

Se realizó una medición en la muestra purificada del Lodo-POS por resonancia magnética nuclear (^1H -RMN) en el equipo *BRUKER Avance III* de 400 MHz. En la Figura 12 (a) se muestra una comparación de espectros ^1H -RMN para el ácido palmítico, el ácido oleico y el correspondiente espectro de la muestra analizada, en la cual se observa la presencia de FFA insaturados dadas las señales encontradas en los rangos de 5,2 a 5,4 ppm (Figura 12 (b)) y de 1,9 a 2,1 ppm (Figura 12 (c)).

Figura 12.

Espectros ^1H -RMN (CDCl₃, 400 MHz) del ácido palmítico, ácido oleico y muestra purificada del Lodo-POS





Nota: (a) Comparación de espectros ^1H -RMN para el ácido palmítico, el ácido oleico y la muestra purificada del Lodo-POS. (b) Ampliación de los espectros ^1H -RMN entre 5,4 y 5,2 ppm. (c) Ampliación de los espectros ^1H -RMN entre 2,1 y 1,9 ppm.

Con ayuda del programa Mestre Nova y la Tabla 12 se identificaron cada una de las señales encontradas en el espectro ^1H -RMN y se establecieron sus respectivas integrales, como se observa en la Figura 13, donde se encontró que: (a) La señal encontrada en 7,260 ppm corresponde a la señal residual del cloroformo-*d*, el cual se utilizó como disolvente. (b) Entre 5,388 y 5,289 ppm se encuentra la señal representativa de los hidrógenos olefínicos. (c) La señal presente entre 2,378 y 2,276 ppm corresponde a los hidrógenos del carbono alfa. (d) Los hidrógenos alílicos se observan en el rango de 2,063 y 1,933 ppm. (e) Entre 1,700 y 1,000 ppm se encuentran los hidrógenos presentes en los $-\text{CH}_2-$ de la cadena carbonada. (f) Finalmente, entre 0,956 y 0,777 ppm se muestran los hidrógenos presentes en el carbono terminal del ácido graso.

Tabla 12.

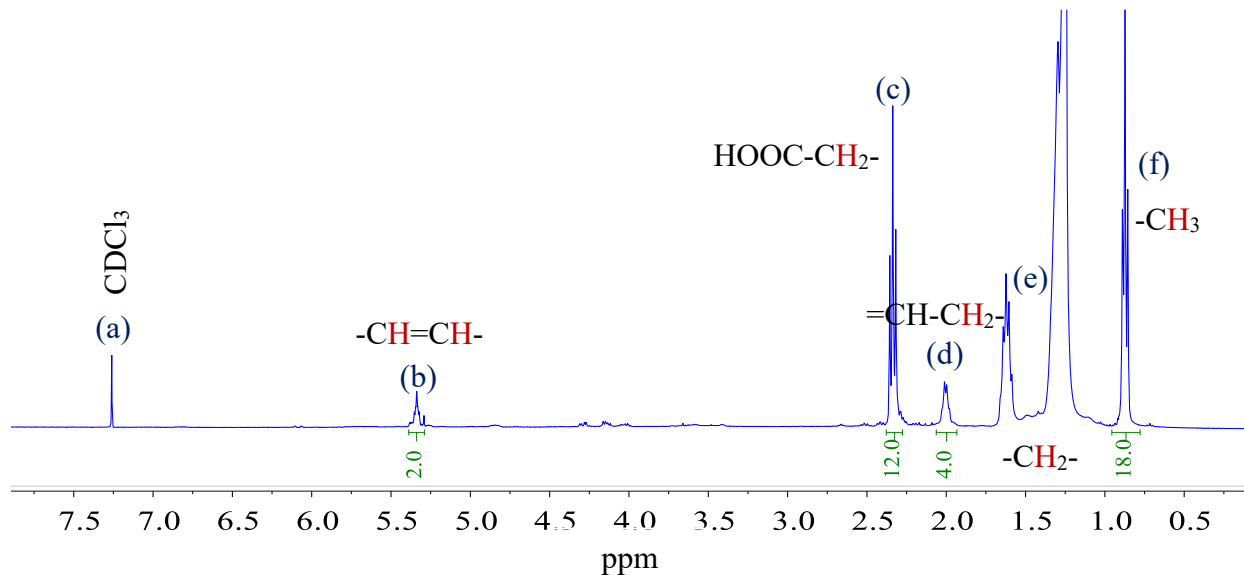
Corrimiento químico de las señales presentes en un espectro $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz) de ácidos grasos

Protón	Ácido Palmítico (16:0)	Ácido Esteárico (18:0)	Ácido Oleico (18:1)
=CH-			5.36
-CH ₂ -COOH	2.36	2.35	2.36
=CH-CH ₂ -			2.03
-CH ₂ -CH ₂ COOH	1.64	1.63	1.64
-CH ₂ -	1.24	1.25	1.30
-CH ₃	0.89	0.88	0.89

Nota: Adaptada de (Di Pietro *et al.*, 2020).

Figura 13.

Identificación de señales en el espectro $^1\text{H-RMN}$ (CDCl_3 , 400 MHz) de la muestra purificada del Lodo-POS



Se encontró que las señales identificadas como (b) y (d) en la Figura 13, son las señales representativas de los ácidos grasos insaturados, mientras que las señales (c), (e) y (f) se evidencian tanto en compuestos saturados como en insaturados. Siguiendo la relación encontrada entre las señales (b) y (d), se establece que solo hay un ácido graso insaturado, por lo cual, tomando como referencia la señal (c) correspondiente a los α -CH₂, el valor de la fracción de esta integral correspondiente al ácido insaturado tiene un valor de 2. El porcentaje de ácido graso insaturado (%AI) se determina como:

$$\%AI = \frac{I_{AI}}{I_{Total}} \times 100 \quad (6)$$

donde I_{AI} es el valor de la integral o el área correspondiente a los α -CH₂ pertenecientes al ácido insaturado y I_{Total} corresponde al valor total de la integral o al área total de la señal de los α -CH₂ en la mezcla de FFA (que equivale a 12, ver Figura 13). Utilizando la ecuación (6) (Di Pietro *et al.*, 2020), se encontró que la proporción de ácido insaturado en la muestra de Lodo-POS corresponde entonces a 16,66% y por lo tanto, el 83,44% restante corresponde a ácido graso saturado.

Comparando el valor encontrado del %AI con los resultados de GC-MS mencionados anteriormente, se establece que la porción de ácido saturado corresponde a los ácidos palmítico y esteárico, y el 16,66% de ácido insaturado corresponde únicamente al ácido oleico.

Finalmente, en la Tabla 13 se presenta una comparación de los valores encontrados en este estudio junto con los reportados en la literatura para los países de Malasia y Nigeria, donde se

evidencia principalmente que el índice de yodo de la muestra purificada del Lodo-POS es significativamente menor comparado con el POS de otros países, lo cual tiene sentido debido al alto valor en el índice de peróxidos, confirmando que hay una pérdida de ácido insaturado debido a la oxidación de estos. Lo mencionado anteriormente se reafirmó con los resultados obtenidos de GC-MS y ¹H-RMN donde, comparado con los reportes, el ácido oleico se encuentra en una menor proporción y los ácidos saturados tienen un porcentaje significativamente mayor.

Tabla 13.

Comparación de parámetros estudiados con resultados reportados en la literatura en Malasia y Nigeria

Prueba	Muestra purificada de Lodo-POS	Malasia ^(a)	Nigeria ^(b)
Ácidos grasos libres	-----	23,33	24,25
Contenido de cenizas (% m/m)	0,00	0,02	-----
Densidad (g/mL)	0,89	-----	0,976
Humedad y Materia volátil (% m/m)	2,58	1,2	0,03
Índice de acidez (mg KOH / g)	172,9	48,88	50,5
Índice de peróxidos (meq O ₂ / Kg)	117,7	1,52	-----
Índice de yodo (g I ₂ / 100 g)	26,6	53,4	56,4
Punto de fusión (°C)	43-46	-----	-----

Nota: Adaptado de (a) (Hayyan *et al.*, 2010) y (b) (Aworanti *et al.*, 2019).

Igualmente se encuentra que el valor del índice de acidez es bastante alto en comparación con los reportados en la literatura para los países de Malasia y Nigeria; considerando que los lodos de estos países tienen porcentajes de ácidos grasos libres de 23,33 y 24,25 %, respectivamente, lo cual representa menos de una tercera parte del valor encontrado en este proyecto, se infiere que hasta el 85% de la muestra purificada del Lodo-POS es completamente ácido graso libre.

5. Conclusiones

El Lodo-POS de la tercera laguna facultativa de la empresa *Palmas de Cesar S.A.* posee en su composición hasta un 85% de ácidos grasos libres, los cuales se pueden esterificar en medio ácido para la obtención de metil ésteres (FAMEs) usando PTSA o H_2SO_4 sin cambios significativos en su composición.

El Lodo-POS proveniente de la tercera laguna facultativa de oxidación de la empresa aceitera *Palmas del Cesar S.A.* posee en su composición una cantidad mínima de materia inorgánica (0,15 %), la cual fue posible remover mediante la extracción sólido-líquido utilizando éter de petróleo.

El Lodo-POS tiene en su composición un bajo porcentaje de ácidos grasos insaturados, demostrado por el bajo valor encontrado en el índice de yodo (26,6 g I_2 / 100 g) y el alto valor en el índice de peróxidos (117,7 meq O_2 / kg), correspondiente a la oxidación de los FFA insaturados.

Según lo observado en las técnicas instrumentales FTIR, GC-MS y 1H -RMN, el Lodo-POS está compuesto principalmente de ácido palmítico, ácido oleico y ácido esteárico, sin la presencia significativa de glicéridos.

Referencias

- Aslani, S., & Armstrong, D. (2022). High information spectroscopic detection techniques for gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1676(2), 463255-463277. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2022.463255>
- Awoh, E. T., Kiplagat, J., Kimutai, S. K., & Mecha, A. (2023). Current trends in palm oil waste management: A comparative review of Cameroon and Malaysia. *Heliyon*, 9(11), 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e21410>
- Aworanti, O. A., Ajani, A. O., Agarry, S. E., Babatunde, K. A., & Akinwunmi, O. D. (2019). Effect of Process Variables on the Transesterification Process of Palm Oil Sludge to Biodiesel. *Biotechnology Journal International*, 23(2), 1-14. <https://doi.org/10.9734/bji/2019/v23i230076>
- Belitz, H. D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2009). *Food Chemistry* (Fourth Edition). Berlin, Germany: Springer. (pp. 158-247).
- Berger, K. G. (1983). Production of Palm Oil from Fruit. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 60(2), 206-210. <https://doi.org/10.1007/BF02543483>
- Brodnitz, M. H. (1968). Autoxidation of saturated fatty acids. A review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 16(6), 994-999. <https://doi.org/10.1021/jf60160a001>
- Caballero, R., Gómez, R., Nuñez, L., Vaquero, M., Tamargo, J., & Delpón, E. (2006). Farmacología de los ácidos grasos omega-3. *Revista Española de Cardiología*, 6(4), 3-19. [https://doi.org/10.1016/S1131-3587\(06\)74822-1](https://doi.org/10.1016/S1131-3587(06)74822-1)
- Carey, F. (2003). *Química Orgánica* (Sexta edición). Ciudad de México, México: Mc Graw Hill. (pp. 1083-1087).

- Chiu, H. H., & Kuo, C. H. (2020). Gas chromatography-mass spectrometry-based analytical strategies for fatty acid analysis in biological samples. *Journal of Food and Drug Analysis*, 28(1), 60-73. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.10.003>
- Cozzolino, D., Murray, I., Chree, A., & Scaife, J. (2008). Multivariate determination of free fatty acids and moisture in fish oils by partial least-squares regression and near-infrared spectroscopy. *LWT (Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie) - Food Science and Technology*, 38(8), 821-828. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2004.10.007>
- deMan, J. (1999). *Principles of Food Chemistry* (Third edition). Gaithersburg, United States: ASPEN. (pp. 35-50).
- Di Pietro, M. E., Mannu, A., & Mele, A. (2020). NMR Determination of Free Fatty Acids in Vegetable Oils. *Processes*, 8(4), 410-424. <https://doi.org/10.3390/pr8040410>
- Federación Nacional de Cultivadores de Palma de Aceite (Fedepalma). (2023). Producción de aceite de palma alcanzó cifra histórica en 2022. [Informe anual]. Recuperado el 27 de febrero de 2023, de <https://web.fedepalma.org/node/3842>
- Francis, F., Collins, F. J. E., & Piper, S. H. (1937). The n-fatty acids and certain of their derivatives. *Proceedings of the Royal Society of London*, 158(895), 691-718. <https://doi.org/10.1098/rspa.1937.0049>
- Gotoh, N., & Wada, S. (2006). The Importance of Peroxide Value in Assessing Food Quality and Food Safety. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 83(5), 473-474. <https://doi.org/10.1007/s11746-006-1229-4>
- Guillén, M. D., & Cabo, N. (1999). Infrared spectroscopy in the study of edible oils and fats. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75(1), 1-11. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199709\)75:1<1::AID-JSFA842>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199709)75:1<1::AID-JSFA842>3.0.CO;2-R)

Hayes, D. (2017). Fatty Acids Based Surfactants and Their Uses. En *Fatty Acids: Chemistry, Synthesis, and Applications* (First edition). Knoxville, United States: Elsevier. (pp. 355-384).

Hayyan, A., Alam, M. Z., Mirghani, M. E. S., Kabbashi, N. A., Hakimi, N. I. N. M., Siran, Y. M., & Tahiruddin, S. (2010). Sludge palm oil as a renewable raw material for biodiesel production by two-step processes. *Bioresource Technology*, 101(20), 7804-7811. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2010.05.045>

Hayyan, A., Alam, M. Z., Mirghani, M. E. S., Kabbashi, N. A., Hakimi, N. I. N. M., Siran, Y. M., & Tahiruddin, S. (2011). Reduction of high content of free fatty acid in sludge palm oil via acid catalyst for biodiesel production. *Fuel Processing Technology*, 92(5), 920-924. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2010.12.011>

Huang, Y., Li, F., Bao, G., Li, M., & Wang, H. (2022). Qualitative and quantitative analysis of the influence of biodiesel fatty acid methyl esters on iodine value. *Environmental Science and Pollution Research*, 29, 2432-2447. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-15762-w>

Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2011a). Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del índice de acidez y de la acidez (NTC - 218).

Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2011b). Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del índice de peróxido (NTC - 236).

Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2013). Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del punto de fusión (punto de deslizamiento) (NTC 213).

Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2016). Grasas y aceites vegetales y animales. Método de la determinación de la densidad (masa por volumen convencional) (NTC 336).

- Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2018). Grasas y aceites animales y vegetales. Determinación del contenido de humedad y materia volátil (NTC - 287).
- Instituto Colombiano de Normas Técnicas. (2019). Grasas y aceites vegetales y animales. Determinación del índice de yodo (NTC 283).
- International Production Assessment Division (IPAD). (2023). Palm Oil Explorer (Palm Oil 2023 World Production). [Annual inform]. Recuperado el 24 de febrero de 2024, de <https://ipad.fas.usda.gov/cropexplorer/cropview/commodityView.aspx?cropid=4243000>
- International Standards Organization. (2008). Animal and vegetable fats and oils. Determination of ash (ISO 6884).
- Karabulut, I., Turan, S., & Ergin, G. (2004). Effects of chemical interesterification on solid fat content and slip melting point of fat/oil blends. *European Food Research and Technology*, 218, 224-229. <https://doi.org/10.1007/s00217-003-0847-4>
- Knothe, G. (2002). Structure Indices in FA Chemistry. How Relevant Is the Iodine Value? *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 79(9), 847-854. <https://doi.org/10.1007/s11746-002-0569-4>
- Knothe, G., & Dunn, R. O. (2019). A Comprehensive Evaluation of the Melting Points of Fatty Acids and Esters Determined by Differential Scanning Calorimetry. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 86, 843-846. <https://doi.org/10.1007/s11746-009-1423-2>
- Kong, F., & Singh, R. P. (2011). Advances in instrumental methods to determine food quality deterioration. En *Food and Beverage Stability and Shelf Life* (First Edition). California, United State: Woodhead Publishing. (pp. 281-404).

- Kusu, F., Fuse, T., & Takamura, K. (1994). Voltammetric Determination of Acid Values of Fats and Oils. *Journal of AOAC INTERNATIONAL*, 77(6), 1686-1688.
<https://doi.org/10.1093/jaoac/77.6.1686>
- Kyriakidis, N. B., & Katsiloulis, T. (2000). Calculation of iodine value from measurements of fatty acid methyl esters of some oils: Comparison with the relevant American Oil Chemists Society method. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(12), 1235-1238.
<https://doi.org/10.1007/s11746-000-0193-3>
- Lam, M. K., & Lee, K. T. (2011). Renewable and sustainable bioenergies production from palm oil mill effluent (POME): Win-win strategies toward better environmental protection. *Biotechnology Advances*, 29(1), 124-141.
<https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.10.001>
- Lawson, H. (1995). The Basic Chemistry of Oils and Fats. En *Food Oils and Fats: Technology, Utilization and Nutrition* (First edition). Boston, United States: Springer. (pp. 3-14).
- Loh, J. M., Gourich, W., Chew, C. L., Song, C. P., & Chan, E. S. (2021). Improved biodiesel production from sludge palm oil catalyzed by a low-cost liquid lipase under low-input process conditions. *Renewable Energy*, 177, 348-358.
<https://doi.org/10.1016/j.renene.2021.05.138>
- Lu, H., Liu, Y., Zhou, H., Yang, Y., Chen, M., & Liang, B. (2009). Production of biodiesel from *Jatropha curcas* L. oil. *Computers & Chemical Engineering*, 33(5), 1091-1096.
<https://doi.org/10.1016/j.compchemeng.2008.09.012>
- Marshall, M. R. (2010). Ash Analysis. En *Food Analysis* (Fourth Edition). New York, United State: Springer. (pp. 105-115).

- Mathews, C.; Van Holde, K. & Ahern, K. (2002). *Bioquímica* (Tercera edición). Madrid, España: Addison Wesley. (pp. 354-358).
- McMurry, J. (2012). *Química Orgánica* (Octava edición). Ciudad de México, México: CENGAGE Learning. (pp. 1088-1091).
- Mohammad, S., Baidurah, S., Kobayashi, T., Ismail, N., & Leh, C. P. (2021). Palm Oil Mill Effluent Treatment Processes—A Review. *Processes*, 9(5), 739-751. <https://doi.org/10.3390/pr9050739>
- Morrison, R. & Boyd, R. (1992). *Organic Chemistry* (Sixth edition). Englewood Cliffs, United States: Prentice Hall. (pp. 1055-1063).
- Nakama, Y. (2017). Surfactants. En *Cosmetic Science and Technology Theoretical Principles and Applications* (First edition). Kanagawa, Japan: Elsevier. (pp. 231-244).
- Nasaruddin, R., Alam, M. Z., & Jami, M. S. (2013). Evaluation of solvent system for the enzymatic synthesis of ethanol-based biodiesel from sludge palm oil (SPO). *Bioresource Technology*, 154, 155-161. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.11.095>
- Ntsomboh-Ntsefong, G., Ngalle-Bille, H., Ajambang, W., Likeng-Li-Ngue, B. C., Kingsley, T.-M., Bell, J. M., & Youmbi, E. (2016). Brief Review on the Controversies around Oil Palm (*Elaeis Guineensis* Jacq.) Production and Palm Oil Consumption. *International Journal of Regional Development*, 3(2), 60-75. <https://doi.org/10.5296/ijrd.v3i2.9418>
- Oi-Ming, L.; Eng-Tong, P.; Yee-Ying, L. & Yusof, B. (2020). Palm Oil. En *Bailey's Industrial Oil and Fat Products* (Seventh edition). Hoboken, United States: John Wiley & Sons. (pp. 385-485).
- O'Keefe, S. F., & Pike, O. A. (2010). Fat Characterization. En *Food Analysis* (Fourth Edition). New York, United State: Springer. (pp. 239-260).

- Ordoudi, S. A., Strani, L., & Cocchi, M. (2023). Toward the Non-Targeted Detection of Adulterated Virgin Olive Oil with Edible Oils via FTIR Spectroscopy & Chemometrics: Research Methodology Trends, Gaps and Future Perspectives. *Molecules*, 28(1), 337-360. <https://doi.org/10.3390/molecules28010337>
- Pulasserty, S., Abraham, B., Ajikumar, N., Munnilath, A., & Yoosaf, K. (2022). Rapid Iodine Value Estimation Using a Handheld Raman Spectrometer for On-Site, Reagent-Free Authentication of Edible Oils. *ACS Omega*, 7(11), 9164-9171. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05123>
- Rapp, B. E. (2017). Surface Tension. En *Microfluidics: Modeling, Mechanics and Mathematics. Micro and Nano Technologies* (First edition). Amsterdam, Netherlands: Elsevier. (pp. 421-444).
- Roberts, L., & Patterson, T. (2014). Biofuels. En *Encyclopedia of Toxicology* (Third edition). Bethesda, United States: Elsevier. (pp. 469-475).
- Rodenbush, C. M., Hsieh, F. H., & Viswasnath, D. S. (1999). Density and Viscosity of Vegetables Oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(12), 1415-1419. <https://doi.org/10.1007/s11746-999-0177-1>
- Saad, M. S., Wirzal, M. D. H., & Putra, Z. A. (2021). Review on current approach for treatment of palm oil mill effluent: Integrated system. *Journal of Environmental Management*, 286, 1-16. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2021.112209>
- Scheffers, H. W. (1927). A method of preparation of pure oleic acid. *Recueil Des Travaux Chimiques Des Pays-Bas*, 46(4), 293-295. <https://doi.org/10.1002/recl.19270460409>

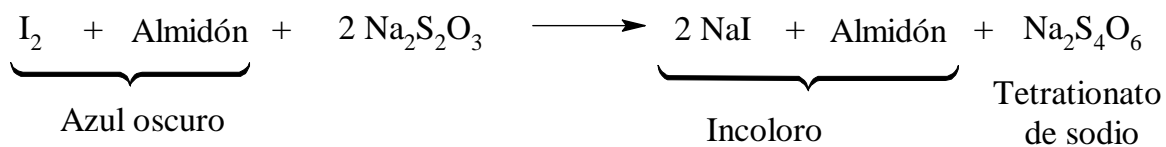
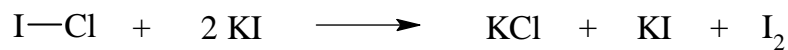
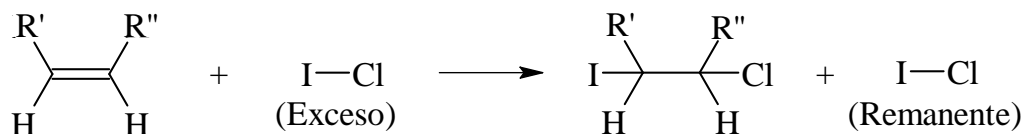
- Siudem, P., Zielinska, A., & Paradowska, K. (2022). Application of ^1H NMR in the study of fatty acids composition of vegetable oils. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 212(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2022.114658>
- Tavizón-Pozos, J. A., Chavez-Esquivel, G., Suárez-Toriello, V. A., Santolalla-Vargas, C. E., Luévano-Rivas, O. A., Valdés-Martínez, O. U., Talavera-López, A., & Rodriguez, J. (2021). State of Art of Alkaline Earth Metal Oxides Catalysts Used in the Transesterification of Oils for Biodiesel Production. *Energies*, 14(4), 1031-1055. <https://doi.org/10.3390/en14041031>
- Tenbohlen, S., & Koch, M. (2010). Aging Performance and Moisture Solubility of Vegetable Oils for Power Transformers. *IEEE Transactions on Power Delivery*, 25(2), 825-830. <https://doi.org/10.1109/TPWRD.2009.2034747>
- Timms, R. (1985). Physical properties of oils and mixtures of oils. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 62(2), 241-249. <https://doi.org/doi.org/10.1007/BF02541385>
- Usman, T., Ariany, L., Rahmalia, W., & Advant, R. (2009). Esterification of fatty acid from palm oil waste (sludge oil) by using alum catalyst. *Indonesian Journal of Chemistry*, 9(3), 474-478. <https://doi.org/10.22146/ijc.21522>
- Velayuthan, A. (1986). Procesamiento y control del aceite de palma. *PALMAS*, 7(4), 19-33. <https://doi.org/10.56866/issn.0121-2923>
- Wafti, N. S. A., Nang, H. L. L., & May, C. Y. (2012). Value-added Products from Palm Sludge Oil. *Journal of Applied Science*, 12(11), 1199-1202. <https://doi.org/10.3923/jas.2012.1199.1202>
- Yurkanis, P. (2008). *Química Orgánica* (Quinta edición). Naucalpan de Juárez, México: PEARSON EDUCACIÓN. (pp. 1162 - 1168).

Zhang, N., Li, Y., Wen, S., Sun, Y., Chen, J., Gao, Y., Sagymbek, A., & Yu, X. (2021). Analytical methods for determining the peroxide value of edible oils A mini-review. *Food Chemistry*, 358(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129834>

Apéndices

Apéndice A. Mecanismo de reacción en la determinación del índice de yodo.

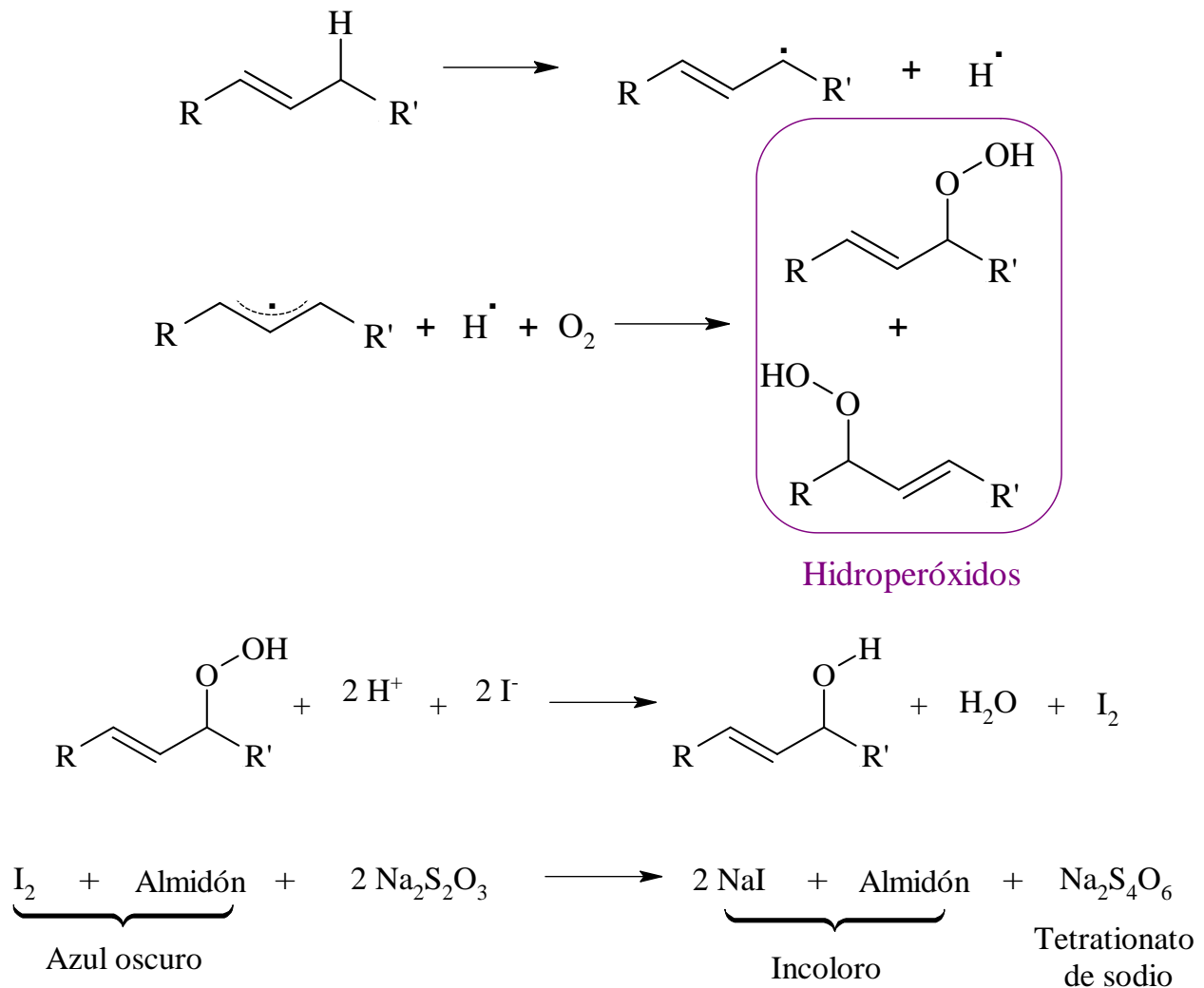
A continuación, se muestran el mecanismo de reacción que se desarrolla en la determinación del índice de yodo, utilizando el método de Wijs. Este mecanismo se emplea principalmente para medir el grado de insaturación de la muestra, por lo cual su reacción es únicamente con los ácidos grasos insaturados como se muestra a continuación (Pulasserty *et al.*, 2022).



Apéndice B. Mecanismo de reacción en la determinación del índice de peróxido.

A continuación, se muestran las reacciones químicas que llevan a la formación de hidroperóxidos y el mecanismo de reacción empleado en la determinación del índice de peróxidos.

Cabe recalcar que la formación de hidroperóxidos puede ocurrir en cualquier tipo de ácido graso, saturado o insaturado; sin embargo, estos últimos, debido a la presencia de dobles enlaces, son más susceptibles a la oxidación (Brodnitz, 1968), por lo cual el mecanismo mostrado a continuación corresponde a la formación de hidroperóxidos en un ácido graso insaturado.



Apéndice C. Valores reportados en el proceso de extracción Soxhlet.

En el proceso de extracción sólido-líquido se registraron los valores obtenidos en cada una de las diferentes extracciones, con el fin de verificar el rendimiento del método de extracción y a su vez verificar el tiempo necesario para obtener el valor de muestra sin extraer mínimo en el dedal.

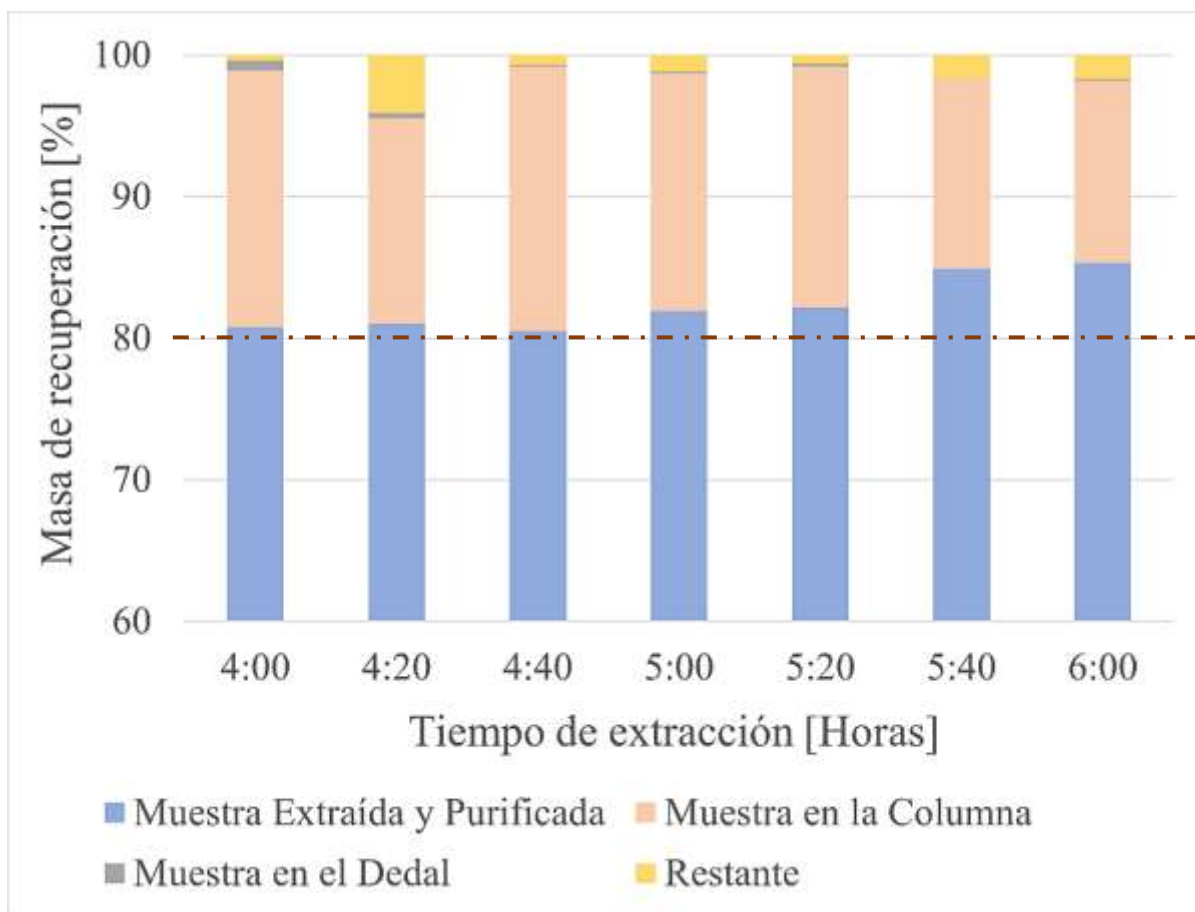
Tabla C1.

Datos reportados en el proceso de extracción Soxhlet

Tiempo (horas)	4:00	4:20	4:40	5:00	5:20	5:40	6:00
Muestra (g)	17,138	15,735	15,068	17,113	20,840	17,995	23,959
Muestra Extraída y Purificada	80,80%	81,06%	80,52%	81,94%	82,18%	84,93%	85,31%
Muestra en la Columna	18,09%	14,49%	18,70%	16,73%	17,00%	13,44%	12,89%
Muestra en el Dedal	0,74%	0,36%	0,11%	0,17%	0,22%	0,02%	0,15%
Restante	0,37%	4,09%	0,67%	1,16%	0,60%	1,60%	1,65%

Figura C1.

Diagrama de barras de los datos reportados en la extracción Soxhlet



Apéndice D. Datos adicionales en la determinación de densidad.

En la prueba de densidad, inicialmente se realizaron mediciones de volumen (mL) y de peso (g), para calcular la densidad del agua y de esta forma realizar una corrección a las mediciones de densidad efectuadas en la muestra. A continuación, se muestran los datos registrados en la determinación de la densidad del agua y los respectivos porcentajes de error encontrados en cada uno de los ensayos.

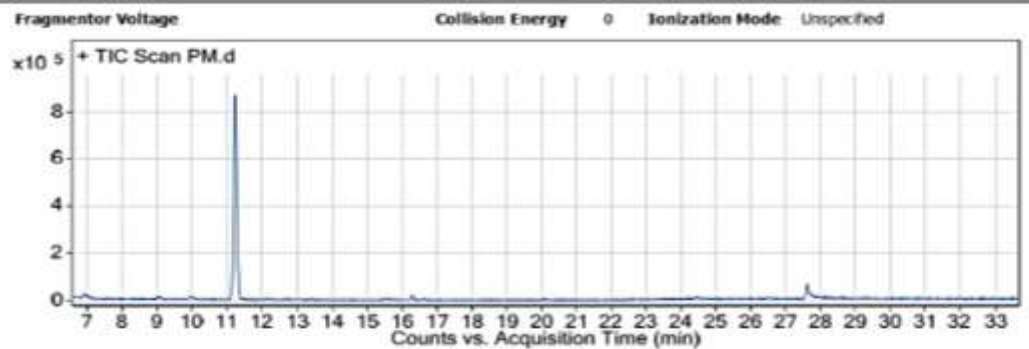
	Peso Promedio (g)	Volumen (mL)	Densidad Experimental (g/mL)	Densidad Reportada a 25 °C (g/mL) (ICONTEC, 2016)	% Error
Picnómetro	15,577				
Picnómetro + Agua	25,388	10	0,98	0,995	1,40
Agua	9,811				
Picnómetro	15,577				
Picnómetro + Agua	25,399	10	0,98	0,995	1,29
Agua	9,822				
Picnómetro	15,577				
Picnómetro + Agua	25,389	10	0,98	0,995	1,39
Agua	9,812				
Picnómetro	15,574				
Picnómetro + Agua	25,379	10	0,98	0,995	1,45
Agua	9,805				
Picnómetro	15,575				
Picnómetro + Agua	25,380	10	0,98	0,995	1,45
Agua	9,805				

Apéndice E. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS del metil éster del ácido palmítico.

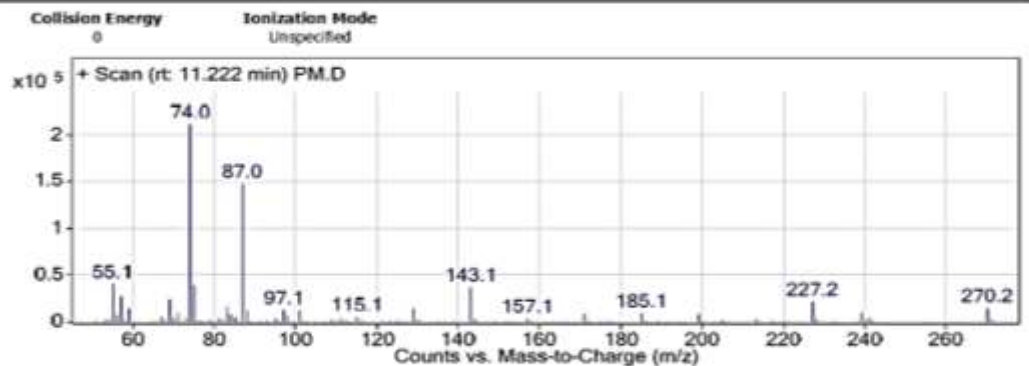
Qualitative Analysis Report

Data Filename	PM.D	Sample Name	PM
Sample Type		Position	3
Instrument Name	GCMS	User Name	PAULINN FERRER
Acq Method	LQOBioCT208_PF.M	Acquired Time	4/18/2024 9:07:29 AM
IRM Calibration Status	Not Applicable	DA Method	default.m
Comment			
Expected Barcode		Sample Amount	
Dual Inj Vol	0.5	TuneName	ATUNE.U
TunePath	D:\MassHunter\GCMS\1\5977	TuneDateStamp	Thursday, April 18, 2024 8:16:30 AM (UTC-05:00)
MSFirmwareVersion	6.00.30	OperatorName	PAULINN FERRER
RunCompletedFlag	True	Acquisition SW Version	MassHunter GC/MS Acquisition B.07.04.2260 28- Oct-2015 Copyright © 1989- 2014 Agilent Technologies, Inc.

User Chromatograms



User Spectra



Peak List

m/z	z	Abund
55.1		40989.64
57.1	1	27688.53

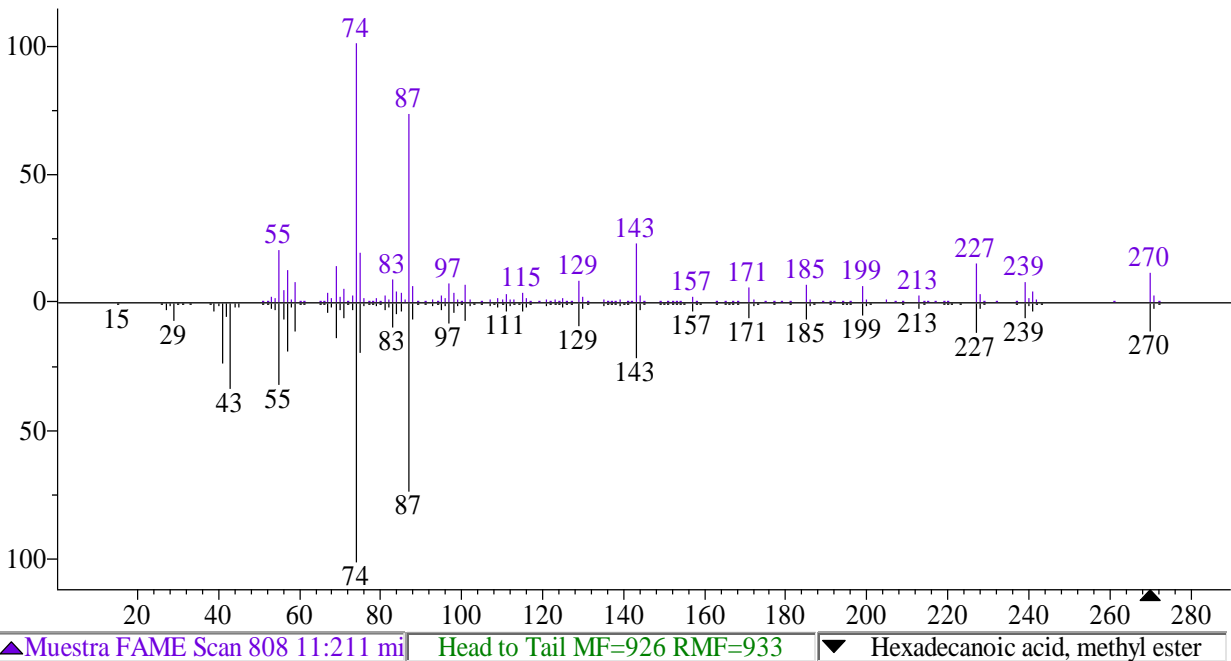
Qualitative Analysis Report

69		24743.53
74		211417.95
75	1	39588.23
83.1		16249.89
87	1	147562.45
143.1	1	37199.64
227.2	1	21927.67
270.2	1	14868.18

— End Of Report —

Figura E1.

Comparación del espectro de masas obtenido para el patrón del palmitato de metilo con el registrado en la base de datos NIST

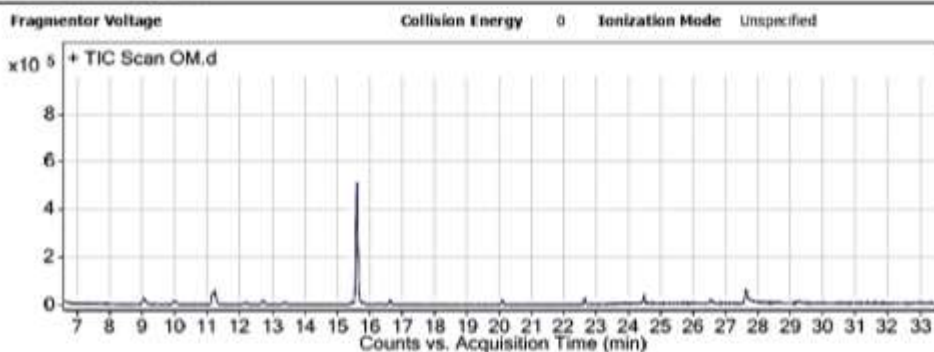


Apéndice F. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS del metil éster del ácido oleico.

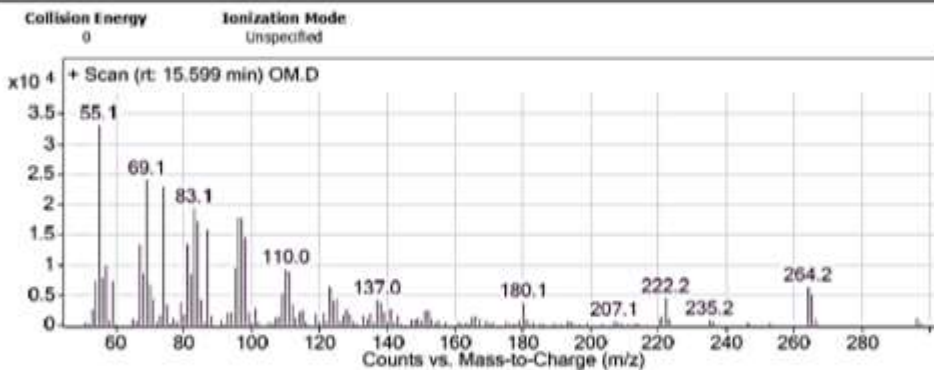
Qualitative Analysis Report

Data Filename	OM.D	Sample Name	OM
Sample Type		Position	2
Instrument Name	GCMS	User Name	PAULINN FERRER
Acq Method	LQOBioCT208_PF.M	Acquired Time	4/18/2024 8:29:46 AM
IRM Calibration Status	Not Applicable	DA Method	default.m
Comment			
Expected Barcode		Sample Amount	
Dual Inj Vol	0.5	TuneName	ATUNE.U
TunePath	D:\MassHunter\GCMS\1\5977	TuneDateStamp	Thursday, April 18, 2024 8:16:30 AM (UTC-05:00)
MSFirmwareVersion	6.00.30	OperatorName	PAULINN FERRER
RunCompletedFlag	True	Acquisition SW Version	MassHunter GC/MS Acquisition B.07.04.2260 28- Oct-2015 Copyright © 1989- 2014 Agilent Technologies, Inc.

User Chromatograms



User Spectra



Peak List

m/z	z	Abund
55.1		33164.54
69.1		24088.53

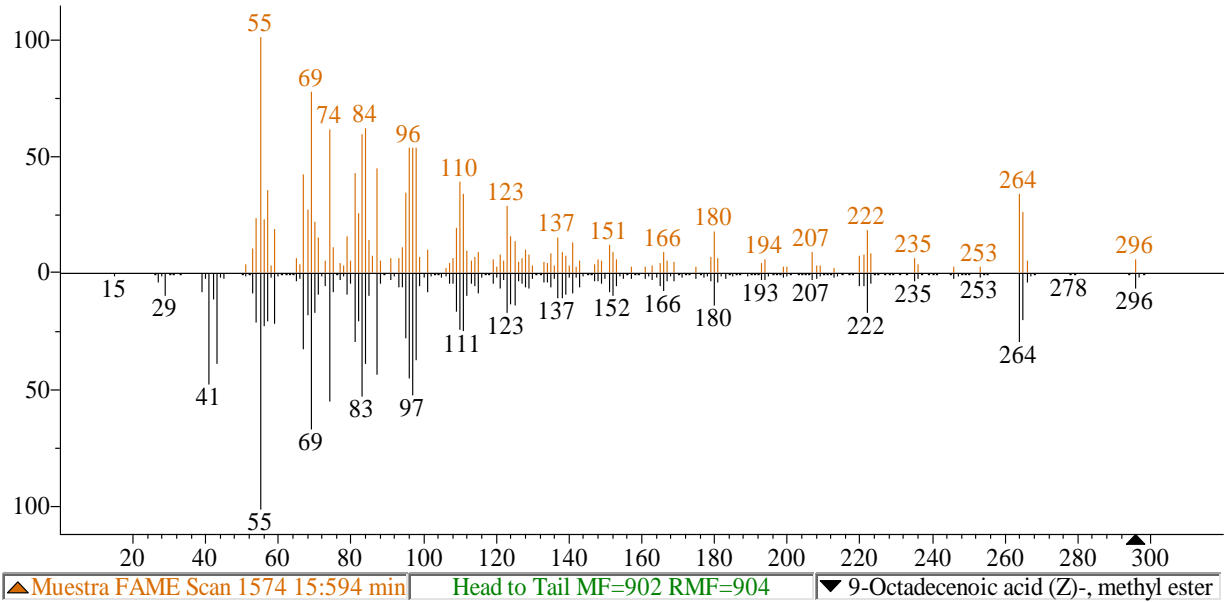
Qualitative Analysis Report

74		22913.92
81.1		13485.08
83.1		19398.06
84		17181.39
87	1	15872.1
96		17808.33
97		17782.52
98.1		14506.08

— End Of Report —

Figura F1.

Comparación del espectro de masas obtenido para el patrón del oleato de metilo con el registrado en la base de datos NIST

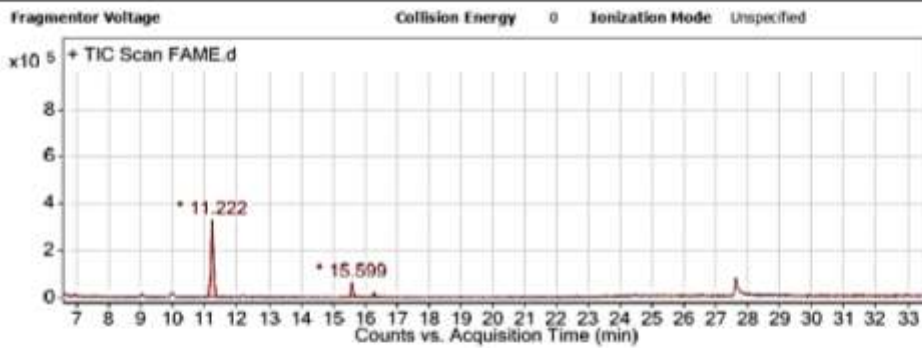


Apéndice G. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS de la mezcla de metil ésteres de la muestra purificada de Lodo-POS utilizando el PTSA como catalizador.

Qualitative Analysis Report

Data Filename	FAME.D	Sample Name	FAME
Sample Type		Position	4
Instrument Name	GCMS	User Name	PAULINN FERRER
Acq Method	LQOBioCT2DB_PF.M	Acquired Time	4/18/2024 9:45:19 AM
IRM Calibration Status	Not Applicable	DA Method	default.m
Comment			
Expected Barcode		Sample Amount	
Dual Inj Vol	0.5	TuneName	ATUNE.U
TunePath	D:\MassHunter\GCMS\1\5977	TuneDateStamp	Thursday, April 18, 2024 8:16:30 AM (UTC-05:00)
MSFirmwareVersion	6.00.30	OperatorName	PAULINN FERRER
RunCompletedFlag	True	Acquisition SW Version	MassHunter GC/MS Acquisition B.07.04.2260 28- Oct-2015 Copyright © 1989- 2014 Agilent Technologies, Inc.

User Chromatograms



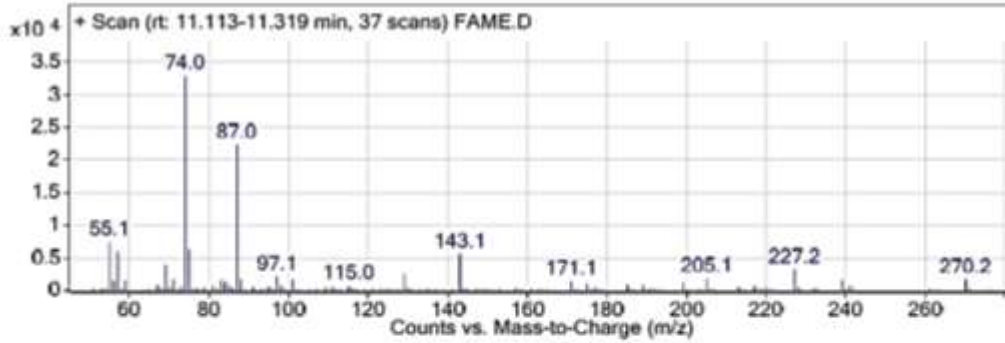
Integration Peak List

Peak	Start	RT	End	Height	Area	Area %
1	11.05	11.222	11.428	326403.18	2034943.88	100
2	15.462	15.599	15.857	60541.21	301876.54	14.83
3	16.166	16.286	16.406	19173.49	88233.86	4.34

User Spectra

Spectrum Source	Collision Energy	Ionization Mode
Peak (1) in "+ TIC Scan - FAME.D"	0	Unspecified

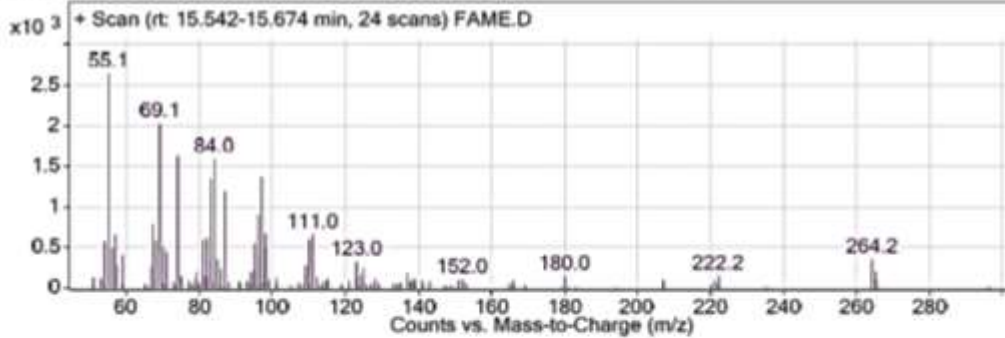
Qualitative Analysis Report



Peak List

m/z	z	Abund
55.1		7428.18
57.1	1	5942.75
69.1		3928.38
74		32928.3
75	1	6344.25
87	1	22386.89
97.1		2146.03
129	1	2479.78
143.1	1	5645.7
227.2	1	3278.14

Spectrum Source: Peak (2) in *+ TIC Scan - FAME.D*
 Collision Energy: 0
 Ionization Mode: Unspecified



Peak List

m/z	z	Abund
55.1		2646.26
67.1		792.02
69.1		2027.13
74		1631.45
83.1		1345.11
84	1	1594.16
87	1	1198.25
96		908.07
97		1373.21
98.1	1	674.68

Spectrum Source: Collision Energy: Ionization Mode:

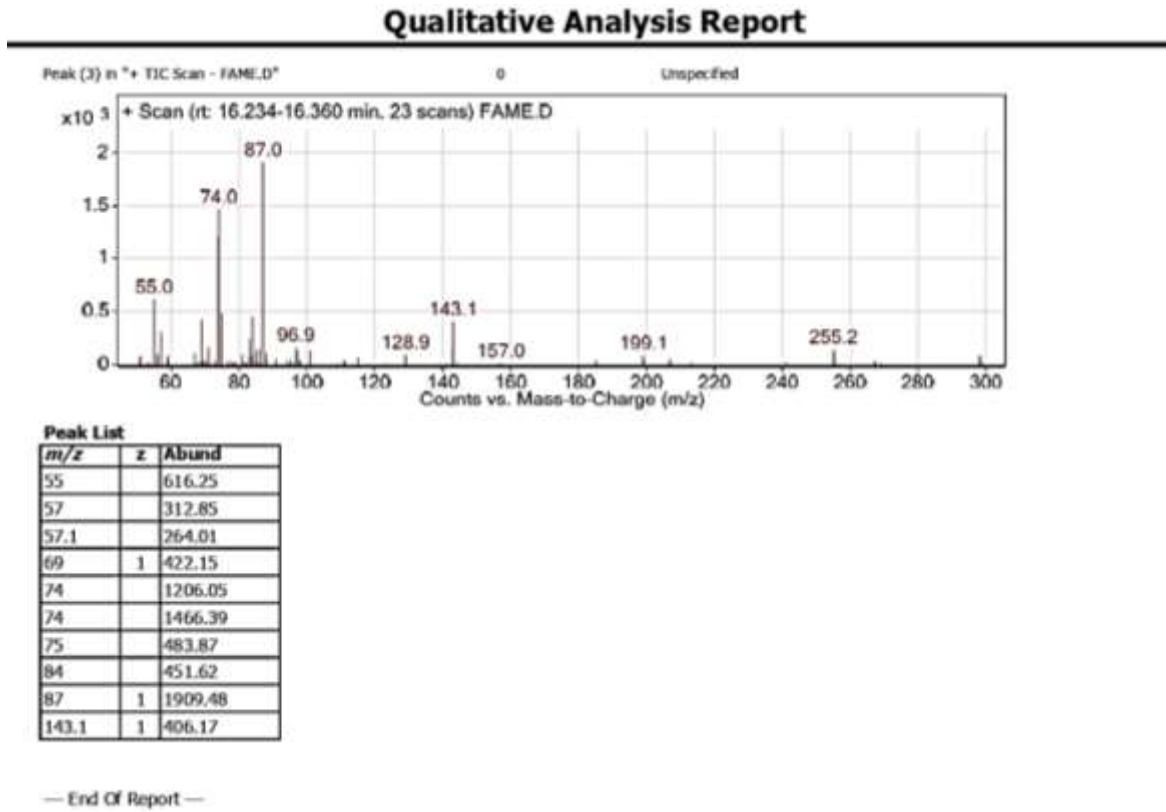
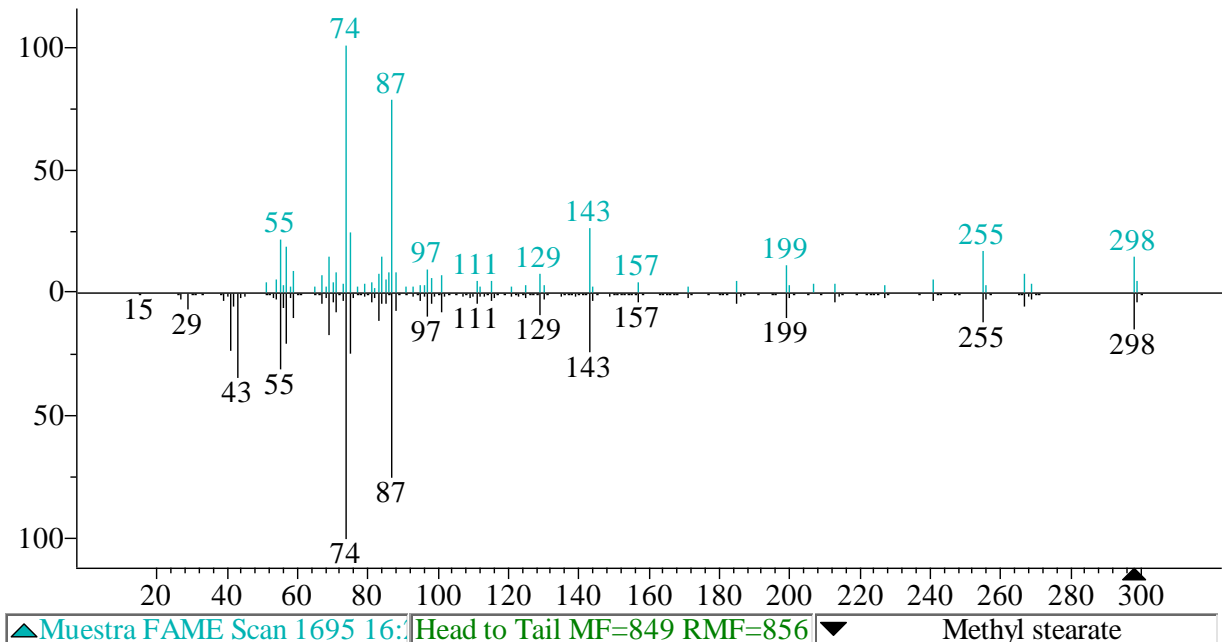


Figura G1.

Comparación del espectro de masas obtenido para la tercera señal del cromatograma observada a los 16,286 min con el registrado en la base de datos NIST



Apéndice H. Certificado de análisis del ácido oleico utilizado como patrón para su respectiva esterificación como oleato de metilo.



Certificate of Analysis

1.00471.0000 Oleic acid vegetable extra pure Ph Eur,BP,NF
Batch K37117571

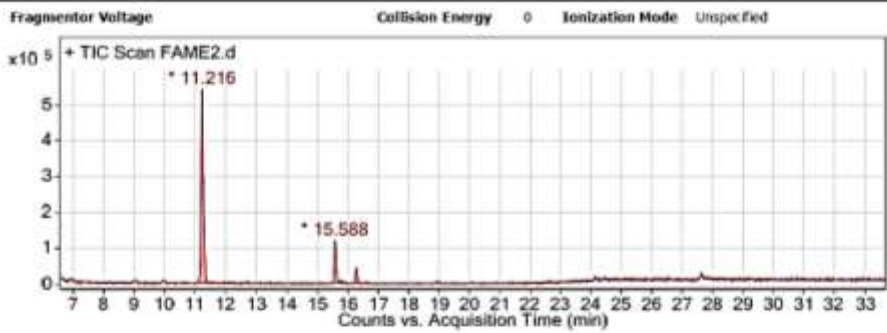
	Spec. Values	Batch Values
Assay oleic acid (GC)	65.0 - 88.0 %	75.2 %
Identity	passes test	passes test
Appearance	Yellow to faint brown liquid, not more intense in color than reference solution Y ₁ oder BY ₁ (Ph. Eur.).	passes test
Density (d 25/25)	0.889 - 0.895	0.891
Solidification temperature	10 - 16 °C	10 °C
Iodine number	89 - 95	95
Peroxide value	≤ 10.0	1.8
Acid value	196 - 204	201
Composition of fatty acids		
	passes test	passes test
Margaric acid	≤ 0.2 %	< 0.1 %
Myristic Acid	≤ 5.0 %	0.2 %
Stearic acid	≤ 6.0 %	2.3 %
Palmitic acid	≤ 16.0 %	6.2 %
Palmitoleic acid	≤ 8.0 %	< 0.1 %
Linoleic acid	≤ 18.0 %	9.3 %
Linolenic acid	≤ 4.0 %	0.4 %
Fatty acids of chain length > C ₁₈	≤ 4.0 %	3.6 %
Mineralic acids	passes test	passes test
Neutral fats and mineral oils	passes test	passes test
Residual solvents (Ph. Eur./USP/ICH)	excluded by manufacturing process	excluded by manufacturing process
Organic volatile impurities (according to USP)	conforms	passes test
Sulfated ash (600 °C)	≤ 0.01 %	≤ 0.01 %

Apéndice I. Reporte de análisis generado por el equipo de GC-MS de la mezcla de metil ésteres de la muestra purificada de Lodo-POS utilizando el H₂SO₄ como catalizador de la reacción de esterificación.

Qualitative Analysis Report

Data Filename	FAME2.D	Sample Name	FAME2
Sample Type		Position	2
Instrument Name	GCMS	User Name	
Acq Method	LQOBioCT208_PF.m	Acquired Time	5/16/2024 10:41:37 AM
IRM Calibration Status	Not Applicable	DA Method	default.m
Comment			
Expected Barcode		Sample Amount	
Dual Inj Vol	0.1	TuneName	ATUNE.U
TunePath	D:\MassHunter\GCMS\1\5977	TuneDateStamp	Thursday, May 16, 2024 9:17:19 AM (UTC-05:00)
MSFirmwareVersion	6.00.30	OperatorName	
RunCompletedFlag	True	Acquisition SW Version	MassHunter GC/MS Acquisition B.07.04.2260 28- Oct-2015 Copyright © 1989- 2014 Agilent Technologies, Inc.

User Chromatograms



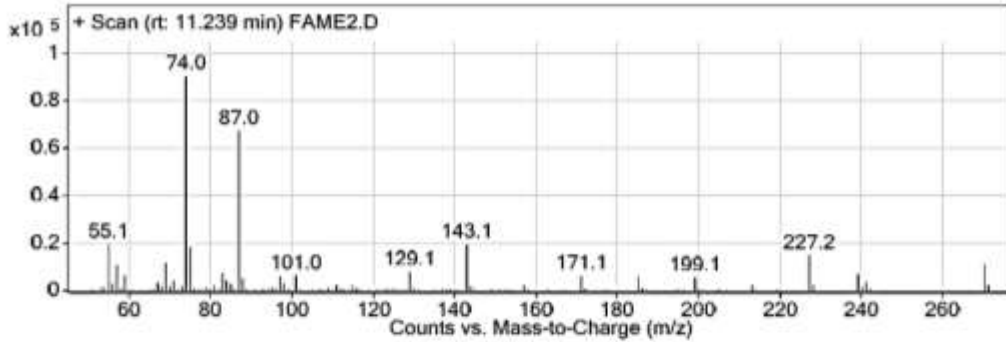
Integration Peak List

Peak	Start	RT	End	Height	Area	Area %
1	11.068	11.216	11.46	540653.85	2840221.01	100
2	15.462	15.588	15.874	117135.28	583244.09	20.54
3	16.2	16.292	16.509	43378.93	195990.63	6.9

User Spectra

Collision Energy 0 Ionization Mode Unspecified

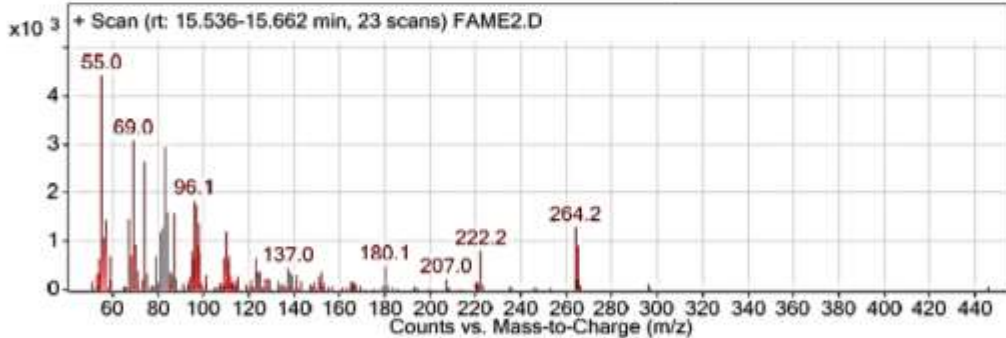
Qualitative Analysis Report



Peak List

m/z	z	Abund
55.1		19413.09
57.1		10814.06
69.1		11759.14
74		90222.97
75	1	18383.93
87	1	67309.36
129.1		7990.16
143.1	1	19522.15
227.2	1	14970.72
270.2	1	11092.83

Spectrum Source: + TIC Scan - FAME2.D Collision Energy: 0 Ionization Mode: Unspecified



Peak List

m/z	Abund
55	4428.36
57	1449.97
67	1466.16
69	3085.3
74	2638.74
83	2947.87
84	1605.62
87	1582.48
96.1	1838.71
97	1743.13

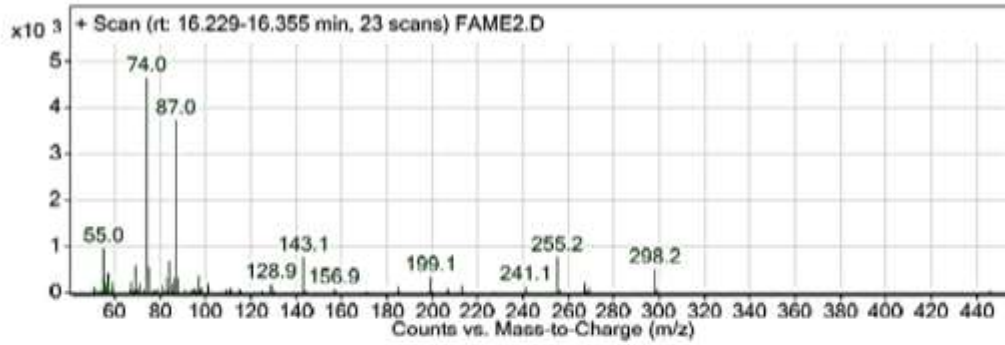
Spectrum Source Collision Energy Ionization Mode

Qualitative Analysis Report

Peak (3) in "+ TIC Scan - FAME2.D"

0

Unspecified



Peak List

<i>m/z</i>	<i>z</i>	Abund
55		952.49
69	1	586.4
74		4636.04
75		543.07
75		547.75
83.9		678.11
87	1	3715.32
143.1	1	764.29
255.2	1	762.34
298.2	1	501.12

— End Of Report —