

ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL



**FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES Y MATEMÁTICAS
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS QUÍMICAS Y AMBIENTALES**

PROYECTO DE TITULACIÓN

PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE:

**“MAGÍSTER EN GESTIÓN INTEGRAL DE LABORATORIOS DE
QUÍMICA”**

TEMA:

VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA PARA CUANTIFICAR
METANOL EN ALCOHOL ETÍLICO RECTIFICADO
EXTRANEUTRO MEDIANTE CROMATOGRFÍA DE GASES EN
EL LABORATORIO DE CALIDAD DE SODERAL S.A.

AUTOR:

MARIA EUGENIA ORTIZ QUIÑONEZ

Guayaquil - Ecuador

2024

RESUMEN

La industria de bebidas alcohólicas reconoce que las características del producto dependen de las propiedades de las materias primas utilizadas, el alcohol etílico se genera mediante la fermentación anaeróbica de los jugos o mieles de caña de azúcar, el metanol se destaca como un parámetro crítico debido a su impacto en la calidad del producto final y la baja concentración necesaria para su liberación, con un límite máximo de 1.5 mg/100ml según la norma NTE INEN 375, entendiéndose la importancia de reportar resultados exactos y confiables. El objetivo general del trabajo es “Validar la metodología para la cuantificación de metanol en alcohol etílico extraneutro mediante cromatografía de gases, para el cumplimiento de la norma ISO 17025 en el laboratorio de calidad de SODERAL S.A.” De esta manera, se busca satisfacer las expectativas de clientes, mercados y partes interesadas con los más altos estándares de calidad.

Se obtuvieron resultados satisfactorios en la validación de la metodología logrando un método selectivo con un $\alpha=1,05$, un LD de 0,04 mg/100ml y un LC de 0,12 mg/100ml de metanol, La linealidad con un r^2 de 0.9976, un % de recuperación de 101.1, 95.8 y 95.8 para los niveles bajo, medio y alto, en el nivel bajo CV de 2.32%; en el nivel medio de 0.37%; y para el nivel alto de 0.27%, finalmente la determinación de la incertidumbre sobre las muestras de alcohol etílico extraneutro.

ABSTRACT

The alcoholic beverage industry recognizes that product characteristics depend on the properties of the raw materials used, ethyl alcohol is generated by anaerobic fermentation of sugar cane juices or honeys, methanol stands out as a critical parameter due to its impact on the quality of the final product and the low concentration required for its release, with a maximum limit of 1.5 mg/100ml according to the NTE INEN 375 standard, understanding the importance of reporting accurate and reliable results. The general objective of the work is "To validate the methodology for the quantification of methanol in extraneutral ethyl alcohol by gas chromatography, for compliance with ISO 17025 in the quality laboratory of SODERAL S.A.". In this way, we seek to meet the expectations of customers, markets and stakeholders with the highest quality standards.

Satisfactory results were obtained in the validation of the methodology, achieving a selective method with an $\alpha=1.05$, an LD of 0.04 mg/100ml and a LC of 0.12 mg/100ml of methanol. The linearity with an r^2 of 0.9976, with a % recovery of 101.1, 95.8 and 95.8 for the low, medium and high levels, at the low level CV of 2.32%; at the average level of 0.37%; and for the high level of 0.27%, finally the determination of the uncertainty on the extraneutral ethyl alcohol samples.

DEDICATORIA

La presente tesis está dedicada a mis padres, Gustavo Ortiz y Natividad Quiñonez, quienes con esfuerzo decidieron construir mi vida en base a principios, perseverancia, valores y dedicación con sacrificio, a mis hermanos quienes estuvieron en los momentos más difíciles de este proceso apoyándome.

AGRADECIMIENTO

Agradezco profundamente a Dios, por todas sus bendiciones, iluminándome cada día en todo lo que realizo. A mis padres, por ser mi ejemplo para seguir adelante y por inculcarme valores que de una u otra forma me han servido en la vida. A mis hermanos por apoyarme en cada decisión que tomo, y por estar a mi lado en cada momento.

Un sincero agradecimiento a mis jefes por todo su apoyo incondicional, a los docentes y tutor de la maestría por guiarme en cada paso de este proyecto y por su valioso aporte para el crecimiento profesional y personal.

Agradezco a la empresa SODERAL S.A., empresa que me ha abierto las puertas para crecer profesionalmente.

DECLARACIÓN EXPRESA

La responsabilidad por los hechos y doctrinas expuestas en este Proyecto de Titulación, me corresponde exclusivamente y ha sido desarrollado respetando derechos intelectuales de terceros conforme las citas que constan en el documento, cuyas fuentes se incorporan en las referencias o bibliografías. Consecuentemente este trabajo es de mi total autoría. El patrimonio intelectual del mismo, corresponde exclusivamente a la ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DEL LITORAL.

En virtud de esta declaración, me responsabilizo del contenido, veracidad y alcance del Trabajo de Titulación referido.

María Eugenia Ortiz Quiñonez

TRIBUNAL DE GRADUACIÓN

Joel Vielma Puente, Ph D.

PRESIDENTE

Michael Guillermo Rendón, Ph D.

TUTOR

César Araque Molina, PhD.

DOCENTE EVALUADOR

ABREVIATURAS O SIGLAS

ISO/IEC 17025:2017. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración.

GC. Cromatógrafo de Gases.

MRC. Material de Referencia Certificado.

NTE. Norma Técnica Ecuatoriana.

INEN. Servicio Ecuatoriano de Normalización.

MSP. Ministerio de la Salud Pública.

LC. Límite de Cuantificación.

LD. Límite de Detección.

SAE. Servicio de Acreditación Ecuatoriana.

SODERAL S.A. Sociedad de Destilación de Alcoholes S.A

ISO. Organización Internacional de Normalización.

ADH. Alcohol deshidrogenasa.

SPIA. Solución Patrón Inicial.

SPIB. Solución Patrón Interno.

SE. Solución de Etanol.

SIGR. Solución Inicial Grado Reactivo.

SPL. Solución de Preparación de Linealidad.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	II
ABSTRACT.....	III
DEDICATORIA.....	IV
AGRADECIMIENTO.....	V
DECLARACIÓN EXPRESA.....	VI
TRIBUNAL DE GRADUACIÓN.....	VII
ABREVIATURAS O SIGLAS.....	VIII
TABLA DE CONTENIDO.....	IX
LISTADO DE FIGURAS.....	XII
LISTADO DE TABLAS.....	XIII
CAPÍTULO 1.....	1
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1. Antecedentes.....	2
1.2. Descripción del problema.....	3
1.3. Objetivos.....	5
1.3.1 Objetivo General.....	5
1.3.2 Objetivo Específico.....	5
1.4. Hipótesis.....	5
1.5. Alcance.....	5
CAPÍTULO 2.....	6
2. MARCO TEÓRICO.....	6
2.1. Producción de alcohol etílico.....	6
2.1.1. Melaza para la obtención de alcohol.....	7
2.1.2. Fermentación.....	7
2.1.3. Destilación.....	7
2.2. Generalidades sobre el etanol y metanol.....	9
2.3. Cromatografía de Gases.....	10

2.3.1. Parámetros de análisis en un cromatógrafo de gases	¡Error! Marcador no definido.
2.3.2. Metodologías cromatográficas para determinar metanol.	12
2.4. Validación de metodologías analíticas	13
2.4.1. Validación	14
2.4.2. Especificidad; Selectividad	14
2.4.3. Exactitud; veracidad	14
2.4.4. Límite de Detección	15
2.4.5. Límite de Cuantificación	15
2.4.6. Linealidad	15
2.4.7. Precisión	15
2.4.8. Incertidumbre	16
2.5. Consideraciones de interés en las Normas Técnicas Ecuatorianas	16
CAPÍTULO 3	19
3.1 Enfoque de la investigación	19
3.2 Tipo de investigación	19
3.2.1. Variables	19
3.2.1.1. Variable Independiente	19
3.2.1.2. Variables Dependiente	19
3.2.2. Recursos	19
3.2.2.2 Materiales, equipos y reactivos	19
3.2.3. Métodos y técnicas	21
3.2.3.1. Técnicas para análisis de Alcohol	21
3.2.4. Preparación de soluciones estándar	23
3.2.4.1. Solución de etanol al 40 % (fracción de volumen)	23
3.2.4.2. Solución patrón inicial A	23
3.2.4.3. Solución patrón interno B	23
3.3. Implementación del método analítico	23
3.3.1. Preparación de la muestra	23
3.3.2. Preparación del blanco	23
3.3. Verificación de método analítico	24
3.4.1. Preparación de las soluciones patrones de linealidad	25
3.4.2. Diseño experimental de la Validación del Método	25
3.4.3. Selectividad	25

3.4.4. Estudio del blanco	26
3.4.5. Límite de detección (LD) y Límite de cuantificación (LC)	26
3.4.6. Linealidad.....	27
3.4.7. Exactitud	27
3.4.8. Repetibilidad.	28
3.4.9. Precisión Intermedia.....	29
3.5. Análisis estadísticos	30
3.6. Incertidumbre	30
CAPÍTULO 4	31
4.1. Resultados.	31
4.1.1. Selectividad.....	31
4.1.2. Estudio del Blanco.....	34
4.1.3. Límite de detección (LD) y Límite de cuantificación (LC).	34
4.1.4. Linealidad.....	35
4.1.5. Exactitud.	36
4.1.6. Repetibilidad	37
4.1.7. Incertidumbre.	39
CAPÍTULO 5	41
5. CONCLUSIONES RECOMENDACIONES	41
CAPÍTULO 6	43
REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS.....	43
CAPÍTULO 7	47

LISTADO DE FIGURAS

Fig. 3.1. Diagrama de flujo de cuantificación de metanol.....	22
Fig. 3.2 Verificación de método analítico.....	25
Fig. 3.3 Diagrama Ishikawa.....	30
Fig. 4.4 Cromatografía de la mezcla del Acetaldehído y del Metanol.....	32
Fig. 4.5 Cromatografía Estudio del Blanco.....	34
Fig. 7.6 Resultados de LD y LC.....	49
Fig. 7.7 Datos primarios para el parámetro de linealidad.....	50
Fig. 7.8 Curva 1 Análisis Estadísticos.....	51
Fig. 7.9 Curva 2 Análisis Estadísticos.....	52
Fig. 7.10 Curva 3 Análisis Estadísticos.....	52

LISTADO DE TABLAS

TABLA I Requisitos físicos y químicos para el alcohol etílico de origen agrícola	18
TABLA II Material utilizado en los procedimientos	20
TABLA III Equipos utilizados en los procedimientos	20
TABLA IV Reactivos y MRC utilizados en los procedimientos.	21
TABLA V Recuperación esperada en función a la concentración.	28
TABLA VI Precisión esperada en función a la concentración del analito (Repetibilidad).	29
TABLA VII Desviación estándar relativa prevista de la Reproducibilidad	29
TABLA VIII Determinación del Tiempo de Retención y de Interferentes en el Parámetro de Selectividad	33
TABLA IX Determinación de los Límites de Detección y Cuantificación.	34
TABLA X Estadístico de la estimación lineal de tres curvas de análisis de metanol por cromatografía de gases con uso estándar interno	35
TABLA XI Límites superior e inferior de los estadísticos b, a y r^2 en la evaluación de linealidad del análisis de metanol por cromatografía de gases	36
TABLA XII Determinación de la Exactitud.	37
TABLA XIII Análisis de varianza de un factor: Nivel bajo	38
TABLA XIV Análisis de varianza de un factor: Nivel medio	38
TABLA XV Análisis de varianza de un factor: Nivel alto.	39
TABLA XVI Determinación de incertidumbre: Muestra de nivel bajo	39
TABLA XVII Determinación de incertidumbre: Muestra de nivel medio	40
TABLA XVIII Determinación de incertidumbre: Muestra de nivel alto	40

CAPÍTULO 1

1. INTRODUCCIÓN

La técnica de cromatografía de gases (GC) con detección de ionización de llama (FID) ha ganado amplia aceptación en la determinación de compuestos volátiles en bebidas alcohólicas. Se emplea un método de estándar interno convencional empleando el 1-butanol para este fin, con el objetivo de cuantificar acetaldehído, metanol y otros compuestos volátiles específicos, dentro de los que se consideran a los ácidos orgánicos, tales como pirúvico, succínico, acético; aldehídos; furfural; ésteres y alcoholes superiores con más de tres carbonos en su composición, como Isopropanol, propanol, isobutanol, isoamilico, amílico, etc. En relación a la técnica analítica, es importante destacar que, a lo largo de varias décadas, este método ha mantenido su integridad sin cambios, consolidándose como una práctica establecida en la industria [1].

La industria de bebidas alcohólicas reconoce que las características del producto dependen de las propiedades de las materias primas utilizadas. Es esencial controlar la calidad de estas materias primas para obtener el producto deseado y cumplir con los estándares de control establecidos. La certificación de laboratorios, mediante la estandarización y validación de metodologías de análisis, constituye un componente crucial. Esta certificación demuestra la capacidad de la industria para asegurar de manera fiable que sus productos se mantengan dentro de los parámetros de calidad definidos [2].

En este contexto, se propone un método para analizar metanol y validar una metodología de cromatografía de gases que permita obtener resultados rápidos, confiables y precisos. La presencia de congéneres volátiles en las bebidas alcohólicas se determina mediante la inyección de la muestra en un sistema de cromatografía de gases, con la adición previa de un patrón interno adecuado. Los congéneres volátiles se separan en una columna utilizando programación de temperatura y un detector de ionización de llama (FID) [3].

La concentración de cada congéneres se determina en relación con el patrón interno, utilizando factores de respuesta obtenidos durante la calibración en condiciones

cromatográficas idénticas a las del análisis de la muestra. Los parámetros del alcohol etílico utilizado en la producción de bebidas alcohólicas influyen significativamente en la calidad de los productos terminados, donde los resultados organolépticos dependen en gran medida del proceso de producción de esta materia prima [4]

El proceso de producción de alcohol etílico genera subproductos que se separan por destilación, incluyendo cetonas, aldehídos, ésteres y alcoholes superiores. Dependiendo del tipo de destilación, el alcohol etílico puede contener metanol o congéneres [1]

El metanol, conocido por su toxicidad, se utiliza en diversas aplicaciones como pinturas, barnices, disolventes y productos de limpieza del hogar. Su determinación en el alcohol etílico rectificado extraneutro por cromatografía de gases es un análisis realizado en laboratorios acreditados en el país, permitiendo pruebas de interlaboratorio y evaluación de aptitud [2]

La validación del contenido de metanol por cromatografía de gases en matriz de alcohol etílico extraneutro asegura la validez de los resultados, permitiendo al laboratorio brindar resultados confiables que cumplan con los requisitos de la norma técnica ecuatoriana. De esta manera, se busca satisfacer las expectativas de clientes, mercados y partes interesadas con los más altos estándares de calidad [3]

1.1. Antecedentes

La destilación, como método de separación, se utiliza extensamente en las industrias química, petroquímica y bioquímica y ha tenido un impacto significativo en el progreso social. Es la opción preferida para tratar sistemas no ideales en la producción industrial, como mezclas de acetona, metanol y butanol, comunes en instalaciones de productos químicos [4]

El alcohol etílico o etanol, obtenido mediante fermentación anaerobia de hidratos de carbono, es un líquido transparente, incoloro, inflamable y con un olor característico, fundamental en bebidas alcohólicas con un contenido alcohólico entre 4 y el 20% v/v [5]

Los congéneres, compuestos químicos formados durante la fermentación y el envejecimiento, influyen en el sabor y aroma de las bebidas alcohólicas, aunque la destilación permite controlar su presencia [6], el proceso de control de calidad requiere generar confiabilidad y certeza en la metodología de análisis para garantizar la calidad del alcohol etílico. Uno de los cogéneres de interés es precisamente el metanol, el cual es usado como materia prima clave en la industria química además de combustible, siendo para la industria alcoholera, crucial la determinación con precisión del metanol, ya que su presencia en productos como el alcohol etílico rectificado extraneutro se encuentra regulado por las normativas nacionales e internacionales, presentándose como un grave riesgo para la salud humana, así como para calidad del producto, cuando su concentración se encuentra fuera de los límites previamente establecidos, en el caso de Ecuador, por la normativa NTE INEN 375 [7]

En los últimos años, la cromatografía de gases con columnas empaquetadas ha ganado popularidad como técnica para analizar una variedad de compuestos. Un estudio reciente resalta la importancia de medir con precisión el caudal y la fracción de modificador en este tipo de cromatografía, especialmente cuando se trabaja con bajas proporciones de metanol [8]

La validación de métodos es esencial para demostrar la idoneidad y el rendimiento coherente con las aplicaciones requeridas. En el contexto de la producción de alcohol etílico, es fundamental validar la metodología para medir metanol mediante cromatografía de gases, asegurando resultados precisos. Esto es particularmente relevante en la industria, donde la seguridad y la calidad son de suma importancia [9].

1.2. Descripción del problema

El alcohol etílico se genera mediante la fermentación anaeróbica de los jugos o mieles de caña de azúcar. Este proceso fermentativo da lugar a la formación de varios compuestos, incluyendo dióxido de carbono, aldehídos, cetonas y otros alcoholes de bajo peso molecular, como el metanol. Asimismo, como subproducto de la destilación, se obtiene la vinaza, un residuo que contiene niveles significativos de potasio. En los últimos años, la vinaza ha sido utilizada como sustituto parcial en la fertilización potásica, para

cultivos de caña de azúcar, de banano entre otros. Este enfoque buscar aprovechar eficientemente los recursos residuales del proceso de destilación en beneficio de la fertilización de los cultivos agrícolas [10]

En Ecuador, destacan las empresas SODERAL, CODANA y PRODUARGO como las principales empresas dedicadas a la producción de alcohol. En particular, SODERAL S.A., logró una producción de 18.939.089 litros en el año 2022, siendo uno de sus productos más destacados el alcohol etílico extraneutro con un contenido alcohólico mínimo del 96% (v/v). Para asegurar la calidad y cumplir con los estándares, el gobierno ecuatoriano establece la norma NTE INEN 375, que especifica un contenido máximo de metanol de 1.5 mg/100ml para bebidas alcohólicas de origen agrícola [11]

En el año 2022, el Ministerio de la Salud Pública (MSP) reportó 17 fallecimientos asociados a la intoxicación por metanol, de los cuales 11 fueron confirmados. Ante esta situación, el MSP y las autoridades de control instan formalmente a la población ecuatoriana a evitar el consumo de alcohol de origen dudoso, sin registro sanitario y comercializado de manera clandestina, ya que esto representa un riesgo considerable para la vida, incluso con posibilidad de causar la muerte [12]

A pesar de las adversidades y regulaciones, la alta rentabilidad económica derivada del intenso consumo ha conducido a la elaboración artesanal de bebidas alcohólicas con elevado contenido alcohólico y precios bajos en diversos lugares. Estas prácticas no cumplen con la normativa y los estándares de calidad, en algunos casos, se han realizado manipulaciones en los envases o se ha usurpado el nombre de marcas reconocidas para la venta de estos productos, generando problemas de salud pública cuando se consumen, de esta manera, concentraciones elevadas de metanol pueden ocasionar ceguera, daño hepático y renal, e incluso resultar letales en situaciones graves [13]

En base a lo expuesto, surge la siguiente interrogante: ¿Cómo se puede validar de manera efectiva la metodología utilizada para medir metanol en alcohol etílico rectificado extraneutro mediante cromatografía de gases en el Laboratorio de Calidad de SODERAL S.A., garantizando la precisión y confiabilidad de los resultados obtenidos?

1.3. Objetivos

1.3.1 Objetivo General

Validar la metodología para la cuantificación de metanol en alcohol etílico extraneutro mediante cromatografía de gases, para el cumplimiento de la norma ISO 17025 en el laboratorio de calidad de SODERAL S.A.

1.3.2 Objetivo Específico

- Implementar el protocolo de análisis en el laboratorio de calidad de SODERAL S.A.
- Establecer los parámetros de validación y los criterios de cumplimiento de acuerdo a lo establecido por la norma NTE INEN 2014 para el método de ensayo de metanol.
- Realizar la validación del método de acuerdo con el plan de validación establecido bajo requisitos de la norma ISO 17025:2017.
- Evaluar los resultados de la validación mediante cálculos estadísticos.
- Estimar la incertidumbre del método de determinación de metanol en alcohol etílico extraneutro.

1.4. Hipótesis

La implementación y validación del método validado con un cromatógrafo de gases permitirá identificar y cuantificar las concentraciones del metanol, a partir de curva de calibración con estándares trazables.

1.5. Alcance

El presente procedimiento se aplica en el laboratorio de control de calidad de SODERAL, para la cuantificación del metanol en alcohol etílico rectificado extraneutro, utilizando cromatografía de gases con detector FID, y realizando la validación del método lo cual permitirá ofrecer un servicio de análisis de ensayos con resultados precisos y reproducibles.

CAPÍTULO 2

2. MARCO TEÓRICO

2.1. Producción de alcohol etílico

Desde 1997, la empresa SODERAL S.A., ha mantenido un laboratorio de control de calidad equipado con instrumentación química adecuada para analizar compuestos resultantes de la fertilización y destilación, cumpliendo con las normas nacionales e internacionales. El metanol se destaca como un parámetro crítico debido a su impacto en la calidad del producto final y la baja concentración necesaria para su liberación, con un límite máximo de 1.5 mg/100ml según la norma NTE INEN 375 [14]

Con miras a la acreditación según la norma INEN ISO 17025:2018, el laboratorio presenta un alcance que abarca dos matrices y cuatro métodos de ensayo, incluyendo acidez total y contenido de agua en alcohol anhidro grafo carburante, así como densidad y grado alcohólica en alcohol etílico extraneutro y alcohol anhidro grado carburante [15]

En aras de la mejora continua, el laboratorio tiene como objetivo la validación del análisis de metanol en alcohol etílico extraneutro, con la finalidad de determinar con precisión y exactitud la concentración analito. Esto permitirá identificar desviaciones en los productos y prevenir problemas que puedan afectar al laboratorio y a la empresa [16]

La determinación de metanol mediante cromatografía de gases es realizada por algunos laboratorios acreditados en el país, facilitando pruebas de interlaboratorio y asegurando la validez de los resultados. La validación garantiza que el laboratorio tenga la capacidad de ofrecer resultados confiables y cumplir con los requisitos de la norma técnica ecuatoriana, buscando satisfacer las expectativas de clientes y partes interesadas con estándares de calidad elevados [17]

2.1.1. Melaza para la obtención de alcohol

La melaza, también conocida como miel, es un líquido denso y viscoso de tonalidad oscura, derivado del proceso de fabricación o refinación de la sacarosa extraída de la caña de azúcar. Este subproducto se utiliza en la producción de alcohol, en la elaboración de productos balanceados y como suplemento alimenticio. Su composición es altamente heterogénea y puede variar significativamente según varios factores, como la variedad de caña de azúcar, el tipo de suelo, las condiciones climáticas, entre otros. La melaza de caña se caracteriza por tener un contenido de grados Brix o sólidos disueltos en el rango de 68-75%, y un pH que oscila entre 5.0 y 6.1. Los principales azúcares presentes en la melaza son la sacarosa, glucosa y fructosa [18].

2.1.2. Fermentación

A través del uso de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se lleva a cabo la fermentación del “mosto de azúcar”, obtenido a partir del jugo o melaza de caña de azúcar. La levadura se reproduce mediante la provisión de nutrientes y un ambiente aireado. Posteriormente, la mezcla se transfiere a fermentadores, donde tiene lugar la fermentación anaeróbica de los azúcares contenidos en la materia prima, resultando en un “vino” fermentado con un grado alcohólico del 8.5-9.0% v/. Luego, se recupera y acidifica la levadura [19]

2.1.3. Destilación.

La destilación es un proceso físico de separación que se basa en la volatilidad relativa y los puntos de ebullición diferentes de los compuestos en una solución. Este proceso se lleva a cabo en columnas de destilación, diseñadas para contener ambas fases. Al aplicar calor a una solución o mezcla de compuestos, se alcanza la temperatura de ebullición de cada uno, volatilizándolos y separándolos en forma de gas o vapor del resto de componentes líquido. Industrialmente, este proceso se realiza en equipos denominados columnas de destilación [20]

El vino que ha sido separado en las centrífugas se dirige hacia las columnas destiladoras de cada equipo de destilación. Los equipos están contruidos de cobre, excepto sus columnas destiladoras. En la columna destiladora, el vino se introduce y se calienta mediante vapor. En concordancia con este concepto, el vapor transporta el alcohol etílico y otros compuestos volátiles formados durante la fermentación hacia la parte superior de la columna, mientras que, en dirección opuesta, el vino se diluye progresivamente hasta llegar al fondo completamente diluido, con trazas de alcohol no superiores al 0,05% v/v, transformándose en vinaza [17], [20].

La destilación azeotrópica permite concentrar el alcohol a 95.5 por ciento. El alcohol que se obtiene en la parte superior de la columna destiladora, con una concentración entre 45-50% v/v, se denomina "flema de mal gusto". A pesar de contener alcohol etílico, esta mezcla incluye otros compuestos producidos durante la fermentación que deben separarse. Para este propósito, se utilizan las columnas de destilación adicionales. La flema de mal gusto, que contiene productos con diferentes niveles de volatilidad al etanol, se dirige a una columna llamada "depuradora". Aquí, mediante la introducción de vapor en contacto directo, la flema se enriquece con los compuestos más volátiles, llevándolos a la parte superior de la columna [15], [20].

El azufre es el principal causante de compuestos de olores desagradables, como el mercaptano. En la parte inferior de la columna depuradora, se obtiene la "flema de buen gusto" con una graduación entre 30-40% v/v, que se envía a una tercera columna llamada rectificadora. En la columna rectificadora, el etanol se concentra hasta un 96% y se separa del furfural y de alcoholes superiores, como propanol, alcohol amílico y sus isómeros. El metanol, que se forma durante el proceso, acompaña al etanol hasta el final, separándose únicamente cuando el etanol alcanza el 96% de concentración. En estas condiciones, el metanol se vuelve más volátil y se dirige hacia la parte superior de la columna, donde se extrae de uno de los condensadores de cabeza [9], [20].

En resumen, el metanol se separa por la parte superior de los condensadores, el "etanol rectificado" al 96% v/v se separa a 5 platos del tope, los alcoholes superiores se separan al 85% de la altura de la columna, los alcoholes amílicos al 60%, y por el fondo de la

columna sale agua con bajo contenido en ácidos orgánicos, furfural y otros compuestos, formando una mezcla denominada flemaza [21].

El alcohol etílico, conocido por su relación con las bebidas alcohólicas, también desempeña un papel importante como solvente industrial y materia prima en la fabricación de diversos productos químicos orgánicos, tales como acetaldehído, acetato etílico, ácido acético, dibromuro de etileno, glicol, y otros. El alcohol puro, o etanol, se emplea en aplicaciones medicinales, farmacéuticas y como componente de saborizantes. El etanol se presenta como un líquido incoloro y volátil que se encuentra en diversas bebidas fermentadas. Históricamente, se obtenía mediante la fermentación anaeróbica de una solución con contenido de azúcares con la ayuda de levaduras, seguido de un proceso de destilación. El etanol en bebidas alcohólicas acompaña a diferentes elementos químicos, dependiendo del tipo de bebida. Estos elementos contribuyen a darle al etanol características distintivas como color, olor, sabor, entre otras [22].

2.2. Generalidades sobre el etanol y metanol

Mientras que el etanol constituye la principal sustancia activa en las bebidas alcohólicas, varios compuestos, mayormente volátiles, contribuyen al sabor y aroma de la bebida. Analizar muchos de estos compuestos puede revelar la fuente y el tipo de bebida alcohólica. Los congéneres, aunque a menudo no son definitivos por sí solos para determinar la fuente o identidad de una bebida alcohólica, desempeñan un papel crucial cuando se consideran en conjunto. Un parámetro utilizado para la identificación de bebidas alcohólicas es la proporción relativa de metanol y congéneres [23].

El metanol, con un metabolismo estrechamente relacionado, y su comportamiento dentro del cuerpo humano, incluyendo su tiempo de permanencia, se utilizan como marcadores para regular la incidencia de personas con problemas de alcoholismo. Una característica destacada y a veces complicada para la cuantificación del metanol es su volatilidad. Pueden surgir situaciones en las que el tiempo de permanencia en un sistema de análisis no refrigerado conduzca a una cuantificación inexacta de los analitos en las muestras reales o en los estándares de verificación [24].

La concentración del metanol se encuentra naturalmente entre 1-3 mg/L en el cuerpo humano, circulando por el suero sanguíneo. Este compuesto representa uno de los peligros más significativos en las bebidas alcohólicas, y su impacto en la salud depende del medio en el que se ingiera. El consumo de metanol sin la presencia de etanol puede llevar a un aumento de su concentración en la sangre a una velocidad de 0,1-0,5 mg/L.h, lo cual, como se ha observado en casos de intoxicación, puede resultar en problemas relacionados con la pérdida de la visión [25].

Al igual que algunos congéneres como los alcoholes superiores, el metanol, compite con el etanol por ser sustrato de la enzima endógena alcohol deshidrogenasa (ADH), encargada de oxidar el grupo hidroxilo. Después de su oxidación, el metanol genera formaldehído, que es el compuesto tóxico para el organismo. En ocasiones, uno de los tratamientos para prevenir la intoxicación por metanol o alcoholes superiores implica el consumo de mayores cantidades de etanol para aumentar la selectividad de la ADH por este último, o mediante la administración de un antídoto específico como el fomepizol [26]

2.3. Cromatografía de Gases.

La cromatografía de gases, una técnica que surgió en 1951 al hacer pasar una fase móvil gaseosa a través de una columna, ha evolucionado desde entonces y se ha convertido en un método ampliamente utilizado para separar los componentes volátiles y semivolátiles de muestras. Desarrollada por Martin y James en 1952, esta técnica ofrece altas resoluciones, sensibilidad y tiempos de análisis cortos, convirtiéndola en una herramienta rutinaria en la mayoría de los laboratorios químicos. En comparación con la cromatografía líquida, la cromatografía de gases tiene la ventaja de contar con detectores más universales, como el de ionización de llama [27]

La instrumentación necesaria para la cromatografía de gases es más sencilla y económica que la utilizada en HPLC. Sin embargo, la cromatografía de gases presenta limitaciones en casos de compuestos poco volátiles, sensibles a la temperatura o que se encuentran en forma iónica. La influencia significativa de la temperatura en la distribución del equilibrio es una limitación de la cromatografía de gases, a diferencia de la cromatografía líquida. Por lo tanto, se utiliza cuando los componentes de la muestra son

volátiles o semivolátiles y térmicamente estables a temperaturas de hasta 350-400 °C [27].

La cromatografía de gases se usa para confirmar la ausencia de un compuesto en una muestra, comparando el cromatograma de la sustancia pura con el de la muestra, si las condiciones son idénticas. Sin embargo, puede haber compuestos diferentes con el mismo comportamiento cromatográfico, lo que puede conducir a identificaciones erróneas. Por lo tanto, las mejores técnicas de análisis cualitativo combinan la capacidad de separación de la cromatografía con la identificación precisa de técnicas como la espectroscopía de masas [27].

La cromatografía de gases también se utiliza para cuantificar la cantidad de componentes individuales en una muestra, utilizando curvas de calibración de patrones correspondientes. Diferentes detectores basados en propiedades físicas de los componentes analizados se emplean para este propósito, siendo algunos universales y otros más selectivos. La espectrometría de masas acoplada a la cromatografía de gases puede actuar como un detector universal o más específico según la selección de iones de masa [27]

2.3.1. Parámetros de análisis en un cromatógrafo de gases.

Los parámetros de análisis en un cromatógrafo de gases son fundamentales para garantizar la precisión y fiabilidad de los resultados obtenidos. Estos parámetros incluyen la elección del tipo de muestra a analizar, el volumen adecuado de muestra a inyectar y la correcta preparación de la muestra. La selección y optimización de estos parámetros depende del tipo de muestra y del objetivo del análisis. Es importante tener en cuenta que estos parámetros pueden variar entre diferentes equipos y métodos analíticos.

- Temperatura del horno: es la temperatura que se encuentra la columna cromatográfica. esta temperatura puede variar dependiendo de los compuestos que se están analizando y de la separación requerida.
- Temperatura del inyector: es importante ya que afecta la volatilidad de los compuestos en la muestra y su capacidad de transferencia a la columna.

- Flujo de gas portador: el gas portador es el gas que se utiliza para transportar la muestra a través de la columna. El flujo de gas portador debe ser ajustado para garantizar una separación eficiente de los componentes de la muestra.
- Tipo de columna cromatográfica: la elección del tipo de columna (por ejemplo, columna capilar, columna de relleno) y su fase estacionaria (por ejemplo, polar, no polar) depende de los compuestos que se están analizando y de la separación deseada.
- Tiempo de retención: es el tiempo que tarda un compuesto en pasar desde el punto de inyección hasta el detector. Este parámetro es útil para identificar los compuestos presentes en la muestra.
- Detector utilizado: existen diferentes tipos de detectores como el detector de ionización de llama (FID), detector de captura de electrones (ECD), detector de espectrometría de masas (MSD), entre otros. La elección del detector depende de la sensibilidad requerida y de los compuestos que se están analizando.
- Condiciones de detección: incluyen parámetros como la temperatura del detector, el flujo de gases de arrastre, la sensibilidad del detector, etc. Estos parámetros deben ser ajustados adecuadamente para garantizar una detección precisa de los compuestos presentes en la muestra.
- Calibración del equipo: es importante realizar una calibración adecuada del equipo utilizando estándares conocidos para cuantificar los compuestos presentes en la muestra.

2.3.2. Metodologías cromatográficas para determinar metanol.

Se han investigado diversos trabajos que implementan metodologías cromatográficas para la determinación de metanol. Entre ellos, se destacan los estudios de Soufleros en el año 2004, que se centran en la caracterización y evaluación de la seguridad del destilado de una fruta tradicional griega mediante el análisis de compuestos que otorgan sabor a la bebida y minerales. También, aborda la producción de alcohol a partir de mucílago de café, caracterizando el alcohol obtenido mediante la identificación de algunos compuestos volátiles [21]

A lo largo del tiempo, tanto la investigación como las casas comerciales, han buscado mejoras en la técnica cromatográfica clásica. Se enfocaron en desarrollar nuevas fases estacionarias, técnicas de inyección mejoradas y resultados más reproducibles, para perfeccionar la técnica en lo posible.

Resalta la importancia de establecer buenas condiciones cromatográficas para lograr una buena resolución en los cromatogramas. Factores como el modo de inyección, la rampa de temperaturas en el horno y/o rampa de gas de arrastre, y el tipo de columna son cruciales para alcanzar este objetivo. La introducción de nuevas fases estacionarias, como ultra inerte, ha solucionado problemas de estabilidad, disminuido el sangrado de la fase estacionaria y mejorado la calidad de los resultados en los cromatogramas [21];.

En cuanto a las columnas utilizadas en cromatografía de gases, las más comunes son las capilares de columna tubular abierta de capa porosa y Columna tubular abierta de pared recubierta. Estas columnas, caracterizadas por su fase estacionaria sobre la pared de un tubo abierto de fibra de vidrio, han demostrado su eficacia, especialmente las de mayor polaridad con fase estacionaria de 100% polietilenglicol. Para analizar ésteres, se emplean columnas de menor polaridad, a menudo compuestas por 100% dimetilpolisiloxano o modificaciones de 5% fenilmetilpolisiloxano [28].

La separación cromatográfica se optimiza ajustando las condiciones experimentales, siendo la columna y la rampa de temperatura del horno los factores más influyentes en la resolución. El diseño de experimentos se presenta como una herramienta estadística valiosa para identificar factores significativamente importantes y optimizar la respuesta en base a esos factores. En la cromatografía de gases, donde la rampa de temperaturas y el flujo de gas portador influyen en la resolución de los picos y el tiempo de análisis, el diseño de experimentos puede ser una estrategia eficaz para la optimización de la metodología [28].

2.4. Validación de metodologías analíticas

El objetivo de la validación de una metodología analítica es demostrar su idoneidad para un propósito específico. Los métodos analíticos desarrollados en un laboratorio para

obtener datos de composición química de alimentos deben ser precisos y ejecutados por técnicos competentes. Para garantizar la calidad de los resultados, se requiere un nivel adecuado de calidad interna y externa en el laboratorio analítico. La calidad de los resultados depende de la calidad de cada etapa del proceso analítico. [29].

La norma ISO 17025 establece que los laboratorios deben demostrar su capacidad para generar resultados analíticos fiables y validarlos técnicamente. En este contexto, la validación se define como el proceso de confirmación mediante el examen y la presentación de evidencia objetiva de que cumplen los requisitos específicos para un uso particular previsto. La validación del método permite a los profesionales técnicos demostrar que un método es apropiado para el propósito previamente establecido [29].

2.4.1. Validación.

Acción documentada, efectuada en concordancia con los principios de las Buenas Practica de Manufactura y de laboratorio, que demuestran que los procedimientos, procesos actividades o sistema empleados en la producción y en el control de calidad, son conducentes a los resultados dispuestos, dentro de los límites establecidos [20].

2.4.2. Especificidad; Selectividad.

La habilidad para analizar, medir e identificar de forma precisa y clara, tanto de manera simultánea como por separado, los analitos de interés, sin que existan interferencias de impurezas, productos de degradación, compuestos relacionados, excipientes u otras sustancias previsibles en la matriz de la muestra o los insumos, es esencial [20].

2.4.3. Exactitud; veracidad.

La precisión de un análisis se relaciona con el grado de concordancia entre los resultados obtenidos y el valor real, o con qué tan cercanos están los resultados al valor verdadero según el procedimiento utilizado. Este concepto se expresa matemáticamente a través de un error, que puede ser sistemático o de sesgo. Una menor presencia de sesgo indica una mayor exactitud en los resultados, siendo crucial evaluar la exactitud de un método de ensayo en su totalidad y no confundirla con la precisión [30].

2.4.4. Límite de Detección.

Es la menor concentración de analito en una muestra que puede ser detectada por una única medición, bajo las condiciones experimentales establecidas [30].

2.4.5. Límite de Cuantificación.

Es la menor concentración o cantidad de analito de una muestra que puede determinarse con precisión y exactitud bajo las condiciones experimentales establecidas. Parámetro que solo será incluido en la determinación de impurezas y/ o productos de degradación [30].

2.4.6. Linealidad.

La linealidad de un método de ensayo es su capacidad para obtener resultados de prueba que sean proporcionales ya sea directamente, o por medio de una transformación matemática bien definida, a la concentración de analito en muestras en un intervalo dado [31].

2.4.7. Precisión.

Es el grado de concordancia entre los valores de una serie repetida de, ensayos efectuados sobre una muestra homogénea o, expresado en otra forma, la distribución de los valores analíticos alrededor de la media. Dentro del término precisión del método se pueden distinguir tres tipos de estudios [32].

- Repetibilidad: La Repetibilidad expresa la precisión bajo las mismas condiciones de operación en un periodo corto de tiempo (misma muestra, mismo analista, mismo laboratorio, mismo equipo, mismo día, etc.)
- Reproducibilidad: La reproducibilidad implica la ejecución del procedimiento o método analítico en diversos laboratorios, como puede ser el caso de un estudio colaborativo. Su representación se realiza empleando los mismos parámetros matemáticos utilizados para describir la repetibilidad [24].

- Precisión intermedia: La precisión intermedia expresa la variación dentro de un laboratorio por ejemplo en diferentes días, con diferentes analistas o con equipo diferente dentro del mismo laboratorio, con la misma muestra homogénea [20].

2.4.8. Incertidumbre.

La Guía para la Expresión de la Incertidumbre de la Medida define a la incertidumbre como “Parámetro asociado al resultado de una medida, que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mensurando”. CITA17025 Mientras que en el vocabulario internacional de metrología VIM, se la define como: “parámetro no negativo que caracteriza la dispersión de los valores atribuidos a un mensurando, a partir de la información que se utiliza” [33].

La incertidumbre de un resultado puede surgir de algunas posibles fuentes, siendo algunos ejemplos: la definición incompleta del mensurando, el muestreo, efectos de matriz e interferencias, condiciones ambientales, incertidumbres de equipos máxicos o volumétricos, valores de referencia, aproximaciones y asunciones incorporadas en el método de medida y procedimiento, y variaciones aleatorias.

Magnitudes de Entrada y Magnitudes de Influencia. Las magnitudes de entrada son aquellas que sin ser el mensurando son parte del valor del mensurando o lo afectan [33].

2.5. Consideraciones de interés en las Normas Técnicas Ecuatorianas (NTE INEN)

Entre las normas técnicas ecuatorianas vinculadas al proceso de determinación del metanol en alcohol etílico, su determinación, requisitos, y términos de interés que ayudan a una mejor comprensión del método, se encuentran:

- Bebidas alcohólicas. Determinación de producto congéneres por cromatografía de gases. NTE INEN 2014
- Bebidas alcohólicas. Alcohol etílico de origen agrícola. Requisitos. NTE INEN 375.
- Bebidas alcohólicas. Términos y Definiciones NTE INEN 338.

La norma técnica NTE INEN 2014, destaca que una bebida alcohólica se obtiene mediante la fermentación alcohólica, la destilación de los productos de esta fermentación o la mezcla de sustancias resultantes de dichos procesos, además menciona que puede contener diversos ingredientes y, aunque no se le atribuyen propiedades terapéuticas, debe ser apta para el consumo humano [34].

Indica, además, que una bebida alcohólica es un destilado especial cuyo proceso se hace con una rectificación parcial con el fin de obtener un destilado con características que suelen acusar su origen. En virtud de ello, el añejamiento es el proceso que consiste en dejar desarrollar naturalmente en recipientes apropiados, ciertas reacciones químicas que confieren a la bebida cualidades organolépticas particulares del producto.

Dentro de esas reacciones, se forman los Congéneres, los mismos que son sustancias volátiles naturales, diferentes a los alcoholes etílico y metílico, las cuales provienen de las materias primas empleadas o que se han originado durante el proceso de elaboración de la bebida alcohólica. Otro producto de obtención, es el Mosto, el cual es todo sustrato fermentable, obtenido a partir de frutas, cereales o de otros productos naturales; ricos en carbohidratos susceptibles de transformarse en etanol, mediante procesos fisicoquímicos o bioquímicos [34].

Entre los términos y definiciones de esta misma normativa, se encuentra el Alcohol etílico de origen agrícola, definiéndose como “un producto obtenido a través del proceso de destilación y purificación de mostos generados únicamente por la fermentación alcohólica de materias primas agrícolas con contenido de azúcar o almidón, además de la rectificación de aguardientes o destilados alcohólicos simples”.

El alcohol etílico de origen agrícola se clasifica en: Alcohol extraneutro, que presenta un grado alcohólico mínimo de 96 % de fracción volumétrica con un contenido total de congéneres que se muestra en la tabla 1. Alcohol neutro, con un grado alcohólico mínimo de 95 % de fracción volumétrica y cuyo contenido total de congéneres se presenta en la tabla I.

Independientemente de su clasificación, el alcohol etílico de origen agrícola debe reunir los siguientes criterios:

- Mostrar una apariencia clara e incolora.
- No contener sabores ni olores no característicos.
- Cumplir con los estándares físicos y químicos establecidos en la tabla I.

TABLA I
REQUISITOS FÍSICOS Y QUÍMICOS PARA EL ALCOHOL ETÍLICO DE ORIGEN AGRÍCOLA

Requisito	Unidad	Alcohol etílico extraneutro		Alcohol etílico neutro		Método de ensayo
		Mín.	Máx.	Mín.	Máx.	
Alcohol, fracción volumétrica	%	96	-	95	-	NTE INEN 340
Acidez total, como acetato de etilo	mg/ 100 cm ³ (*)	-	1,5	-	3,0	NTE INEN 341
Esteres, como acetato de etilo	mg/ 100 cm ³ (*)		1,3	-	5,0	NTE INEN 2014
Aldehído como metanol	mg/ 100 cm ³ (*)		0,2	-	2,0	NTE INEN 2014
Furfural	mg/ 100 cm ³ (*)	-	0,01	-	0,01	NTE INEN 2014
Metanol	mg/ 100 cm ³ (*)	-	1,5		10,0	NTE INEN 2014
Alcoholes superiores **	mg/ 100 cm ³ (*)	-	0,7	-	3,0	NTE INEN 2014
* El volumen de 100 cm ³ corresponde el alcohol absoluto.						
** Los alcoholes superiores comprenden: Isopropanol, propanol, isobutanol, isoamilico, amílico.						

Nota: Cumplimiento de los requisitos físicos y químicos [34].

CAPÍTULO 3

3.1 Enfoque de la investigación

3.2 Tipo de investigación

Se realizó un estudio experimental, cuantitativo y documental para alcanzar los objetivos establecidos, obteniendo datos medibles. Este estudio permitió estandarizar un método para la cuantificación de la concentración de metanol, un producto congénere o adulterante de bebidas alcohólicas, utilizando la cromatografía de gases con FID como herramienta de análisis. El principio básico de la cromatografía de gases implica la evaluación comparativa de las áreas o alturas de los picos del analito con respecto a uno o más patrones. En condiciones controladas, se observa que ambos parámetros pueden experimentar variaciones en función de la concentración. Se realizó una exhaustiva revisión bibliográfica para recopilar información sobre estudios previos relacionados con el tema de investigación.

3.2.1. Variables

3.2.1.1. Variable Independiente

- Concentración de metanol en las muestras.

3.2.1.2. Variables Dependiente

- Áreas de cromatogramas como respuesta del detector.

3.2.2. Recursos

3.2.2.2 Materiales, equipos y reactivos

El agua utilizada fue agua desionizada de calidad analítica con una conductividad menor a 1 $\mu\text{S}/\text{cm}^2$ cumpliendo con las especificaciones.

Los reactivos fueron de calidad cromatográfica, el acetaldehído se almacenó protegido de la luz a una temperatura inferior a 5°C; los demás reactivos fueron almacenados a

temperatura ambiente. Todas las soluciones fueron conservadas en refrigeración.

TABLA II
MATERIAL UTILIZADO EN LOS PROCEDIMIENTOS

Material	Denominación (ml)	Cantidad	Marca
Matraz aforado	25	6	PYREX®
Matraz aforado	50	4	PYREX®
Matraz aforado	100	4	PYREX®
Matraz aforado	1000	2	PYREX®
Probeta graduada	500	2	PYREX®

Nota: Denominación y cantidad del material utilizado.

TABLA III
EQUIPOS UTILIZADOS EN LOS PROCEDIMIENTOS

Equipos y accesorios	Marca
Micropipeta 100-1000 µL	Transferpette BRAND
Densímetro digital	DMA 4500M
Balanza analítica	Sartorius
Jeringa	Agilent Technologies
Cromatógrafo de gases	Agilent Technologies 7890B
Autoinyector de muestras líquidas (ALS)	Agilent Technologies 7890B
Columna Capilar	Agilent
Autosampler	Agilent 7693A y PAL3
Viales de 2.0 ml	Agilent Technologies 7890B

Nota: Equipos y accesorios utilizados en el procedimiento

El material volumétrico (ver tabla 2), los equipos y accesorios de la tabla 3, fueron calibrados por una compañía acreditada por el SAE en estos parámetros, los certificados de calibración se muestran en el Anexo B.

TABLA IV
REACTIVOS Y MRC UTILIZADOS EN LOS PROCEDIMIENTOS.

Reactivos*	Pureza	Marca	Punto de ebullición
Metanol G.R.	99,5	Sigma - Aldrich	64,7°C
Metanol MRC	99,9	CPA CHEM	64°C
1-butanol G.R	99,8	Supelco	117,7°C
1-butanol MRC	97,9	CPA CHEM	117°C
Acetaldehido G.R	99.0	Sigma - Aldrich	20.2°C
Alcohol Etílico G.R	99,9	Supelco	78°C
Etanol	96.0	SODERAL S.A	78,4°C
Agua	Desionizada	N.A.	100,0°C

*Los nombres de los reactivos corresponden a sus nombres comerciales.

Nota: G.R: grado reactivo; MRC: material de referencia certificado, N.A: no aplica.

3.2.3. Métodos y técnicas

3.2.3.1. Técnicas para análisis de Alcohol

A continuación, se presenta un diagrama de flujo para la estandarización de los parámetros de validación de un método analítico para la cuantificación de metanol en alcohol etílico extraneutro mediante cromatografía de gases, siguiendo directrices de la norma NTE INEN 2014 en el laboratorio de calidad de SODERAL S.A.

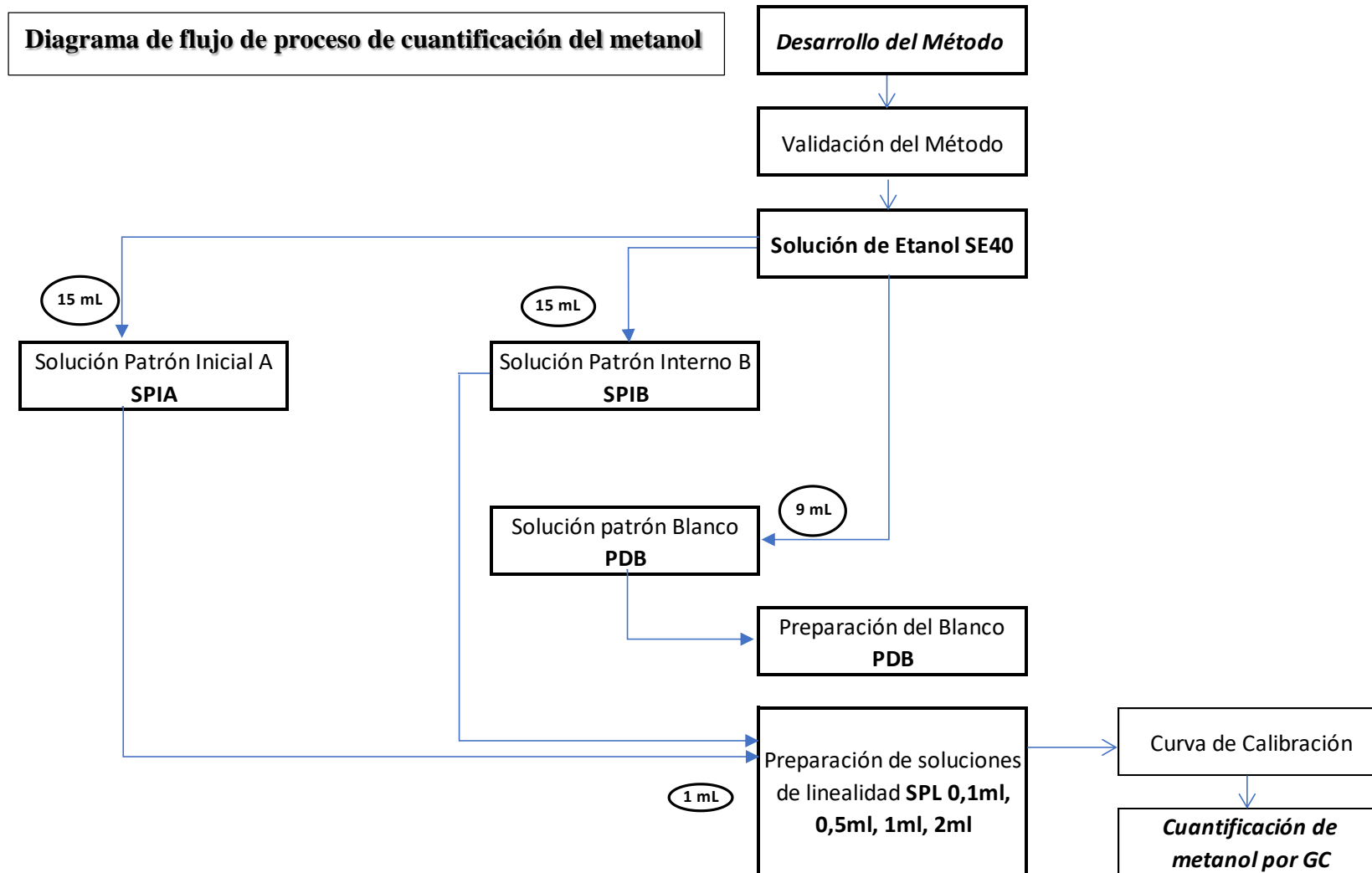


Fig. 3.1. Diagrama de flujo de cuantificación de metanol.

3.2.4. Preparación de soluciones estándar.

3.2.4.1. Solución de etanol al 40 % (fracción de volumen)

Para la elaboración de esta solución, se colocaron 400 ml de alcohol etílico grado reactivo libre de metanol en un matraz de 1000 ml, completando el volumen del matraz con agua desionizada.

3.2.4.2. Solución patrón inicial A

Para preparar esta solución se pesó un matraz aforado vacío de 25 ml de capacidad y se agregó 15 ml de solución de etanol para reducir al máximo la evaporación de los componentes, luego se agregaron 0.25 ml de metanol y se enrasó con la solución de etanol mezclándose cuidadosamente. Se midió la masa del matraz, vacío, tras la adición del metanol, y la masa final total.

3.2.4.3. Solución patrón interno B

Para preparar esta solución se pesó un matraz aforado vacío de 100 ml y se agregó 80 ml de solución etanol con el propósito de reducir al máximo la evaporación de los componentes, luego se agregó 1.0 ml de 1-butanol (patrón interno) enrasando con la solución de etanol y mezclando cuidadosamente. Se midió la masa del matraz vacío, tras añadir el 1-butanol, y la masa final total.

3.3. Implementación del método analítico

3.3.1. Preparación de la muestra

Se colocaron 40 ml de la muestra y se llevó a 100 ml con agua desionizada en una probeta graduada con tapa esmerilada, luego con una micropipeta se extrajeron 2 ml de la solución en la probeta para añadir 2ml de la solución de patrón interno. Las muestras fueron almacenadas a una temperatura inferior a 5°C antes de su análisis para reducir al máximo la pérdida de sustancias volátiles.

3.3.2. Preparación del blanco

Para preparar el blanco se colocó en una probeta graduada con tapa esmerilada,

100 ml de solución de etanol al 40%(v/v), se extrajeron con una micropipeta 2 ml y luego se añadieron 2ml de la solución de patrón interno. Se homogenizó el contenido realizando por lo menos 20 inversiones. Almacenándose a una temperatura inferior a 5°C antes de su análisis para reducir al máximo la pérdida de sustancias volátiles.

3.3. Verificación de método analítico.

Para el desarrollo de este capítulo se diseñó el siguiente esquema de proceso, con el cual se desarrolló el proceso de validación.

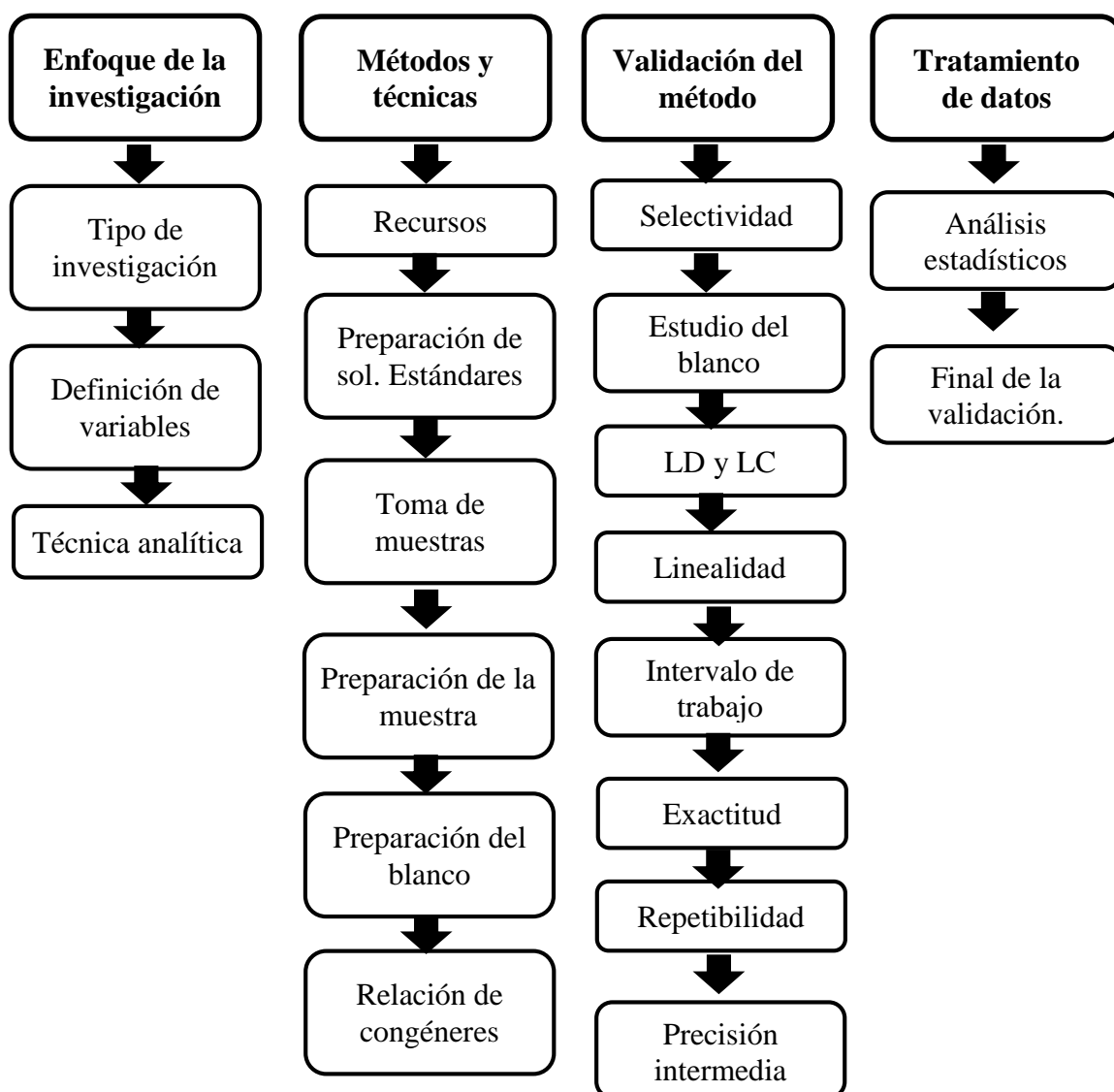


Fig. 3.2 Verificación de método analítico.

3.4.1. Preparación de las soluciones patrones de linealidad

Preparación de solución patrón de linealidad (PSPL)

S1 0.1ml

Se pesó un matraz aforado vacío de 100 ml y agregó 80 ml de solución etanol, y 0.1 ml de la solución A (SPIA) y 1 ml de la solución B (SPIB) y se enrasó con solución de etanol y mezclando cuidadosamente. Se midió la masa del matraz, vacío, después de la adición del SPIA y SPIB, así como la masa final total.

S2 0.5ml

Se pesó un matraz aforado vacío de 100 ml y agregó 80 ml de solución etanol, y 0.5 ml de la solución A (SPIA) y 1 ml de la solución B (SPIB) y se enrasó con solución de etanol y mezclando cuidadosamente. Se midió la masa del matraz, vacío, después de la adición del SPIA y SPIB, así como la masa final total.

S3 1.0ml

Se pesó un matraz aforado vacío de 100 ml y se agregó 80 ml de solución etanol, luego 1 ml de la solución A (SPIA) y 1 ml de la solución B (SPIB) y se enrasó con solución de etanol y mezclando cuidadosamente. Se midió la masa del matraz, vacío, después de la adición del SPIA y SPIB, así como la masa final total.

S4 2.0ml

Se pesó un matraz aforado vacío de 100 ml y se agregó 80 ml de solución etanol, luego 2 ml de la solución A (SPIA) y 1 ml de la solución B (SPIB) y se enrasó con solución de etanol y mezclando cuidadosamente. Se midió la masa del matraz, vacío, después de la adición del SPIA y SPIB, así como la masa final total.

3.4.2. Diseño experimental de la Validación del Método

3.4.3. Selectividad

Se realizaron corridas de cada analito por separado, para verificar los tiempos de retención y determinar posible interferencia.

Día 1. Analista 1 Analizó 6 veces de forma individual la muestra de alcohol que contiene metanol.

Día 1. Analista 1 Analizó 6 veces de forma individual la muestra de alcohol que contiene acetaldehído.

Día 2. Analista 1 Analizó 3 veces de forma individual una muestra de un mix de metanol y acetaldehído.

Se aceptará como criterio de aceptación el $\alpha > 1$ de acuerdo a la fórmula siguiente.

$$\alpha = \frac{(t_R)_B - t_M}{(t_R)_A - t_M} \quad \text{Ec(1)}$$

Donde,

t_R = Tiempo de retención.

t_M = Tiempo muerto.

3.4.4. Estudio del blanco

Para el estudio del blanco se realizaron corridas por triplicado de una muestra diluida de etanol grado HPLC (libre de metanol) al 40%.

El criterio de aceptación del blanco fue que la señal sea menor al límite de detección del método.

3.4.5. Límite de detección (LD) y Límite de cuantificación (LC)

De acuerdo con la norma NTE INEN 2014:2018, en la elaboración de la curva de calibración el estándar de menor concentración es de alrededor de 1 mg/100ml, lo cual hace prever que el límite de cuantificación esta alrededor de este valor, se realizaron 10 repeticiones de una solución estándar de aproximadamente de 1 mg/100ml, en un mismo día con un solo analista. Entre los criterios de aceptación: el porcentaje de recuperación debe encontrarse entre 80-110%; y, el coeficiente de variación no debe sobrepasar el 7.3% de acuerdo a lo establecido en la AOAC [35].

Día 3. Se realizaron 10 repeticiones en una concentración aproximada de 1mg/100 ml.

Con los resultados de la desviación estándar del grupo de datos se determinó el límite de detección y de cuantificación.

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}} \quad \text{Ec(2)}$$

$$\text{LD} = 3 * s'_0$$

$$\text{LC} = 10 * s'_0$$

3.4.6. Linealidad

Se realizó la gráfica con estándares preparados con un blanco y 4 niveles de metanol; además de un patrón interno de 1-butanol, para la función respuesta se tomaron las áreas para cada una de las concentraciones.

Día 4. Se realizaron tres curvas de calibración analizando un blanco y cuatro estándares con las siguientes concentraciones aproximadas 1, 5, 10, 20 mg/100ml. El criterio de aceptación para cada una de las curvas es que su regresión lineal obtenga un $r^2 > 0,99$.

Los intervalos de confianza de los parámetros **b** (ordenada al origen) y **a** (pendiente de la curva) se calcularon de acuerdo a las siguientes ecuaciones.

$$a \pm t.Sa \qquad b \pm t.Sb$$

t es la Student para n-2 grado de libertad y el nivel de significación correspondiente.

3.4.7. Exactitud

La veracidad del método se determinó por comparación de la evaluación experimental en condiciones del laboratorio y de repetibilidad con el valor asignado de un material de referencia certificado en concentraciones aproximadamente de 1, 7.5 y 15 mg/100ml. Sobre estos resultados se determinó el % de recuperación, siendo el criterio de aceptación establecido de 80-110%

para la concentración de 1mg/100ml y de 90-107% para las concentraciones de 7.5 y 15 mg/100ml, de acuerdo a lo establecido en la AOAC [35]

Día 6. Se realizaron análisis por triplicado a una solución de MRC en los tres niveles establecidos.

TABLA V
RECUPERACIÓN ESPERADA EN FUNCIÓN A LA CONCENTRACIÓN.

Analito %	Fracción de masa (C)	Unidad	Media Recuperación %
100	1	100%	98 – 102
10	10 ⁻¹	10%	
1	10 ⁻²	1%	97 – 103
0,1	10 ⁻³	0,1%	95 – 105
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm (mg/kg)	90 – 107
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg/kg)	80 – 110
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg/kg)	
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg/kg)	
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg/kg)	60 – 115
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg/kg)	40 – 120

Nota: Tabla del programa del método verificados por pares de la AOAC [35]

3.4.8. Repetibilidad.

Día. 6 se realizaron análisis de una muestra de concentración cercana 7,5 mg/100ml del metanol, de la cual se realizaron cuatro repeticiones por un mismo analista en el mismo día. Como criterio de aceptación se utilizó el coeficiente de variación para repetibilidad que debe ser menor a 5.3%, de acuerdo a lo establecido en la AOAC

TABLA VI
 PRECISIÓN ESPERADA EN FUNCIÓN A LA CONCENTRACIÓN DEL ANALITO (REPETIBILIDAD).

Analito %	Fracción de masa (C)	Unidad	RSDr %
100	1	100%	1,3
10	10 ⁻¹	10%	1,9
1	10 ⁻²	1%	2,7
0,1	10 ⁻³	0,1%	3,7
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm (mg/kg)	5,3
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg/kg)	7,3
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg/kg)	11
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg/kg)	15
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg/kg)	21
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg/kg)	30

Nota: Tabla del programa del método verificados por pares de la AOAC [35]

3.4.9. Precisión Intermedia

La precisión intermedia del método se realizó mediante 6 determinaciones del contenido de metanol de 3 muestras en concentración cercana a 1, 7.5 y 15 mg/100 ml evaluadas en condiciones de laboratorio. Días, 6,7, 8 un analista por día. Como criterios de aceptación se utilizaron los coeficientes de variación en cada nivel, (nivel bajo 11% y niveles medio y alto 8%); además se realizó cálculo de ANOVA donde el F calculada es < al F crítica.

TABLA VII
 DESVIACIÓN ESTÁNDAR RELATIVA PREVISTA DE LA REPRODUCIBILIDAD

Analito %	Fracción de masa (C)	Unidad	RSDR%
100	1	100%	2
10	10 ⁻¹	10%	3
1	10 ⁻²	1%	4
0,1	10 ⁻³	0,1%	6
0,01	10 ⁻⁴	100 ppm (mg/kg)	8
0,001	10 ⁻⁵	10 ppm (mg/kg)	11
0,0001	10 ⁻⁶	1 ppm (mg/kg)	16
0,00001	10 ⁻⁷	100 ppb (µg/kg)	22
0,000001	10 ⁻⁸	10 ppb (µg/kg)	32
0,0000001	10 ⁻⁹	1 ppb (µg/kg)	45

Nota: Tabla del programa del método verificados por pares de la AOAC [35]

3.5. Análisis estadísticos

Los análisis estadísticos usados son: estadística descriptiva, análisis de la varianza, análisis de correlación lineal. Para estos análisis se utilizó una hoja de cálculo de Excel para la interpretación del resultado de la estadística inferencial, corroborando la validez de los cálculos utilizando el software R versión 4.1.2., para las pruebas de significancia.

Además, se calculó la estimación de la incertidumbre del método.

3.6. Incertidumbre

Para la determinación de la incertidumbre asociada al análisis del metanol por cromatografía de gases, se realizó la técnica del análisis del Ishikawa, en la cual se detallan los factores de influencia utilizando un diagrama de espina de pescado (figura3.3). Tales como equipos, materiales, mano de obra y métodos.

DIAGRAMA ISHIKAWA

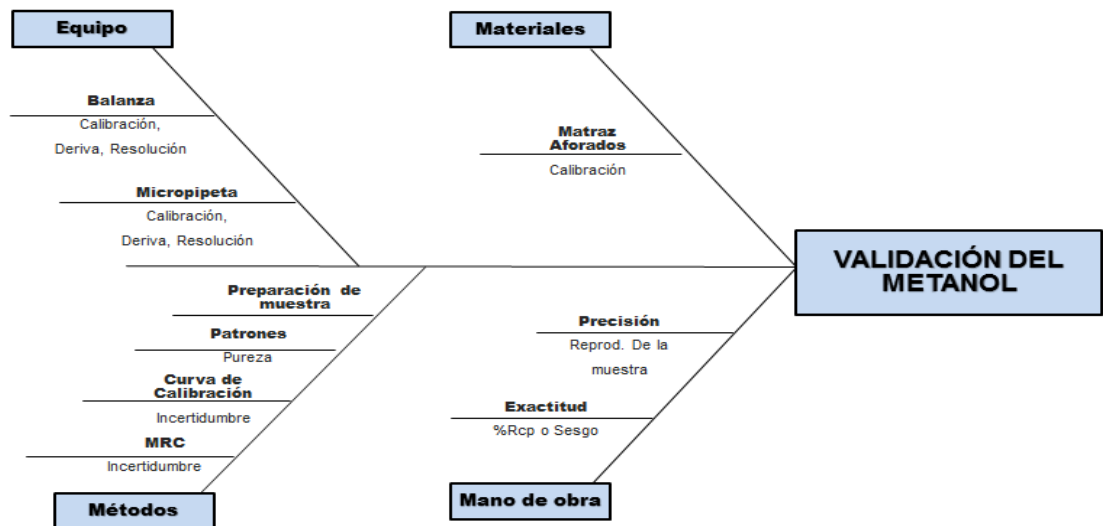


Fig. 3.2 Diagrama Ishikawa

CAPÍTULO 4

4.1. Resultados.

Los datos alcanzados se basaron en el estudio, interpretación y tabulación de los resultados obtenidos mediante los análisis realizados en el laboratorio, con métodos estadísticos determinados de la revisión bibliográfica del método de análisis y validación, con los cuales se obtuvieron datos veraces.

4.1.1. Selectividad.

Se realizaron corridas de cada analito por separado, para verificar los tiempos de retención y determinar posible interferencia. El tiempo de retención del acetaldehído fue de 7,97 min y el del metanol fue de 8,16 min; y, el ancho de banda fue de 0,538 min y 0,682 min, respectivamente. Al analizar con la mezcla de acetaldehído y metanol, se obtiene tiempo de retención 7,92 min para el acetaldehído y 8,24 min para el metanol, similares a los obtenidos individualmente; en el caso de los anchos de bandas se determinaron de 0,23 min para el acetaldehído y 0,32 min para el metanol. Al determinar la resolución del pico de acetaldehídos y metanol se obtuvo un factor de selectividad, $\alpha = 1,05$; como se observa en la tabla VIII.

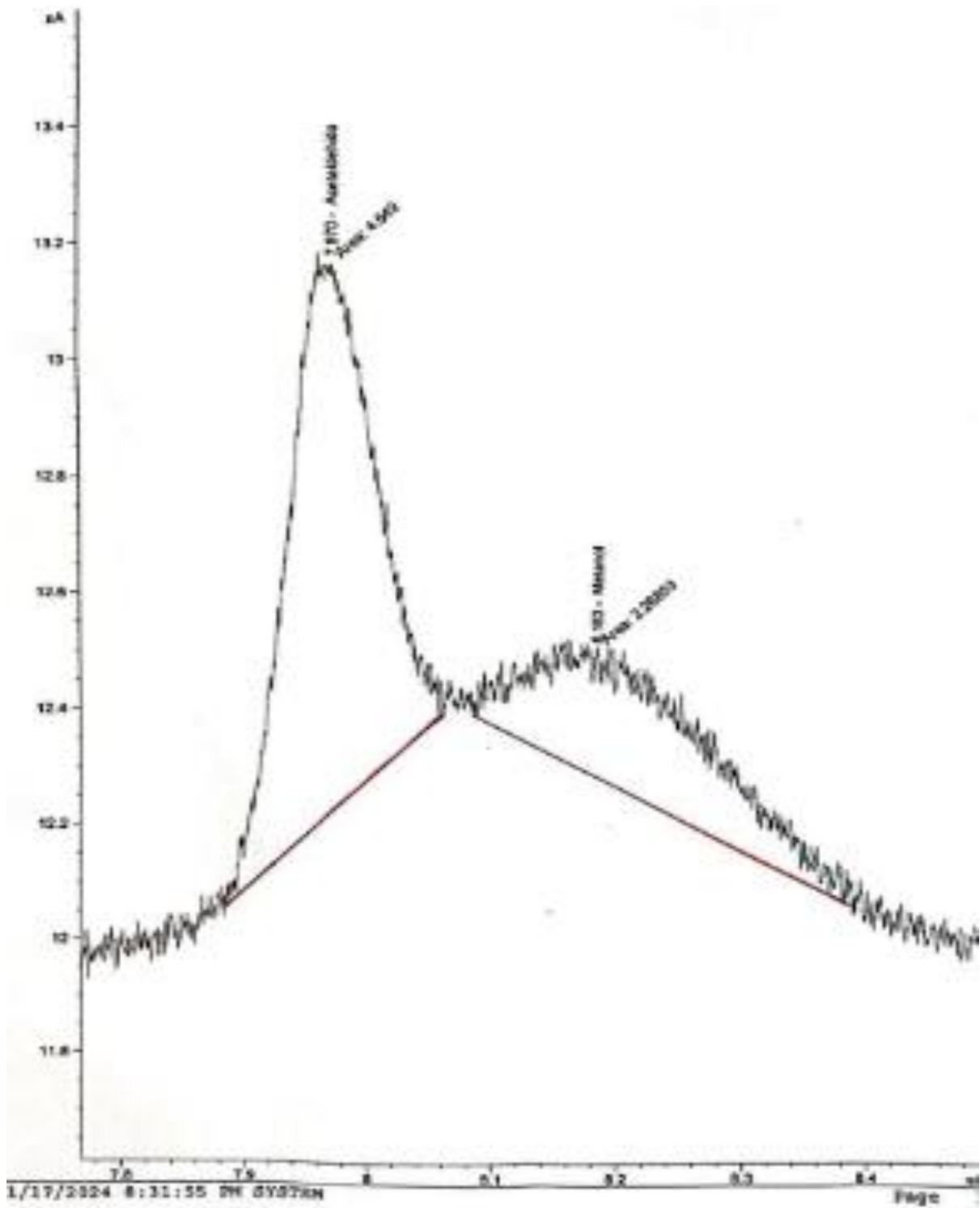


Fig. 4.3 Cromatografía de la mezcla del Acetaldehído y del Metanol.

TABLA VIII

DETERMINACIÓN DEL TIEMPO DE RETENCIÓN Y DE INTERFERENTES EN EL PARÁMETRO DE SELECTIVIDAD

fecha de elaboración	Réplica	Resultado tiempo de retención METANOL	Tiempo Inicial integración (min)	Tiempo final integración (min)	W_{metanol} Ancho pico en la base (min)	Resultado tiempo de retención ACETALDEHIDO	Tiempo Inicial integración (min)	Tiempo final integración (min)	$W_{\text{acetaldehido}}$ Ancho pico en la base (min)
2024-01-14	corrida 1	8,1420	8,10	8,30	0,20	7,874	7,82	8,07	0,25
	corrida 2	8,2780	8,12	8,48	0,36	7,973	7,86	8,08	0,22
	corrida 3	8,2990	8,10	8,50	0,40	7,902	7,78	7,99	0,21
	X	8,24	8,11	8,43	0,32	7,92	7,82	8,05	0,23
	DS	0,09				0,05			
	CV	1,03				0,64			

Nota: Resultados del tiempo de retención del metanol y acetaldehído

Factor de selectividad (α)

$$\alpha = \frac{(8,24)_B - 0}{(7,92)_A - 0} = 1,05$$

$$= 1,05 > 1$$

$\alpha = 1$: los compuestos no están separados.

$\alpha > 1$: Los máximos de los picos cromatográficos están separados.

4.1.2. Estudio del Blanco

Se realizó el análisis bajo las condiciones de repetibilidad en un mismo día, con un sólo analista; utilizando una solución de etanol grado reactivo libre de metanol. Los resultados reportan al metanol como no detectable, lo cual se observa en la figura 4.4.

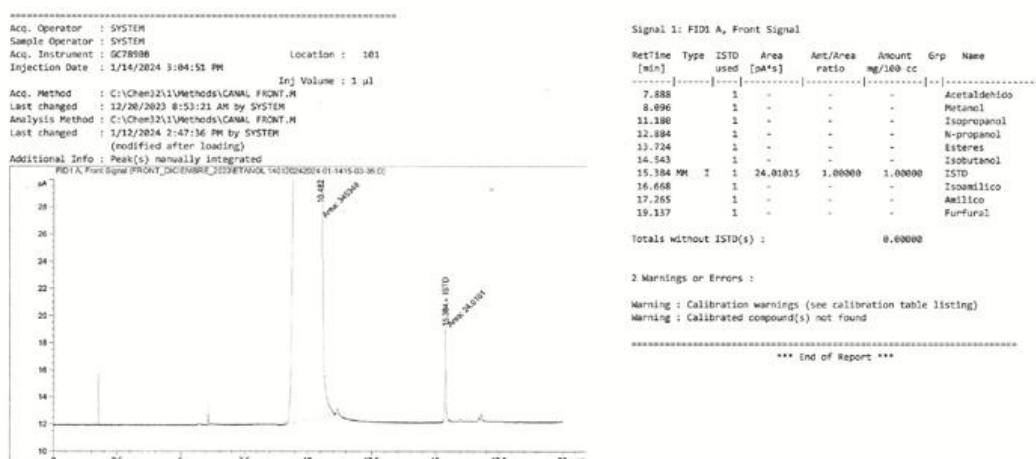


Fig. 4.4 Cromatografía Estudio del Blanco

4.1.3. Límite de detección (LD) y Límite de cuantificación (LC).

La guía Eurachem, menciona que se puede determinar el LD Y LC para cromatografías donde el blanco es igual a cero, con una fortificación de una baja concentración del analito [33]. Luego de la determinación de 10 réplicas del estándar con concentración de 1,044 mg/100 ml de metanol, Los resultados obtenidos, porcentaje de recuperación de 100,5%. LD de 0,04 mg/100ml y un LC de 0,12 mg/100ml de metanol reportados en la tabla IX, lo cual es también a partir de datos de la curva de calibrado con el estándar bajo que la norma NTE INEN 2014 utilizada para la curva de calibración.

TABLA IX
DETERMINACIÓN DE LOS LÍMITES DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN.

Estadístico	Resultado
Desviación estándar (s)	0,038
Desviación estándar calculada(s_0)	0,012
Promedio	1,049
%Recuperación	100,5
% CV	3,61
LD = 3*s₀	0,04
LC = 10*s₀	0,12

Nota: Calculo estadístico para LD y LC a partir de una concentración baja.

4.1.4. Linealidad.

Luego de realizar tres curvas de calibración con un blanco y cuatro niveles de concentración se obtuvieron como resultados los valores b, a, r², Sb y Sa que corresponden a los estadísticos: pendiente de la curva, ordenada al origen, coeficiente de determinación, error de la pendiente y error de la ordenada al origen, respectivamente, reportados en la tabla X.

TABLA X
ESTADÍSTICO DE LA ESTIMACIÓN LINEAL DE TRES CURVAS DE ANÁLISIS DE METANOL POR
CROMATOGRAFÍA DE GASES CON USO ESTÁNDAR INTERNO

Curvas de calibración	b	a	r ²	Sb	Sa
Curva 1	2,3283	-0,6896	0,9979	0,0622	0,6770
Curva 2	2,3510	-0,7894	0,9972	0,0718	0,7815
Curva 3	2,3330	-0,6608	0,9977	0,0644	0,7006
Promedio	2,3374	-0,7132	0,9976	0,0661	0,7197

Nota: Resultado del cálculo estadístico de la estimación de tres curvas

Los resultados en la tabla X, presentan coeficientes de correlación de r² mayor a 0,99 para todas las curvas de calibrado, cumpliendo así con el objetivo de validación planteado inicialmente; lo que evidencia que existe una buena correlación entre la concentración del metanol y la función respuesta del equipo; además, los resultados de b, a, r², Sa y Sb, fueron usados para calcular límites,

superior e inferior, tanto para la pendiente (b) como para la ordenada al origen (a).

Los límites superior e inferior para la pendiente, ordenada al origen y coeficiente de determinación detallados en la tabla XI, permitieron generar una tabla de control de datos respecto a las curvas de trabajo que se aceptan para continuar el análisis, esto se realizó con los valores promedios de Sb y Sa y un valor de t-student crítica para dos grados de libertad a un 95% de probabilidad, la cual es de 4,3027, obteniéndose valores de t calculada Sb y Sa.

TABLA XI
LÍMITES SUPERIOR E INFERIOR DE LOS ESTADÍSTICOS b, a Y r² EN LA EVALUACIÓN DE LINEALIDAD DEL ANÁLISIS DE METANOL POR CROMATOGRAFÍA DE GASES

Límites	b	A	r ²
Límite superior	2,62200	2,38330	0,99760
Límite inferior	2,05282	-3,80980	0,99721

Nota: Promedios y límite superior e inferior de b, a y r²

4.1.5. Exactitud.

La determinación de exactitud resultó de la determinación de tres soluciones con concentración conocida de metanol de un MRC, cuyos valores teóricos fueron de 1,044 mg/100ml; 7,830 mg/100ml y 15,660mg/100ml, siendo los valores reales obtenidos luego de su análisis: 1,056 mg/100ml; 7,504 mg/100ml y 15,008 mg/100ml, con porcentajes de recuperación de 101,1%; 95,83% y 95,84% respectivamente, como se muestra en la tabla XII; lo cual indica que los valores obtenidos presentan un porcentaje de recuperación dentro de los valores establecido en el objetivo de validación, los mismos que fueron: para el nivel bajo de (80 a 110) % y para el nivel medio y alto de (90 a 107) % [35], cumpliendo con el criterio establecido para la veracidad del método de determinación de metanol por cromatografía de gases.

TABLA XII
DETERMINACIÓN DE LA EXACTITUD.

Contenido de metanol (mg/100ml)			
Muestra: SB243.1000	Nivel bajo	Nivel medio	Nivel alto
Promedio	1,056	7,504	15,008
DS	0,060	0,028	0,116
% CV	5,7	0,4	0,8
% Recuperación	101,1	95,83	95,84

Nota: Estimación de la exactitud en tres niveles bajo, medio y alto

4.1.6. Repetibilidad

En el parámetro de repetibilidad se obtuvieron los siguientes resultados: en el nivel bajo, un promedio de 1,109 mg/100ml de metanol, con un CV de 2,32%; en el nivel medio 7,436 mg/100ml, con un CV de 0,37%; y para el nivel alto 14,242 mg/100ml, con un CV de 0,27%, siendo el estadístico de interés para esta prueba el % de Coeficiente de Variación, el cual determina la dispersión de los datos respecto al promedio obtenido, por tanto un coeficiente de variación bajo sería presumible de una buena respuesta, no obstante, para corroborar esta afirmación, los datos obtenidos fueron comparados con lo establecido por la normativa AOAC [35] en cada rango de concentración, como lo muestra la tabla VI, para determinar su validez, demostrando el cumplimiento de la repetibilidad de la respuesta en cada nivel.

4.1.7 Precisión Intermedia

En cuanto a la reproducibilidad la concentración de metanol en una muestra de alcohol etílico extraneuro, la concentración promedio obtenido por tres analistas, con cuatro repeticiones, fue de 1,119 mg/100ml; 7,397 mg/100ml y 14,284 mg/100ml de metanol, con coeficientes de variación como respuesta para los tres analistas de 1,61%; 0,64% y 0,44% en los niveles bajo, medio y alto respectivamente, cumpliendo con lo establecido en la normativa AOAC [35]

Consecutivamente se realizó el análisis de la varianza de un factor a la muestra de etanol etílico rectificado extraneuro, con lo que se obtienen los siguientes resultados: en el nivel bajo un valor de $F = 0,89$ siendo este menor a la F crítica. Resultado que se repite en los niveles medio y alto, en donde se obtuvo un $F =$

3,18 para el nivel medio y $F = 0,89$ para el nivel alto, todos valores menores al F crítica = 4,26, lo cual indica que no existen diferencias significativas entre grupos, es decir, entre los analistas, corroborando la reproducibilidad de las mediciones en condiciones controladas.

Criterio que se ratifica con el valor de la probabilidad, el cual es de 0,443 para el nivel bajo; 0,090 para el nivel medio y 0,238 para el nivel alto, nuevamente todos inferiores al valor de probabilidad de 0,5; con lo que se concluye que las diferencias entre grupos no son significativas.

TABLA XIII
ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR: NIVEL BAJO

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista MO	4	4,435	1,109	0,0007
Analista GE	4	4,496	1,124	0,0002
Analista FM	4	4,493	1,123	0,0001

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0006	2	0,00029	0,89	0,443	4,26
Dentro de los grupos	0,0030	9	0,00033			
Total	0,0036	11				

TABLA XIV
ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR: NIVEL MEDIO

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista MO	4	29,75	7,436	0,0008
Analista GE	4	29,56	7,389	0,0033
Analista FM	4	29,46	7,366	0,0008

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,010	2	0,0052	3,18	0,090	4,26
Dentro de los grupos	0,015	9	0,0016			
Total	0,025	11				

TABLA XV
ANÁLISIS DE VARIANZA DE UN FACTOR: NIVEL ALTO

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista MO	4	56,966	14,242	0,0015
Analista GE	4	57,179	14,295	0,0046
Analista FM	4	57,268	14,317	0,0046

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,012	2	0,0060	1,69	0,238	4,26
Dentro de los grupos	0,032	9	0,0036			
Total	0,044	11				

4.1.7. Incertidumbre.

En el presente estudio para la estimación de la incertidumbre del método fueron cuantificadas cada una de las fuentes de incertidumbre identificadas, utilizando los datos obtenidos en los análisis de laboratorio para la validación de la metodología del metanol en alcohol etílico extraneuro, para cada nivel de trabajo.

TABLA XVI
DETERMINACIÓN DE INCERTIDUMBRE: MUESTRA DE NIVEL BAJO

Factores de influencia	U _i	U _c	μ _c	U	MRI-1	%U
Equipos	0,015	0,00023				
Materiales	0,088	0,00781				
Método	0,011	0,00013	0,093	0,187	1,119	8,35
Mano de obra	0,024	0,00057				

TABLA XVII
DETERMINACIÓN DE INCERTIDUMBRE: MUESTRA DE NIVEL MEDIO

Factores de influencia	U_i	U_c	μ_c	U	MRI-1	%U
Equipos	0,015	0,00023				
Materiales	0,088	0,00781	0,105	0,209	7,397	1,41
Método	0,045	0,00204				
Mano de obra	0,029	0,00086				

TABLA XVIII
DETERMINACIÓN DE INCERTIDUMBRE: MUESTRA DE NIVEL ALTO

Factores de influencia	U_i	U_c	μ_c	U	MRI-1	%U
Equipos	0,015	0,00023				
Materiales	0,088	0,00781	0,131	0,261	14,284	0,91
Método	0,084	0,00712				
Mano de obra	0,044	0,00191				

CAPÍTULO 5

5. CONCLUSIONES RECOMENDACIONES

5.1 CONCLUSIONES

- El laboratorio de control de calidad de SODERAL generó, implementó y adecuó a sus condiciones el procedimiento específico de ensayo para la determinación de metanol en matriz alcohol etílico rectificado extraneutro (GT.PR.SOD.PEEMAE.01) basándose en la Norma NTE INEN 2014, y en los resultados del estudio de validación del método, resultados que demostraron la eficacia del control.
- Se establecieron los parámetros de validación y los criterios de aceptación de la selectividad, límites de detección y cuantificación, linealidad, veracidad, repetibilidad, precisión intermedia e intervalo de trabajo, los cuales se evidencian en el plan de validación. (Apéndice H)
- El presente estudio permitió la ejecución de una validación del método para la determinación de metanol en el alcohol etílico rectificado extraneutro, mediante el análisis cromatográfico, donde se obtuvo un $\alpha=1,05$ demostrando la selectividad.
- Los resultados de la validación del método determinaron que el método está validado de acuerdo con los resultados obtenidos de selectividad con un $\alpha=1,05$, con un límite de detección de 0.04 mg/100ml, límite de cuantificación de 0.12 mg/100ml, siendo menor a 1.5 mg/100ml establecido como máximo permitido en la norma NTE INEN 375:2018. La linealidad con un r^2 de 0.9976, con un % de recuperación de 101.1, 95.8 y 95.8 para los niveles bajo, medio y alto respectivamente, de igual manera, la repetibilidad y precisión intermedia cumplieron con lo establecido, en el nivel bajo CV de 2.32%; en el nivel medio CV de 0.37%; y para el nivel alto CV de 0.27%, siendo el % de CV obtenido menor al establecido por la normativa en cada rango de concentración y la precisión

intermedia de un análisis de ANOVA se obtuvo f calculada de 0.89, 3.18 y 1.69 para concentraciones baja, media y alta respectivamente, siendo la f tabulada de 4.26, lo que indica que no existen diferencias significativas para tres analistas en tres días diferentes.

- Los resultados de los parámetros de validación fueron analizados estadísticamente mediante Excel y para la precisión además se corroboró con el programa Rstudio.
- La determinación de las fuentes de incertidumbre se realiza utilizando el método de Ischikawa, las cuales se expresan como incertidumbres estándar, posteriormente se realizó el cálculo de la incertidumbre combinada y finalmente utilizando el factor de cobertura $k=2$ se obtiene la incertidumbre expandida, la cual se usará en los certificados de ensayo.

5.2 RECOMENDACIONES

- Se recomienda validar los otros compuestos que se encuentran en el alcohol etílico extraneuro y que están normados de acuerdo a la NTE INEN 375:2018 que son: ésteres como acetato de etilo, aldehídos como etanal, furfural y alcoholes superiores.

CAPÍTULO 6

REFERENCIAS BIBIOGRÁFICAS

- [1] H. Marquina et al., “Concentración de metanol en algunas bebidas alcohólicas comercializadas en Venezuela por medio de la técnica GC-FID,” *Avances en Química*, vol. 13, no. 2. Venezuela, pp. 41–44, 2018.
- [2] A. Pincay, A. Rosero, and L. Solorzano, “Impacto de la acreditación y la certificación de los laboratorios clínicos y el aseguramiento de la calidad,” *Higía de la Salud*, vol. 8, no. 1, 2023.
- [3] D. Borroto, M. Lorenzo, R. García, and A. Reyes, “Aspectos generales sobre la determinación de alcoholes superiores en bebidas,” *ICIDCA. Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*, vol. 51, no. 3, 2017.
- [4] G. Gordillo, J. Aguilar, A. Narváez, and F. Ferriol, “Desarrollo, producción y análisis de bebidas alcohólicas destiladas empleando diez tipos de frutas autóctonas ecuatorianas,” *Polo del Conocimiento*, vol. 7, no. 6, pp. 267–280, 2022.
- [5] A. Gómez and A. Pérez, “Materias primas usadas para la producción de etanol de cuatro generaciones: retos y oportunidades,” *Agrociencia*, vol. 57, no. 7, pp. 967–990, 2018.
- [6] F. Brea, “Efectos de las bebidas adulteradas con metanol.” [Online]. Available: <https://ocoaenred.com/efectos-de-las-bebidas-adulteradas-con-metanol/>.
- [7] W. Moncayo, K. Moncayo, F. Villa, and E. Arguello, “Concentración de etanol mediante cromatografía de gases en muestras de humor vítreo de cadáveres,” *FACSalud UNEMI*, vol. 4, no. 6, pp. 56–62, 2020.
- [8] I. Gutiérrez and M. Rodríguez, “Procesos de obtención de acrilonitrilo y ácido cianhídrico, sus usos y la reactivación de estos en la actualidad,” 2015, [Online]. Available: <https://tesis.ipn.mx/bitstream/handle/123456789/20700/Procesos%20de%20obtencion%20del%20acrilonitrilo%20y%20acido%20cianhidrico%2C%20sus%20usos%20y%20la%20reactivacion%20de%20estos%20en%20la%20actualidad.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

- [9] A. Velasco, “Farmacología y toxicología del alcohol etílico, o etanol,” *Anales de la Real Academia de Medicina y Cirugía de Valladolid*, vol. 51, pp. 242–248, 2014.
- [10] F. C. Casado, “Innovación tecnológica en la industria de bebidas,” https://upcommons.upc.edu/bitstream/handle/2099.1/4867/00_Portada.pdf?sequence=1&isAllowed=y., 2006.
- [11] M. Melgar, A. Meneses, H. Orozco, O. Pérez, and R. Espinosa, “El cultivo de caña de azúcar en Guatemala,” CENGICAÑA, 2014.
- [12] T. Chipre and V. Ordoñez, “Elaboración de alcohol etílico a partir del corazón de la mazorca de choclo,” <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/20078/1/UPS-GT003158.pdf>, 2018.
- [13] O. Drummer, “Los congéneres del alcohol y la fuente del etanol,” *Enciclopedia de Ciencias Forenses*, pp. 318–322, 2013.
- [14] R. Ibarra and L. León, “Caracterización químico-física de vinazas de destilerías,” *Ciencia en su PC*, vol. 1, no. 2, pp. 1–13, 2018.
- [15] CODANA, “CODANA,” <https://codana.com>, 2024.
- [16] Ministerio de salud pública MSP, “Actualización: Intoxicación por alcohol adulterado,” <https://www.salud.gob.ec/actualizacion-intoxicacion-por-alcohol-adulterado-4/>, 2022.
- [17] D. Hormaza, “Algunos antecedentes históricos, socio-culturales de las bebidas alcohólicas en Ecuador dirigido a los estudiantes de arte y turismo,” *Tercio Creciente*, vol. 18, pp. 57–73, 2022.
- [18] K. Tenorio and I. Suárez, “Utilización del agua de lavado en una columna de destilación y reutilizarla en la fermentación alcohólica de la caña para mejorar su eficiencia,” <https://dspace.ups.edu.ec/bitstream/123456789/19847/1/UPS-GT003140.pdf>, 2020.
- [19] Servicio de Acreditación Ecuatoriano SAE, “La acreditación de laboratorios de ensayos y calibración según NTE INEN-ISO/IEC 17025:2018,” 2018.
- [20] N. López, L. Alcántara, and I. Gavilán, “Validación de la determinación cualitativa y cuantitativa de metanol en bebidas alcohólicas: un enfoque

- docente,” *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, vol. 6, no. 6, pp. 18–18, 2020.
- [21] L. Sánchez, “Determinación de metanol en bebidas alcohólicas fermentadas tradicionales y populares de mayor consumo en dos regiones de la República de Guatemala por cromatografía de gases,” http://biblioteca.usac.edu.gt/tesis/06/06_2379.pdf, 2005.
- [22] N. Rodríguez and D. Zambrano, “Producción de alcohol a partir de mucílago de café,” *Cenicafé*, vol. 62, no. 1, pp. 56–69, 2011.
- [23] D. Luna and R. Rodríguez, “Estandarización de los parámetros de validación de una método analítico para cuantificar la concentración de metanol en bebidas alcohólicas utilizando cromatografía de gases,” <https://repositorio.uta.edu.ec/bitstream/123456789/3070/1/BQ24.pdf>, 2012.
- [24] R. Mendez, “Guía Técnica para la Realización de la Validación de Métodos de Ensayo,” Santiago, 2015.
- [25] E. Cifuentes, “Determinación y cuantificación de metanol y congéneres en alcohol etílico, mediante la estandarización de una metodología cromatográfica en la industria licorera del Cauca,” <http://repositorio.unicauca.edu.co:8080/bitstream/handle/123456789/4263/Determinaci%C3%B3n%20y%20cuantificaci%C3%B3n%20de%20metanol%20y%20cong%C3%A9neres%20en%20alcohol%20et%C3%ADlico%20C%20mediante%20la%20estandarizaci%C3%B3n%20de%20una%20metodolog%C3%ADa>, 2018.
- [26] J. Téllez and M. Cote, “Alcohol etílico: Un tóxico de alto riesgo para la salud humana socialmente aceptado,” *Revista de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional de Colombia*, vol. 54, no. 1, pp. 32–47, 2006.
- [27] L. Suárez, R. Arellano, and E. Berna, “Metanol como marcador de abuso en el consumo de alcohol en muestras forenses,” *Revista de Toxicología*, vol. 26, no. 2, pp. 137–140, 2009.
- [28] R. Espinoza and C. Ovando, “Producción de etanol,” <https://cengicana.org/files/20150902101644863.pdf>, 1984.
- [29] K. Mayola, L. Martínez, and M. Rito, “Técnicas cromatográficas y su aplicación a estudios de cambios conformacionales, estabilidad y

- replegamiento de proteínas,” *Rev Mex Ing Quim*, vol. 11, no. 3, pp. 415–429, 2012.
- [30] Magnusson B and Ôrnemark U, *Eurachem Guide: The fitness for purpose of analytical methods - A laboratory guide to method validation and related topics*, 2nd ed. 2014. Accessed: Nov. 08, 2023. [Online]. Available: www.eurachem.org.
- [31] FDA, “FOOD AND DRUG ADMINISTRATION OFFICE OF REGULATORY AFFAIRS ORA Laboratory Manual Volume II Methods, Method Verification and Validation Sections in This Document,” 2020.
- [32] I. Taverniers, E. Van Bockstaele, and M. De Loose, “Analytical Method Validation and Quality Assurance,” in *Pharmaceutical Sciences Encyclopedia*, Wiley, 2010, pp. 1–48. doi: 10.1002/9780470571224.pse396.
- [33] M. Analíticas and P. E. Española, *Guía CG 4 EURACHEM / CITAC Cuantificación de la Incertidumbre en medidas analíticas*, 3ª. 2012.
- [34] NTE INEN 2014, “Bebidas alcohólicas. Determinación de productos congéneros por cromatografía de gases”.
- [35] AOAC International, “Appendix F: Guidelines for standard Method Performance Requeriments,” 2016.

CAPÍTULO 7

Apéndices y Anexos.

Apéndice A: Selectividad.

	Sociedad de Destilación de Alcoholes S.A.	Código: GT.PL.SOD.RVM.01
		Versión: 01
	Resultados de verificación de "Determinación de Contenido de Metanol en Alcohol Etilico Rectificado Extraneutro".	Fecha Edición: 23-11-06

PARÁMETROS EVALUADOS						
fecha de elaboración	Réplica	ANALISTA 1	Resultado tiempo de retención	Tiempo Inicial integración (min)	Tiempo final integración (min)	W_{metanol} Ancho pico en la base (min)
2024-01-14	corrida 1	MO	8,1490	7,85	8,55	0,70
	corrida 2		8,1970	7,89	8,53	0,64
	corrida 3		8,1660	7,85	8,55	0,70
	corrida 4		8,1440	7,87	8,50	0,63
	corrida 5		8,1490	7,83	8,57	0,74
	X		8,16	7,858	8,54	0,682
	DS		0,02			
	CV		0,27			

fecha de elaboración	Réplica	ANALISTA 1	Resultado tiempo de retención	Tiempo Inicial integración (min)	Tiempo final integración (min)	$W_{\text{acetaldéhid}}$ Ancho pico en la base (min)
2024-01-14	corrida 1	MO	7,9520	7,55	8,15	0,6
	corrida 2		8,0010	7,59	8,15	0,56
	corrida 3		7,9560	7,65	8,16	0,51
	corrida 4		7,9600	7,63	8,19	0,56
	corrida 5		8,0050	7,70	8,16	0,46
	X		7,97	7,624	8,162	0,538
	DS		0,03			
	CV		0,33			

METANOL

fecha de elaboración	Réplica	ANALISTA 1	Resultado tiempo de retención METANOL	Tiempo Inicial integración (min)	Tiempo final integración (min)	W_{metanol} Ancho pico en la base (min)	Resultado tiempo de retención ACETALDEHIDO	Tiempo Inicial integración (min)	Tiempo final integración (min)	$W_{\text{acetaldéhid}}$ Ancho pico en la base (min)
2024-01-14	corrida 1	MO	8,1420	8,10	8,30	0,20	7,874	7,82	8,07	0,25
	corrida 2		8,2780	8,12	8,48	0,36	7,973	7,86	8,08	0,22
	corrida 3		8,2990	8,10	8,50	0,40	7,902	7,78	7,99	0,21
	X		8,24	8,11	8,43	0,320	7,92	7,82	8,05	0,227
	DS		0,09				0,05			
	CV		1,03				0,64			

$$\alpha = \frac{(8.24)_B - 0}{(7.92)_A - 0} = 1.05$$

Apéndice B: Limite de Detección y Limite de Cuantificación

	Sociedad de Destilación de Alcoholes S.A.	Código: GT.PL.SOD.RVM.01
		Versión: 01
	Resultados de verificación de "Determinación de Contenido de Metanol en Alcohol Etilico Rectificado Extraneutro".	Fecha Edición: 23-11-06

1. MÉTODO DE ENSAYO Y REFERENCIA

INTERNO	GT.PR.SOD.RVM.01	REFERENCIA	NTE INEN 2014
TIPO	VALIDACIÓN	VERIFICACIÓN	X

2. RESULTADOS

PARÁMETRO	LÍMITE DE DETECCIÓN LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	RESPONSABLE	MARÍA ORTIZ
-----------	---	-------------	-------------

Información general:

Estándar utilizado:	Metanol	
Concentración:	100%	
Densidad	0,9487	g/ml
Matriz:	Alcohol etílico	

% Recuperación: 80 a 110
CV: 5% Literatura

TABLA RESULTADOS PRIMARIOS

Concentración estándar:	1,044 mg/100ml
Número de repeticiones	Resultados
	mg/100ml
1	1,001
2	1,120
3	1,046
4	1,034
5	1,064
6	1,027
7	1,028
8	1,088
9	1,074
10	1,005

Estadísticos:

Estadístico	Resultado
Desviación estándar (s)	0,04
Desviación estándar calculada(só)	0,012
Promedio	1,049
%Recuperación	100,5
% CV	3,6
LD = 3*s'₀	0,04
LC = 10*s'₀	0,12

$$s'_0 = \frac{s_0}{\sqrt{n}}$$

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
7.888		1	-	-	-		Acetaldehido
8.387	MM	1	2.07016	12.90302	1.02660		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.401	MM	I	26.01919	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.02660

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.010		1	-	-	-		Acetaldehido
8.317	MM	1	2.07561	12.90302	1.02953		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.391	MM	I	26.01356	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.02953

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.010		1	-	-	-		Acetaldehido
8.311	MM	1	2.11892	12.90302	1.07403		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.366	MM	I	25.45588	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.07403

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.047		1	-	-	-		Acetaldehido
8.173	MM	1	2.27636	12.90302	1.04627		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.398	MM	I	28.07299	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.04627

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.047		1	-	-	-		Acetaldehido
8.225	MM	1	2.24382	12.90302	1.00060		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.396	MM	I	28.93477	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.00060

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.010		1	-	-	-		Acetaldehido
8.237	MM	1	2.18208	12.90302	1.06351		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.395	MM	I	26.47404	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.06351

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.010		1	-	-	-		Acetaldehido
8.164	MM	1	1.95443	12.90302	1.00526		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.373	MM	I	25.08598	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.00526

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.010		1	-	-	-		Acetaldehido
8.225	MM	1	2.10047	12.90302	1.08828		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.377	MM	I	24.90404	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.08828

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.047		1	-	-	-		Acetaldehido
8.213	MM	1	2.49685	12.90302	1.12018		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.395	MM	I	28.76051	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural


Totals without ISTD(s) : 1.12018

Signal 1: FID1 A, Front Signal

RetTime [min]	Type	ISTD used	Area [pA*s]	Amt/Area ratio	Amount mg/100 cc	Grp	Name
8.010		1	-	-	-		Acetaldehido
8.225	MM	1	1.94741	12.90302	1.02837		Metanol
11.180		1	-	-	-		Isopropanol
12.884		1	-	-	-		N-propanol
13.724		1	-	-	-		Esteres
14.543		1	-	-	-		Isobutanol
15.378	MM	I	24.43439	1.00000	1.00000		ISTD
16.668		1	-	-	-		Isoamilico
17.265		1	-	-	-		Amilico
19.137		1	-	-	-		Furfural

Totals without ISTD(s) : 1.02837

Apéndice C: Linealidad

	Sociedad de Destilación de Alcoholes S.A.	Código: GT.PL.SOD.RVM.01
		Versión: 01
	Resultados de verificación de "Determinación de Contenido de Metanol en Alcohol Etilico Rectificado Extraneuro".	Fecha Edición: 23-11-06

1. MÉTODO DE ENSAYO Y REFERENCIA

INTERNO	GT.PR.SOD.RVM.01	REFERENCIA	NTE INEN 2014
TIPO	VALIDACIÓN	VERIFICACIÓN	X

2. RESULTADOS

PARÁMETRO	LINEALIDAD	RESPONSABLE	Maria Ortiz
-----------	------------	-------------	-------------

Nivel:	RANGO DE TRABAJO
--------	------------------

TABLA RESULTADOS PRIMARIOS

Estándares	Volumen (ml)	Peso (g)	Concentración (ug/g)
Blanco	0,00	0,0000	0,00
Estándar 1	0,10	0,1097	8,15
Estándar 2	0,50	0,5267	39,10
Estándar 3	1,00	1,0265	76,23
Estándar 4	2,00	1,9951	148,25

Estándares	Concentración (mg/100ml)	Área	Curva de calibración		ESTIMACIÓN LINEAL			
			Coefficiente de determinación R ²		b		a	
Blanco	0,00	0,0000	0,997862311		2,328271869	-0,689566017		
Estándar 1	1,16	2,7273	Intercepción	-0,689566017	sb	0,062217141	0,676963865	sa
Estándar 2	4,20	8,0603	Pendiente	2,328271869	r ²	0,997862311	1,10006346	syx
Estándar 3	10,50	22,7075			F	1400,384444	3	GL
Estándar 4	21,51	50,0681			suma de cuadrados	1694,660694	3,63041885	suma de cuadrados

Estándares	Concentración (mg/100ml)	Área	Curva de calibración		ESTIMACIÓN LINEAL			
			Coefficiente de determinación R ²		b		a	
Blanco	0,00	0,0000	0,997207894		2,350957284	-0,789387474		
Estándar 1	1,16	2,7300	Intercepción	-0,789387474	sb	0,071821957	0,781470647	sa
Estándar 2	4,20	8,0177	Pendiente	2,350957284	r ²	0,997207894	1,269886546	syx
Estándar 3	10,50	22,5697			F	1071,457642	3	GL
Estándar 4	21,51	50,5944			suma de cuadrados	1727,845281	4,837835522	suma de cuadrados

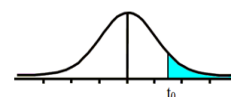
Estándares	Concentración (mg/100ml)	Área	Curva de calibración		ESTIMACIÓN LINEAL			
			Coefficiente de determinación R ²		b		a	
Blanco	0,00	0,0000	0,997720048		2,332994829	-0,660790808		
Estándar 1	1,16	2,7612	Intercepción	-0,660790808	sb	0,064388993	0,700595056	sa
Estándar 2	4,20	8,2897	Pendiente	2,332994829	r ²	0,997720048	1,138464048	syx
Estándar 3	10,50	22,5584			F	1312,817286	3	GL
Estándar 4	21,51	50,2742			suma de cuadrados	1701,542994	3,888301163	suma de cuadrados

3. CÁLCULOS MATEMÁTICOS Y ESTADÍSTICOS (Incluir las conclusiones correspondientes)

Establecimiento de límites

Curvas calibración	Establecimiento de límites				
	b	a	r ²	Sb	Sa
c1	2,3283	-0,6896	0,9979	0,0622	0,6770
c2	2,3510	-0,7894	0,9972	0,0718	0,7815
c3	2,3330	-0,6608	0,9977	0,0644	0,7006
Promedio	2,3374	-0,7132	0,9976	0,0661	0,7197
Máx	2,3510	-0,660790808	0,997862311		
mín	2,328271869	-0,789387474	0,997207894		
t(2GL)	4,3027				
b-prom	a-prom	r²-prom	Sb-prom	Sa-prom	
Promedio	2,33741	-0,71325	0,99760	0,06614	0,71968
Máx	2,62200	2,38330	1,00000	t* Sb-prom	0,28459
mín	2,05282	-3,80980	0,99721	t*Sa-prom	3,09655

Tabla t-Student



Grados de libertad	0.25	0.1	0.05	0.025	0.01	0.005
1	1.0000	3.0777	6.3137	12.7062	31.8210	63.6555
2	0.8165	1.8856	2.9200	4.3027	6.9645	9.9250
3	0.7649	1.6377	2.3534	3.1824	4.5407	5.8409
4	0.7407	1.5332	2.1318	2.7765	3.7469	4.6041
5	0.7267	1.4759	2.0150	2.5706	3.3649	4.0321

Figura 7.6 Datos primarios para el parámetro de linealidad

Datos de Curva de calibración de estándares 1

Resumen

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múlti	0,99893
Coefficiente de determinación R'	0,99786
R^2 ajustado	0,99715
Error típico	1,10006
Observaciones	5

ANÁLISIS DE VARIANZA

	<i>Grados de libertad</i>	<i>Suma de cuadrados</i>	<i>Promedio de los cuadrados</i>	<i>F</i>	<i>Valor crítico de F</i>
Regresión	1	1694,660694	1694,660694	1400,38	4,1974E-05
Residuos	3	3,63041885	1,210139617		
Total	4	1698,291113			

	<i>Coefficiente s</i>	<i>Error típico</i>	<i>Estadístico t</i>	<i>Probabilidad</i>	<i>Inferior 95%</i>	<i>Superior 95%</i>
Intercepción	-0,68957	0,67696	-1,01862	0,38338	-2,84397	1,46484
pendiente	2,32827	0,06222	37,42171	0,00004	2,13027	2,52627

Análisis de los residuales

<i>Observación</i>	<i>Pronóstico para Y</i>	<i>Residuos</i>	<i>Residuos estándares</i>
1	-0,68957	0,68957	0,72381
2	2,00696	0,72029	0,75607
3	9,09501	-1,03475	-1,08614
4	23,75967	-1,05215	-1,10441
5	49,39104	0,67704	0,71067

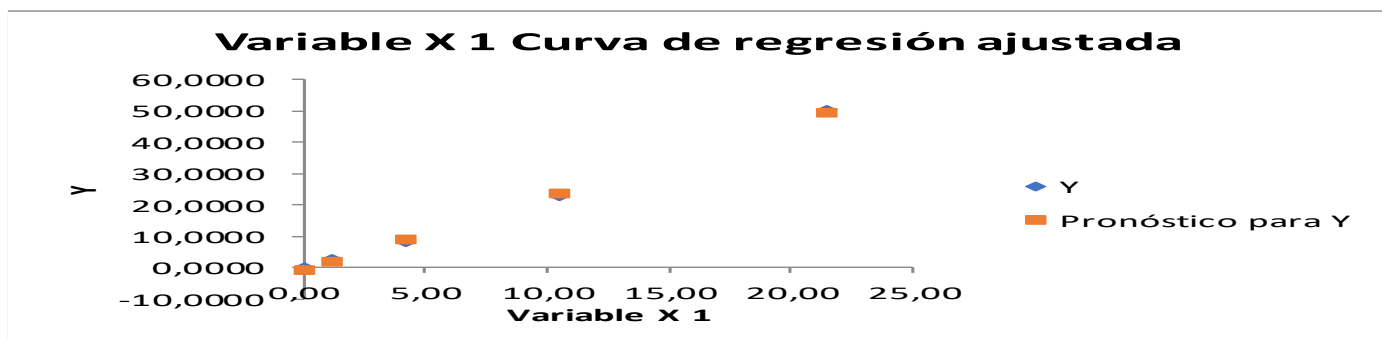
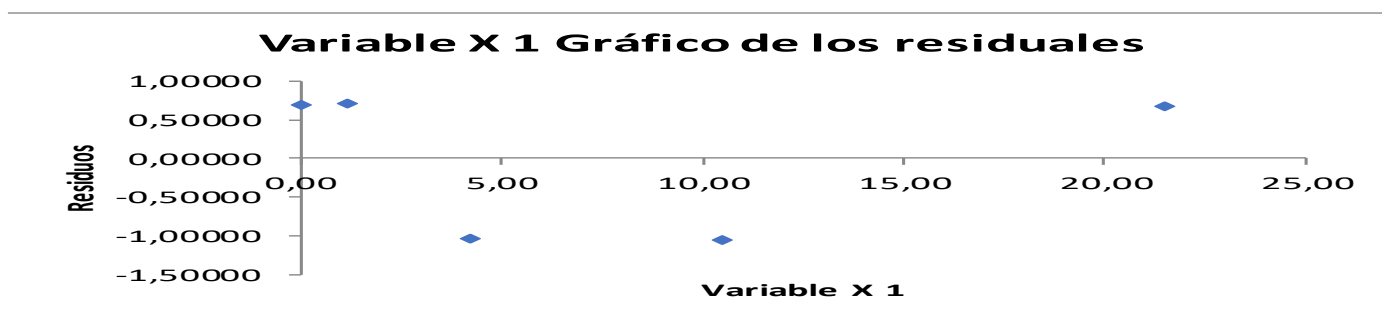


Figura 7.7 Curva 1 Análisis Estadísticos.

Datos de Curva de calibración de estándares 2

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,99860297
Coefficiente de determinación R ²	0,99720789
R ² ajustado	0,99627719
Error típico	1,26988655
Observaciones	5

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	1727,845281	1727,845281	1071,46	6,2669E-05
Residuos	3	4,837835522	1,612611841		
Total	4	1732,683116			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	-0,7893875	0,78147	-1,01013	0,38683	-3,27638	1,69760
pendiente	2,35095728	0,07182	32,73313	0,00006	2,12239	2,57953

Análisis de los residuales

Observación	Pronóstico para Y	Residuos	Residuos estándares
1	-0,78939	0,78939	0,71779
2	1,93341	0,79660	0,72434
3	9,09052	-1,07284	-0,97553
4	23,89807	-1,32837	-1,20788
5	49,77918	0,81522	0,74128

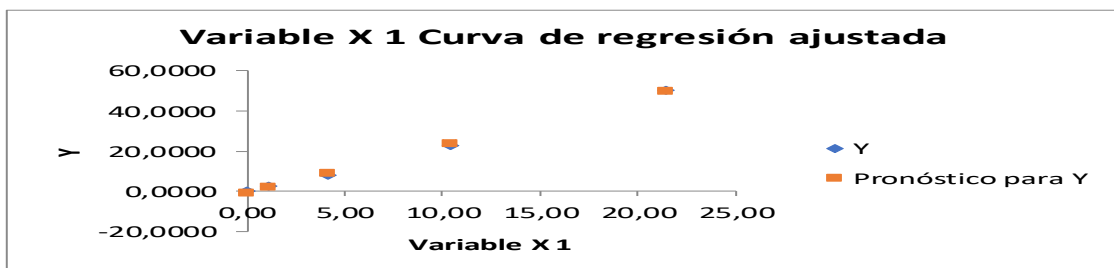
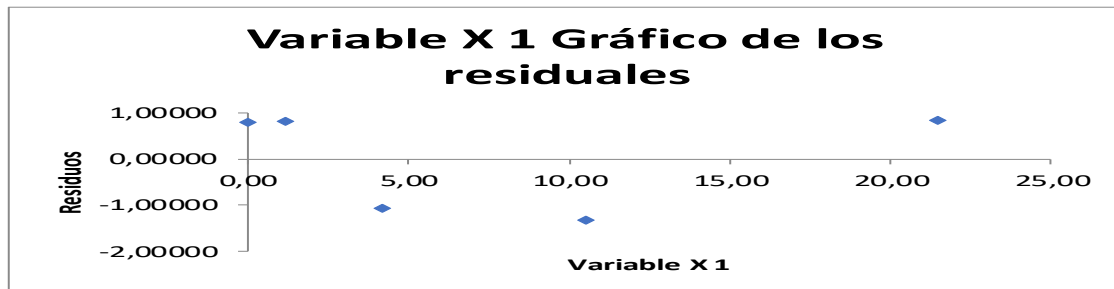


Figura 7.8 Curva 2 Análisis Estadísticos

Datos de Curva de calibración de estándares 3

<i>Estadísticas de la regresión</i>	
Coefficiente de correlación múltiple	0,998859374
Coefficiente de determinación R ²	0,997720048
R ² ajustado	0,996960064
Error típico	1,138464048
Observaciones	5

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	1701,542994	1701,542994	1312,82	4,62354E-05
Residuos	3	3,888301163	1,296100388		
Total	4	1705,431295			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%
Intercepción	-0,660790808	0,70060	-0,94319	0,41517	-2,89040	1,56882
pendiente	2,332994829	0,06439	36,23282	0,00005	2,12808	2,53791

Análisis de los residuales

Observación	Pronóstico para Y	Residuos	Residuos estándares
1	-0,660791	0,660791	0,670215
2	2,041204	0,719966	0,730234
3	9,143631	-0,853901	-0,866079
4	23,838039	-1,279639	-1,297889
5	49,521407	0,752783	0,763519

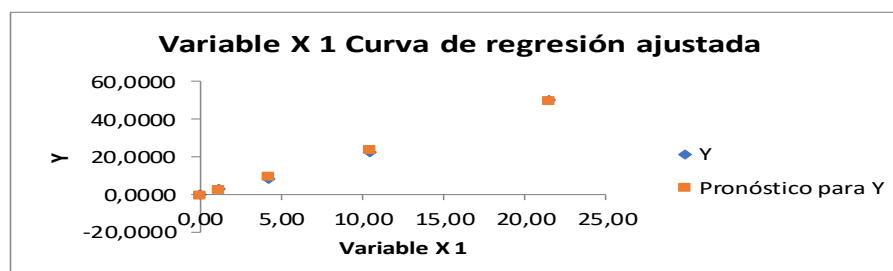
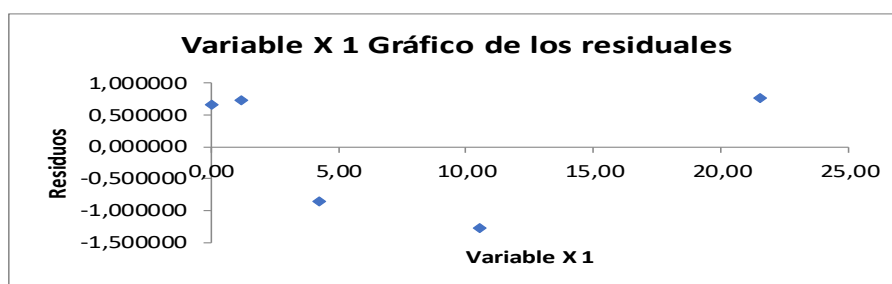


Figura 7.9 Curva 3 Análisis Estadísticos

Apéndice D: Exactitud

	Sociedad de Destilación de Alcoholes S.A.	Código: GT.PL.SOD.RVM.01
		Versión: 01
	Resultados de verificación de "Determinación de Contenido de Metanol en Alcohol Etílico Rectificado Extraneutro".	Fecha Edición: 23-11-06

1. MÉTODO DE ENSAYO Y REFERENCIA

INTERNO	GT.PR.SOD.RVM.01	NTE INEN 2014
TIPO	VALIDACIÓN	VERIFICACIÓN X

2. RESULTADOS

PARÁMETRO	Veracidad	RESPONSABLE	MARIA ORTIZ
Nivel:	Bajo, Medio y Alto	Valor MRC:	99,9 g/100g
		S1	1,044 mg/100 ml
		S2	7,830 mg/100 ml
		S3	15,66 mg/100 ml

TABLA RESULTADOS PRIMARIOS

	Contenido de metanol (mg/100ml)		Contenido de metanol (mg/100ml)		Contenido de metanol (mg/100ml)	
Muestra	María ortiz		María ortiz		María ortiz	
SB243.1000	NIVEL BAJO		NIVEL MEDIO		NIVEL ALTO	
	1,001		7,477		14,897	
	1,120		7,534		15,127	
	1,046		7,500		15,000	
Promedio	1,056	mg/100ml	7,504	mg/100ml	15,008	mg/100ml
DS	0,060		0,028		0,116	
CV	5,7		0,4		0,8	
% RECUPERACIÓN	101,1	%	95,83	%	95,84	%

Apéndice E: Repetibilidad.

2. RESULTADOS

PARÁMETRO **Repetibilidad y precisión intermedia**

RESPONSABLE **María Ortiz**

TABLA RESULTADOS PRIMARIOS

MO María Ortiz
 GE Gladis Espinoza
 FM Fredi Martínez

MUESTRA	Repeticiones	DIA 1 (Concentración metanol mg/100ml)			
		Analista MO	Analista GE	Analista FM	
Muestra nivel bajo	R1	1,12760	1,10796	1,12723	
	R2	1,07204	1,14256	1,10704	
	R3	1,10966	1,12173	1,12687	
	R4	1,12576	1,12334	1,13220	
Promedio		1,109	1,124	1,123	1,119
DS		0,03	0,01	0,01	0,02
CV		2,32	1,27	0,99	1,61

MUESTRA	Repeticiones	DIA 2 (Concentración metanol mg/100ml)			
		Analista MO	Analista GE	Analista FM	
Muestra nivel medio	R1	7,4376	7,4267	7,3903	
	R2	7,4093	7,3035	7,3540	
	R3	7,4242	7,4066	7,3867	
	R4	7,4743	7,4202	7,3319	
Promedio		7,436	7,389	7,366	7,397
DS		0,0278	0,0578	0,0278	0,0477
CV		0,37	0,78	0,38	0,64

MUESTRA	Repeticiones	DIA 3 (Concentración metanol mg/100ml)			
		Analista MO	Analista GE	Analista FM	
Muestra nivel alto	R1	14,267	14,273	14,2399	
	R2	14,2683	14,3534	14,2835	
	R3	14,1868	14,2083	14,3886	
	R4	14,2443	14,3444	14,3563	
Promedio		14,242	14,295	14,317	14,284
DS		0,0382	0,0680	0,0677	0,0632
CV		0,27	0,48	0,47	0,44

Apéndice F: ANOVA

Nivel bajo

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

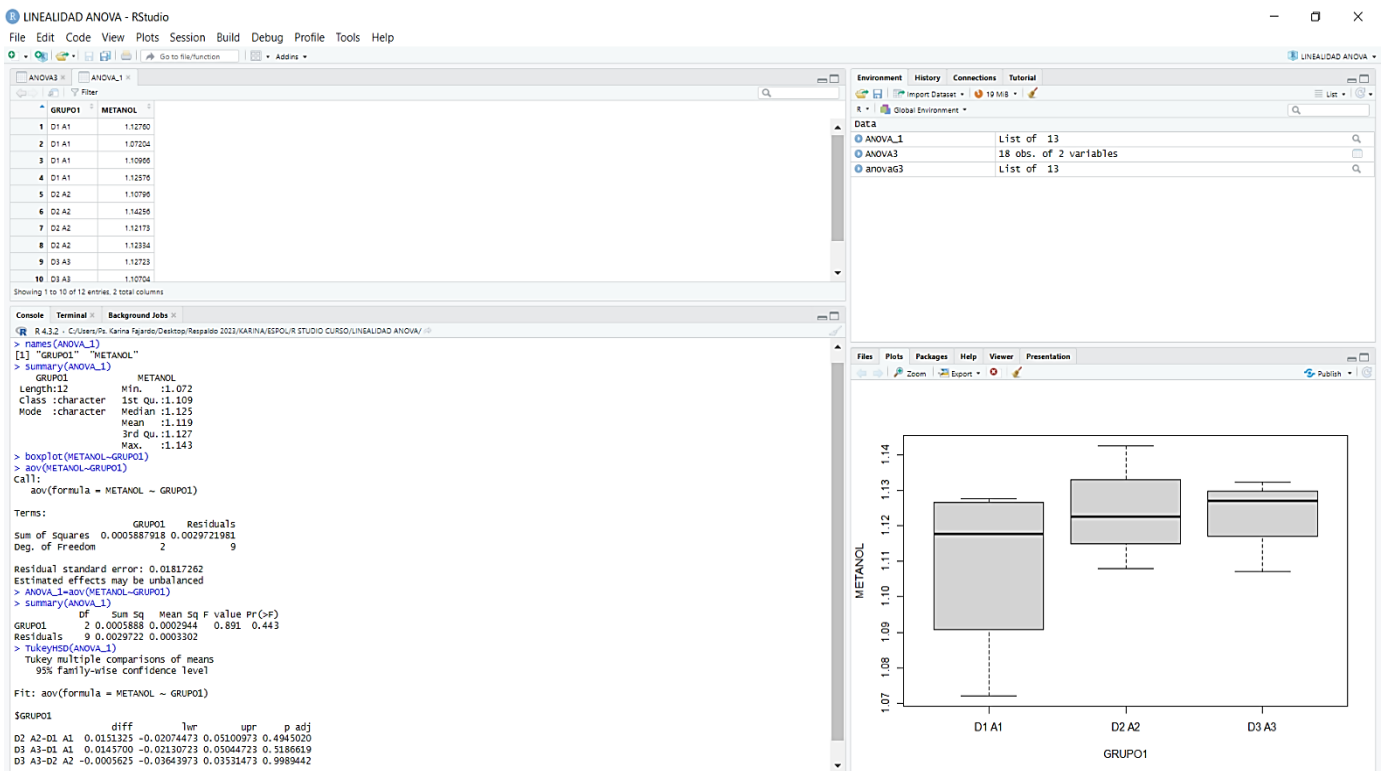
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista MO	4	4,435	1,109	0,0007
Analista GE	4	4,496	1,124	0,0002
Analista FM	4	4,493	1,123	0,0001

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,0006	2	0,00029	0,89	0,443	4,26
Dentro de los grupos	0,0030	9	0,00033			
Total	0,0036	11				

Prueba de significación y cálculo de varianzas

Muestra	F=MSd/MSe	F _{0.05}	p-value	Significación estadística?	s ² _d	s ² _e	s ² _t
	F _{calculado}	F _{crítico}	a = 0.05				
1,119 mg/100 ml	1,12	4,26	0,37	No	0,0003302	0,0000000	0,0003302



Nivel medio.

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista MO	4	29,75	7,436	0,0008
Analista GE	4	29,56	7,389	0,0033
Analista FM	4	29,46	7,366	0,0008

ANÁLISIS DE VARIANZA

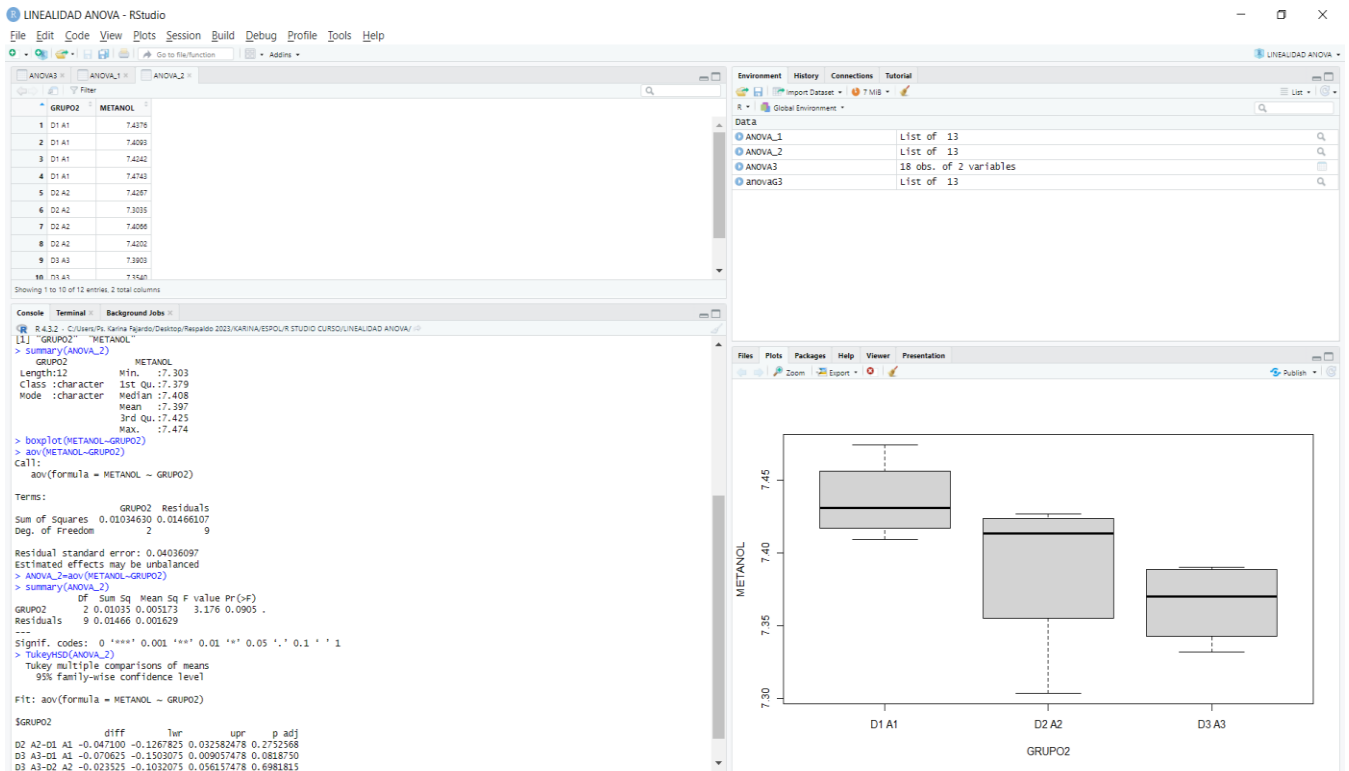
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,010	2	0,0052	3,18	0,090	4,26
Dentro de los grupos	0,015	9	0,0016			
Total	0,025	11				

Prueba de significación y cálculo de varianzas

Muestra	F=MSe/MSd	F _{0.05}	p-value	Significación estadística?	S ² _d	S ² _e	S ² _t
	F _{calculado}	F _{critico}	a = 0.05				
7,397 mg/100 ml	3,18	4,26	9,05E-02	No	0,0016290	0,0008860	0,0025150

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa



Nivel alto

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Analista MO	4	56,966	14,242	0,0015
Analista GE	4	57,179	14,295	0,0046
Analista FM	4	57,268	14,317	0,0046

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad d	Valor crítico para F
Entre grupos	0,012	2	0,0060	1,69	0,238	4,26
Dentro de los grupos	0,032	9	0,0036			
Total	0,044	11				

Prueba de significación y cálculo de varianzas

Muestra	F=MSe/MSd	F _{0.05}	p-value	Significación	S _d ²	S _e ²	S _t ²
	F _{calculado}	F _{critico}	a = 0.05	estadística?			
14,284 mg/100 ml	1,69	4,26	2,38E-01	No	0,0035509	0,0006158	0,0041667

If $F > F_{0.05}$, existe una razonable evidencia de una real variación entre-grupos

If $F < F_{0.05}$, es usual considerar que la variación entre-grupos no es significativa

The screenshot displays the RStudio interface for an ANOVA analysis. The top-left pane shows the data table with columns for 'GRUPO3' and 'METANOL'. The bottom-left pane shows the R console output, including the ANOVA summary table and the results of a Tukey HSD test. The bottom-right pane shows a box plot of 'METANOL' values for the three groups: D1 A1, D2 A2, and D3 A3. The y-axis ranges from 14.20 to 14.35. The box plot shows that the median values increase from D1 A1 to D3 A3, and the spread of the data also increases.

```

> names(ANOVA_3)
[1] "GRUPO3" "METANOL"
> summary(ANOVA_3)
  GRUPO3    METANOL
length:12   Min.   :14.19
class:character 1st Qu.:14.24
mode:character  Median:14.27
              Mean   :14.28
              3rd Qu.:14.35
              Max.   :14.39

> boxplot(METANOL~GRUPO3)
> aov(METANOL~GRUPO3)
call:
aov(formula = METANOL ~ GRUPO3)

Terms:
      GRUPO3 Residuals
Sum of Squares  0.01202846  0.03195768
Deg. of Freedom      2             9

Residual standard error: 0.05588903
Estimated effects may be unbalanced
> ANOVA_3=aov(METANOL~GRUPO3)
> summary(ANOVA_3)
              Df Sum Sq Mean Sq F value Pr(>F)
GRUPO3         2  0.01203  0.006014  1.694  0.238
Residuals      9  0.03196  0.003551

> TukeyHSD(ANOVA_3)
Tukey multiple comparisons of means
 95% family-wise confidence level

Fit: aov(formula = METANOL ~ GRUPO3)

$GRUPO3
      dfff          twr          upr          p adj
D2 A2-D1 A1  0.053175 -0.06446841  0.1708184  0.4494844
D3 A3-D1 A1  0.075475 -0.04216841  0.1931184  0.2265863
D3 A3-D2 A2  0.022300 -0.09534341  0.1399434  0.8592198
  
```

Apéndice G: Estimación de la Incertidumbre de la medición

PARÁMETRO **Metanol** mg/100 ml
MÉTODO **Cromatografía de gases**

RANGO BAJO: 1 mg/100ml

FACTORES	MAGNITUD	VALOR DECLARADO/MEDIDO	TIPO DE INCERTIDUMBRE	DISTRIBUCIÓN	DIVISOR	U _i	unidad
EQUIPOS						0,015	
Balanza	1						
resolución		0,0001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,0000577	g
certificado de calibración		0,00016	B	normal	2	0,00008	g
Micropipeta	1						
resolución		0,001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,00057735	ml
certificado de calibración (1 ml)		0,0013	B	normal	2	0,00065	ml
Micropipeta	5						
resolución		0,01000	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,005773503	ml
certificado de calibración (5 ml)		0,006	B	normal	2	0,0029	ml
Inyector	1						
Exactitud		0,01	B	normal	2	0,005	ul
MATERIALES						0,0884	
Matraz aforado	100						
resolución		0,05	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,028867513	ml
certificado de calibración (100 ml)		0,00810	B	normal	2	0,00405	ml
Probeta							
resolución	100	0,025	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,014433757	ml
Certificado de calibración (100)		0,08200	B	normal	2	0,041	ml
MÉTODO						0,01128862	
MRC	1,04 mg/100 ml						
incertidumbre		0,01	B	normal	2	0,005219775	mg/l
Curva de calibración	0,899						
incertidumbre		0,0021	A	normal	2	0,001068845	-
Patrones	99,9						
pureza		0,01	B	normal	2	0,005	%
MANO DE OBRA						0,023789615	
Exactitud	1,04						
sesgo		0,0112	A	normal	2	0,00561726	%
Precisión	1,12						
Reproducibilidad		0,0363	A	normal	2	0,018172355	%
RESUMEN							
FACTORES	U _i	U _c					
EQUIPOS	0,0150386	0,0002					
MATERIALES	0,0883513	0,0078					
MÉTODO	0,0112886	0,0001					
MANO DE OBRA	0,0237896	0,0006					
μc		0,093					
U		0,187					
%U		8,35					
						1,12	8,35 %

PARÁMETRO **Metanol** mg/100 ml
MÉTODO **Cromatografía de gases**

RANGO MEDIO: 7 mg/100ml

FACTORES	MAGNITUD	VALOR DECLARADO/MEDIDO	TIPO DE INCERTIDUMBRE	DISTRIBUCIÓN	DIVISOR	Ui	unidad
EQUIPOS						0,015	
Balanza	1						
resolución		0,0001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,0000577	g
certificado de calibración		0,00016	B	normal	2	0,00008	g
Micropipeta	1						
resolución		0,001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,00057735	ml
certificado de calibración (1 ml)		0,0013	B	normal	2	0,00065	ml
Micropipeta	5						
resolución		0,01000	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,005773503	ml
certificado de calibración (5 ml)		0,006	B	normal	2	0,0029	ml
Inyector	1						
Exactitud		0,01	B	normal	2	0,005	ul
MATERIALES						0,0884	
Matraz aforado	100						
resolución		0,05	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,028867513	ml
certificado de calibración (100 ml)		0,00810	B	normal	2	0,00405	ml
Probeta							
resolución	100	0,025	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,014433757	ml
Certificado de calibración (100)		0,08200	B	normal	2	0,041	ml
MÉTODO						0,045217157	
MRC	7,83 mg/100 ml						
incertidumbre		0,08	B	normal	2	0,039148313	mg/l
Curva de calibración	0,899						
incertidumbre		0,0021	A	normal	2	0,001068845	-
Patrones	99,9						
pureza		0,01	B	normal	2	0,005	%
MANO DE OBRA						0,029322841	
Exactitud	7,83						
sesgo		-0,0417	A	normal	2	-0,02082737	%
Precisión	7,40						
Reproducibilidad		0,1003	A	normal	2	0,050150208	%
RESUMEN							
FACTORES	Ui	Uc					
EQUIPOS	0,0150386	0,0002					
MATERIALES	0,0883513	0,0078					
MÉTODO	0,0452172	0,0020					
MANO DE OBRA	0,0293228	0,0009					
μc		0,105					
U		0,209					
%U		1,41					
					7,40	1,41	%

PARÁMETRO **Metanol** mg/100 ml
 MÉTODO **Cromatografía de gases**

RANGO ALTO: 15 mg/100ml

FACTORES	MAGNITUD	VALOR DECLARADO/MEDIDO	TIPO DE INCERTIDUMBRE	DISTRIBUCIÓN	DIMSOR	Ui	unidad
EQUIPOS						0,015	
Balanza	1						
resolución		0,0001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,0000577	g
certificado de calibración		0,00016	B	normal	2	0,00008	g
Micropipeta	1						
resolución		0,001	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,00057735	ml
certificado de calibración (1 ml)		0,0013	B	normal	2	0,00065	ml
Micropipeta	5						
resolución		0,01000	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,005773503	ml
certificado de calibración (5 ml)		0,006	B	normal	2	0,0029	ml
Inyector	1						
Exactitud		0,01	B	normal	2	0,005	ul
MATERIALES						0,0329	
Matraz aforado	100						
resolución		0,05	B	rectangular =raiz(3)	1,7321	0,028867513	ml
certificado de calibración (100 ml)		0,00810	B	normal	2	0,00405	ml
N/A							
MÉTODO						0,08436547	
MRC	15,66	mg/100 ml					
incertidumbre		0,16	B	normal	2	0,078296625	mg/l
Curva de calibración	0,899						
incertidumbre		0,0021	A	normal	2	0,001068845	-
Patrones	99,9						
pureza		0,01	B	normal	2	0,005	%
MANO DE OBRA						0,0437558	
Exactitud	15,66						
sesgo		-0,0416	A	normal	2	-0,02079416	%
Precisión	14,28						
Reproducibilidad		0,1291	A	normal	2	0,06454996	%
RESUMEN							
FACTORES	Ui	Uc					
EQUIPOS	0,0150386	0,0002					
MATERIALES	0,0329175	0,0011					
MÉTODO	0,0843655	0,0071					
MANO DE OBRA	0,0437558	0,0019					
μc		0,102					
U		0,203					
%U		1,55					
			14,28	1,55	%		

Apéndice H: Declaración de Validación del Método.

	Sociedad de Destilación de Alcoholes S.A.	Código: GT.PL.SOD.RVM.01
		Versión: 01
	Declaración Método Validado: Determinación de Contenido de Metanol en Alcohol Etílico Rectificado Extraneutro".	Fecha Edición: 24-03-05
		Página X de Y

1. RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN/VERIFICACIÓN

PARÁMETROS DE DESEMPEÑO	OBJETIVOS DE VALIDACIÓN	RESULTADO	CUMPLE	NO CUMPLE
Límite de detección (LD) y Límite de cuantificación (LC)	$CV \leq 5\%$ $LD = X + 3DS$ $LC = X + 10DS$	$CV \leq 3,6\%$ $LD = 0,04$ $LC = 0,12$	X	
Linealidad	Determinar el límite superior e inferior de la pendiente y la ordenada al origen. Aceptar un coeficiente de determinación $R^2 \geq 0,99$	$R^2 \geq 0,99$	X	
Exactitud	Porcentaje de recuperación % Recup. (80 a 110)	Nivel bajo= 101,1 Nivel medio= 95,83 Nivel alto= 95,84	X	
Repetibilidad	$CV_{rep} < 5,0\%$	Nivel bajo= 2,32 Nivel medio= 0,37 Nivel alto= 0,27	X	
Precisión Intermedia	$CV_{reprod.} < 10\%$ ANOVA ($f_{cal} \leq f_{tabla}$)	Nivel bajo= 1,61 Nivel medio= 0,64 Nivel alto= 0,44	X	
		Nivel bajo $f_{cal} = 0,89$ Nivel medio $f_{cal} = 3,18$ Nivel alto $f_{cal} = 1,69$	X	

4. DECLARACIÓN VALIDACIÓN/VERIFICACIÓN DEL MÉTODO

Luego de realizar todo el proceso de validación del método **determinación de contenido de metanol en alcohol etílico rectificado extraneutro, en el laboratorio de control de calidad SODERAL S.A.**, se concluye que se cumplió con los objetivos de validación establecidos. Se declara como un método apto para su uso previsto.

Emite: MARIA ORTIZ
 ASCC
 Asistente de control de calidad

Revisa y Aprueba:

GLADIS ESPINOZA
 JCC
 Jefa de control de calidad



SODERAL

TIPO DE SERVICIO:

CALIBRACIÓN CROMATOGRFO DE GASES

MARCA: AGILENT TECHNOLOGIES

MODELO: 7890B

PARA LA DETERMINACION DE

PRODUCTOS CONGENERES

CON BASE EN LA NORMA INEN 2014

28 de Junio del 2023

Marcelino Maridueña – Guayas – Ecuador

1. REACTIVOS

1.1. Los **Reactivos y Patrones** deben ser de calidad cromatográfica

Item	Patron	Catalogo No.	Lote No.	F.Caducidad
1	Acetaldehído	N-11005-1G	14296200	08/31/24
2	Metanol	N-12395-1G	10043000	03/31/24
3	2-Propanol	N-12267-1G	9196700	10/31/24
4	1-Propanol	N-13121-1G	9963900	10/31/26
5	Acetato de etilo	N-11881-1G	13342200	11/30/24
6	2-Butanol	N-12234-5G	14572800	03/31/28
7	n-Butanol (Patrón Interno)			
8	Iso-amilico	N-12225-1G	9781100	10/31/23
9	N-amilico	N-12509-1G	10031200	02/28/24
10	Furfural	N-12102-1G	14238900	03/31/25

1.2 **Solución patrón inicial.** Medir 1 ml de cada uno de los reactivos indicados en la tabla anterior, excepto el patrón interno (n-butanol), y llevar a un volumen de 100ml con etanol a 40 ° G L. Mezclar bien (Solución Stock). De esta solución tomar 30ml y aforar nuevamente a 100ml con etanol a 40 ° G L. Se toma de esta solución 10ml y aforar nuevamente a 100ml con etanol a 40 ° G L. Nuevamente, de esta solución tomar 10ml y aforar a 100ml con etanol a 40 ° G L. Esta última corresponde a la solución A.

1.3 **Solución patrón interno-inicial.** Medir 0.1 ml de n-butanol indicado en el numeral 1.1 y aforar a un volumen de 100ml con etanol a 40 ° G L. Mezclar bien.

1.4 **Solución patrón de trabajo.** Tomar 2 ml de la solución A indicada en el numeral 1.2, agregar 1 ml de la solución indicada en el numeral 1.3, y llevar a 50ml con etanol a 40 ° G L. Esta corresponde a la solución B.

2. CALIBRACIÓN

2.1. Inyectar por duplicado 1 µl de la solución patrón de trabajo en el cromatógrafo AGILENT TECHNOLOGIES modelo 7890B.

2.2. Realizar la calibración para cada uno de los productos con la opción Internal Standard.

3. PREPARACIÓN DE LA MUESTRA

La preparación de la muestra debe realizarse de acuerdo con lo indicado en la Norma INEN 340.

Tomar 1 ml de la Solución patrón interno-inicial, en un balón de 50 ml, y llevar a volumen con la muestra preparada.

Inyectar 0.5 μ l de la muestra preparada conteniendo el patrón Interno, en el método de trabajo (BACK ó FRONT).

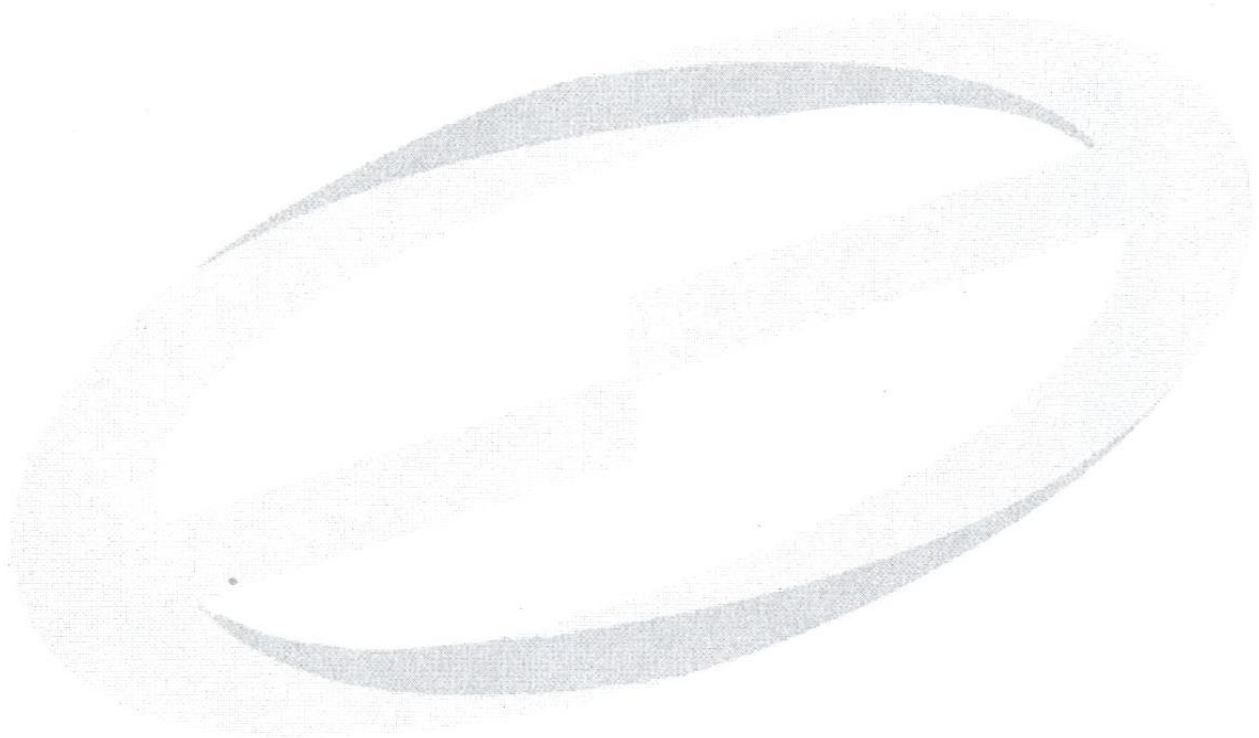


DIAGRAMA DE DILUCION DE PATRONES

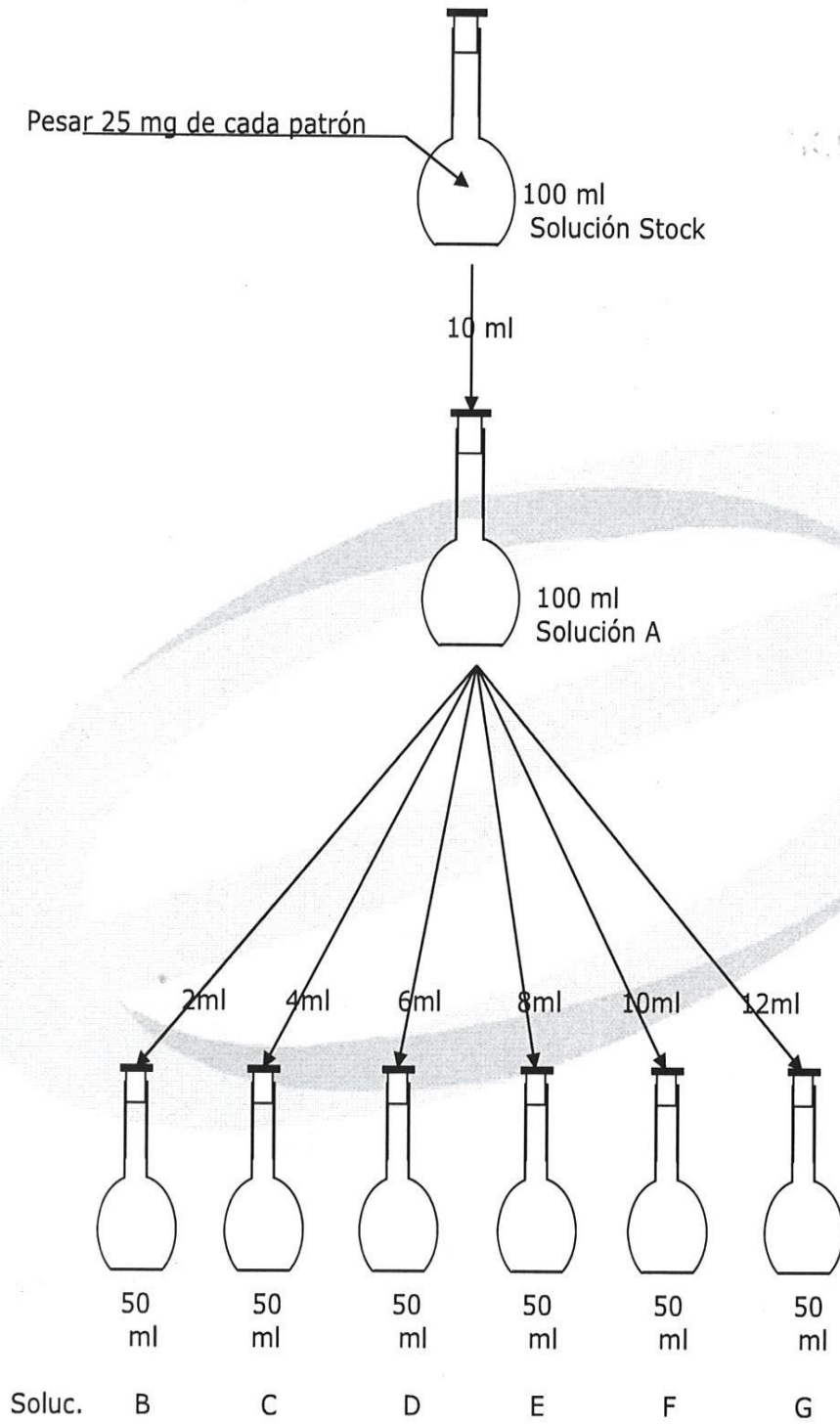


DIAGRAMA DEL PATRON INTERNO

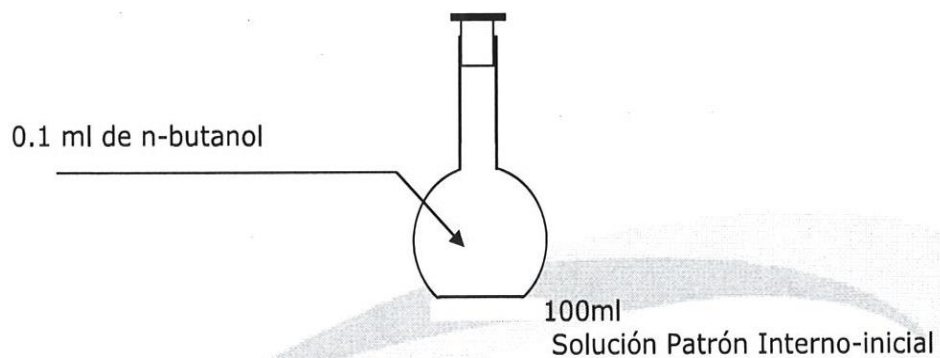
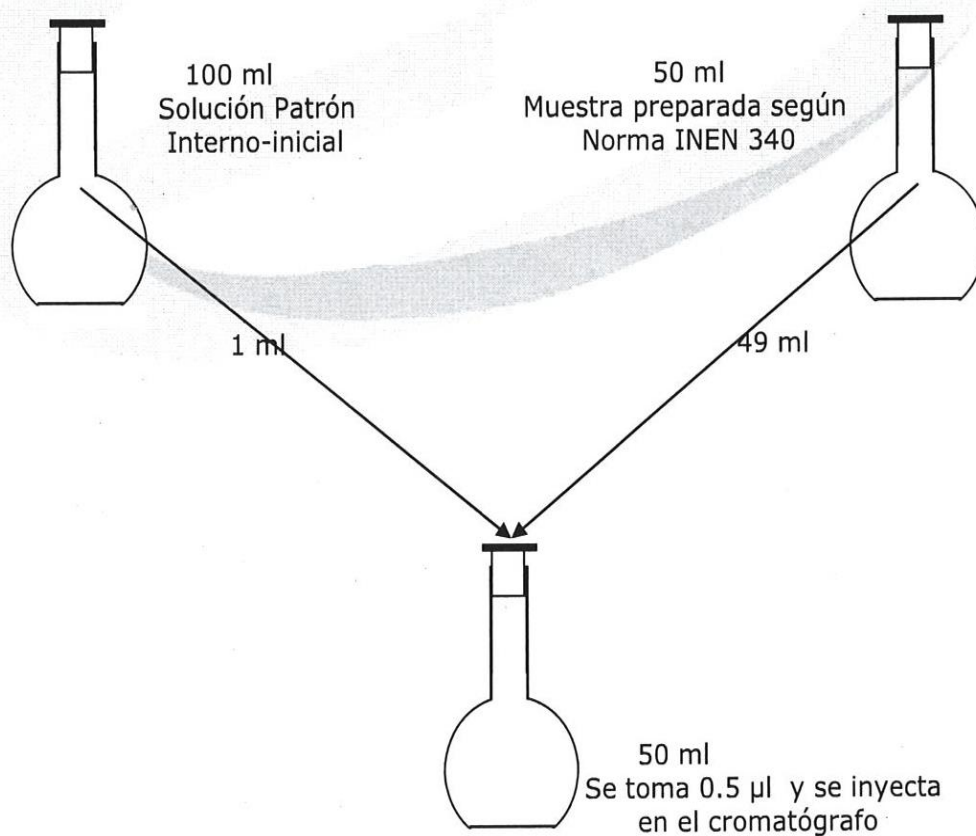


DIAGRAMA DE LA PREPARACIÓN DE LA MUESTRA



SISTEMA DE CÁLCULO PARA LA DILUCIÓN DE PATRONES

1) 25 mg \longrightarrow 100 ml (Solución Stock)

2) X= 2.5 mg \longleftarrow 10 ml

3) Estos 10 ml se coloca en un balón de aforo de 100 ml y se afora con etanol de 40°GL.

4) 2.5 mg \longrightarrow 100 ml (Solución A)

5) X= 0.05 mg \longleftarrow 2 ml (para preparar la solución B)

6) Estos 2 ml se coloca en un balón de aforo de 50 ml, se añade 1 ml de la solución de patrón interno y se afora con etanol de 40°GL y se inyecta 1 μ l en el cromatógrafo.

7) 0.05 mg \longrightarrow 50 ml (Solución B)

8) Pero los resultados deben ser expresados en mg por 100 ml de alcohol anhidro.

9) Para pasar a alcohol anhidro

10) 0.05 mg \longrightarrow 50 ml (alcohol cromatográfico a 40°GL)

11) X= 0.125 mg \longleftarrow 50 ml (alcohol cromatográfico a 100°GL)

12) Para pasar a 100 ml de alcohol anhidro

13) 0.125 mg \longrightarrow 50 ml (alcohol cromatográfico a 100°GL)

14) X= 0.25 mg \longleftarrow 100 ml (alcohol cromatográfico a 100°GL)

Para las soluciones C, D, E, F y G (4ml, 6ml, 8ml, 10ml y 12ml respectivamente), se repite los cálculos desde el paso 5) hasta el paso 14).

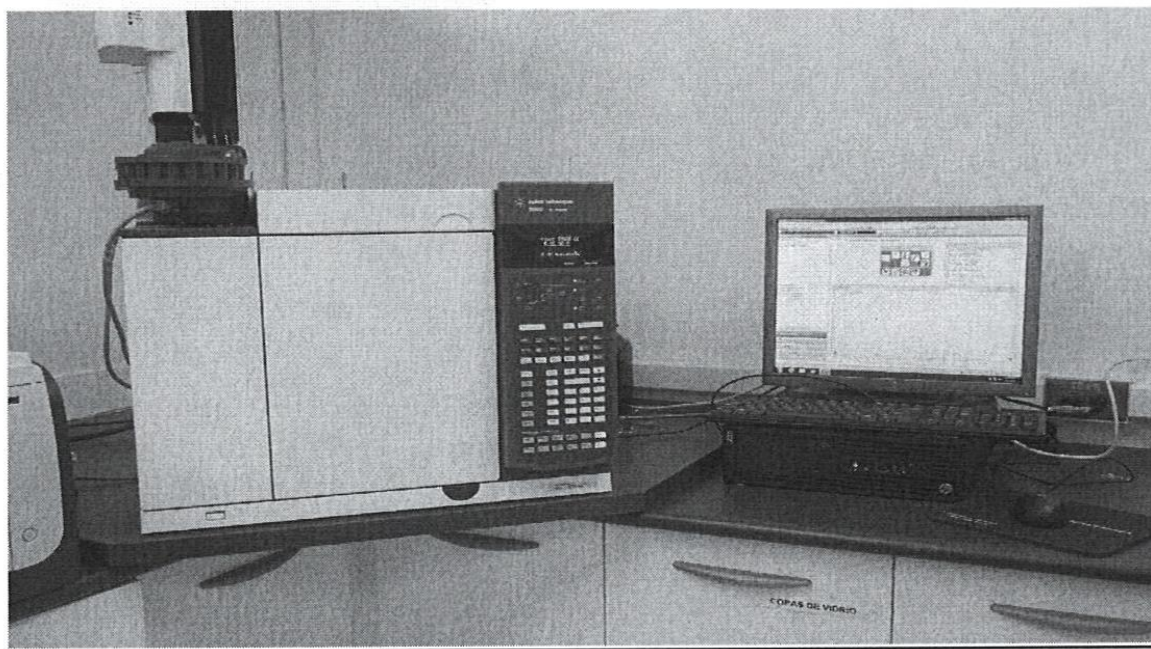
PESO DE SUSTANCIAS USADOS EN LA CALIBRACIÓN

PARA LA SOLUCIÓN STOCK:

SUSTANCIA	PESO (g)
Acetaldehído	0,0361
Metanol	0,0160
2-Propanol	0,0237
Propanol	0,0300
Esteres	0,0264
2-butanol	0,0354
Iso-amilico	0,0282
Amilico	0,0383
furfural	0,0264

PARA LAS DILUCIONES:

SUSTANCIA	Soluc. B	Soluc. C	Soluc. D	Soluc. E	Soluc. F	Soluc. G
	NIVEL 1	NIVEL 2	NIVEL 3	NIVEL 4	NIVEL 5	NIVEL 6
Concentración en mg/100 cc de alcohol anhidro						
Acetaldehído	0,361	0,722	1,083	1,444	1,805	2,166
Metanol	0,160	0,320	0,480	0,640	0,800	0,960
2 - propanol	0,237	0,474	0,711	0,948	1,185	1,422
Propanol	0,300	0,600	0,900	1,200	1,500	1,800
Esteres	0,264	0,528	0,792	1,056	1,32	1,584
2 - butanol	0,354	0,708	1,062	1,416	1,77	2,124
Iso-amilico	0,282	0,564	0,846	1,128	1,41	1,692
Amilico	0,383	0,766	1,149	1,532	1,915	2,298
Furfural	0,264	0,528	0,792	1,056	1,32	1,584



VERIFICACION DEL DETECTOR FRONT

Verificación de resultados en el detector FRONT con columna DB-624 de 60m x 0,25 mm ID x 1,4 µm de película, marca: SGE

CRITERIO DE ACEPTACIÓN:

En cromatografía de gases se acepta hasta un 5% del valor de la desviación estándar durante la verificación de resultados usando el método de calibración del mencionado detector.

RESULTADOS:

SUSTANCIA	Resultado esperado	Resultado calculado	Des. %
Acetaldehido	0,722	0,712	-1,39
Metanol	0,32	0,324	0,33
2 - propanol	0,474	0,461	-2,74
Propanol	0,600	0,589	-1,83
Esteres	0,528	0,512	-3,03
2 - butanol	0,708	0,712	0,56
Iso-amilico	0,564	0,571	1,24
Amilico	0,766	0,779	1,70
Furfural	0,528	0,536	1,52

CONCLUSION

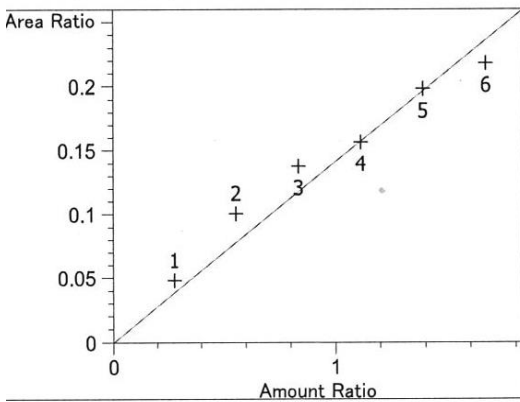
Los resultados de la verificación del detector FRONT se encuentran dentro del Criterio de Aceptación por lo tanto el mencionado detector se encuentra Calibrado y puede ser usado.

RT	Sig	Lvl	Amount [mg/100 cc]	Area	Rsp.Factor	Ref	ISTD #	Compound
			6	1.14600	7.18600	1.59477e-1		
17.265	1	1	1.93000e-1	9.90000e-1	1.94949e-1	No	No 1	Amilico
			2	3.86000e-1	1.32100	2.92203e-1		
			3	5.79000e-1	2.99200	1.93516e-1		
			4	7.72000e-1	3.64800	2.11623e-1		
			5	9.65000e-1	4.83500	1.99586e-1		
			6	1.15800	5.18500	2.23337e-1		
19.137	1	1	3.23000e-1	1.50500	2.14618e-1	No	No 1	Furfural
			2	6.46000e-1	2.77700	2.32625e-1		
			3	9.69000e-1	3.60700	2.68644e-1		
			4	1.29200	4.60100	2.80809e-1		
			5	1.61500	6.16000	2.62175e-1		
			6	1.93800	6.98500	2.77452e-1		

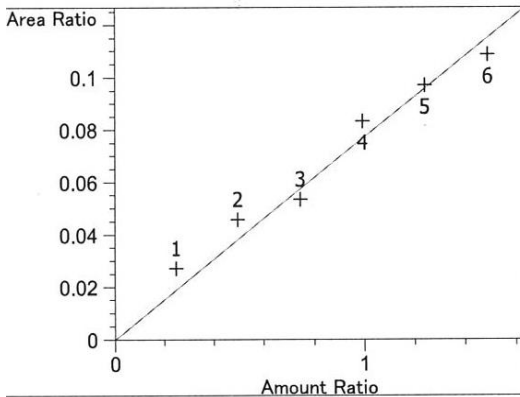
Peak Sum Table

No Entries in table

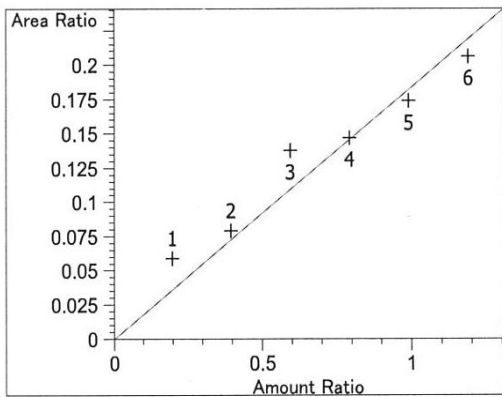
Calibration Curves



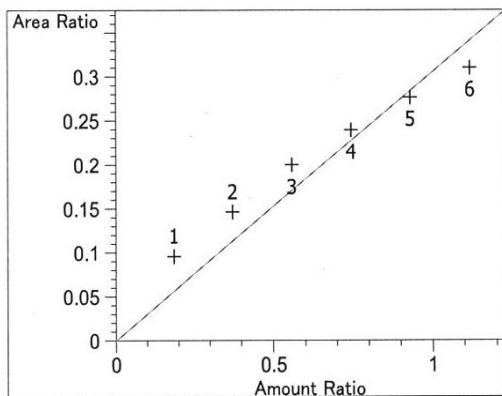
Acetaldehido at exp. RT: 7.722
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99554
 Residual Std. Dev.: 0.01594
 Formula: $y = mx$
 m: 1.41848e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



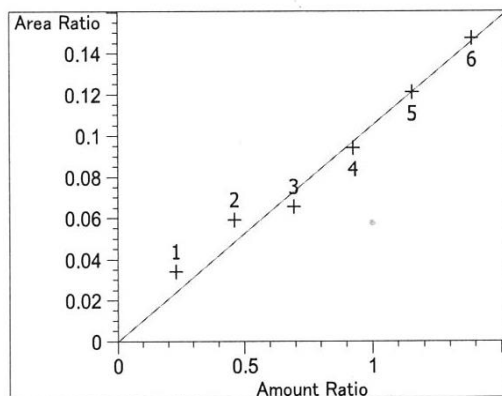
Metanol at exp. RT: 8.001
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99670
 Residual Std. Dev.: 0.00667
 Formula: $y = mx$
 m: 7.75012e-2
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



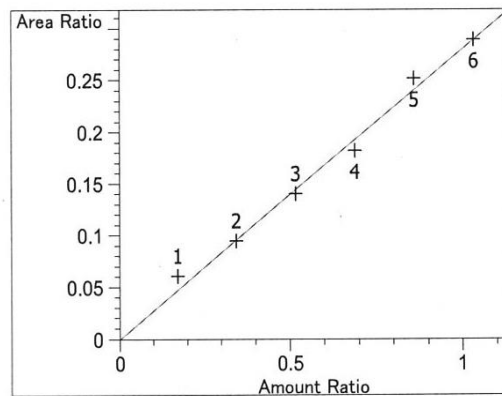
Isopropanol at exp. RT: 10.989
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99357
 Residual Std. Dev.: 0.01776
 Formula: $y = mx$
 m: 1.84524e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



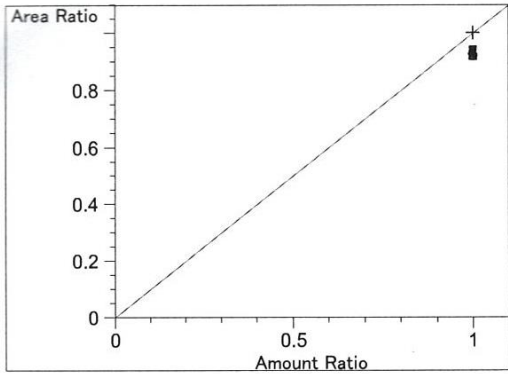
N-propanol at exp. RT: 12.689
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99235
 Residual Std. Dev.: 0.03024
 Formula: $y = mx$
 m: 3.06263e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



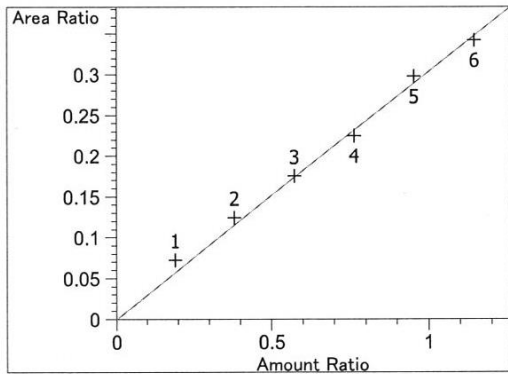
Esteres at exp. RT: 13.552
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99754
 Residual Std. Dev.: 0.00729
 Formula: $y = mx$
 m: 1.05359e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



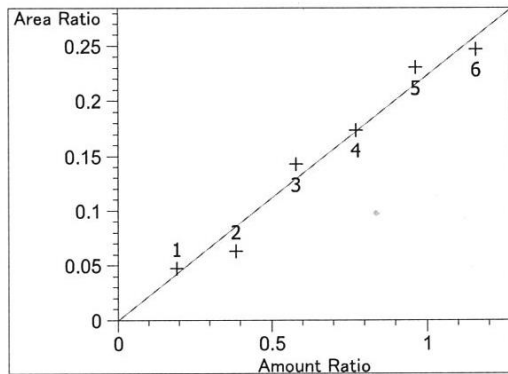
Isobutanol at exp. RT: 14.415
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99904
 Residual Std. Dev.: 0.00901
 Formula: $y = mx$
 m: 2.80472e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



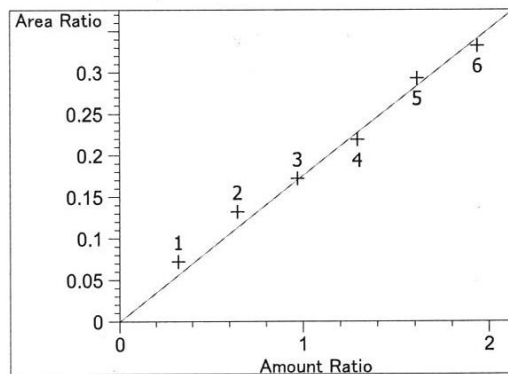
ISTD at exp. RT: 15.235
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 1.00000
 Residual Std. Dev.: 0.00000
 Formula: $y = mx$
 m: 1.00000
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



Isoamilico at exp. RT: 16.668
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99933
 Residual Std. Dev.: 0.00905
 Formula: $y = mx$
 m: 3.04246e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



Amilico at exp. RT: 17.265
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99681
 Residual Std. Dev.: 0.01475
 Formula: $y = mx$
 m: 2.23644e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio



Furfural at exp. RT: 19.137
 FID1 A, Front Signal
 Correlation: 0.99868
 Residual Std. Dev.: 0.01253
 Formula: $y = mx$
 m: 1.76579e-1
 x: Amount Ratio
 y: Area Ratio

CHEM SERVICE INC.

660 Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 19381-0599
1-800-452-9994 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Acetaldehyde

CATALOG NUMBER N-11005-1G
LOT NUMBER 14296200
DATE CERTIFIED 02/02/23
EXPIRATION DATE 08/31/24
CAS NUMBER 75-07-0
MOLECULAR FORMULA C₂H₄O
MOLECULAR WEIGHT 44.05
STORAGE Freezer storage (-20 - -25 °C)
HANDLING See Safety Data Sheet.
INTENDED USE For Laboratory Use Only

Analytical Test	Value
% PURITY (GC/FID)	99.5

Chem Service, Inc. guarantees the purity to be +/- 0.5% deviation prior to the expiration date shown on the label and exclusive of any customer contamination.

Certified By:



Kristin R Jones

Chem Service, Inc. is accredited to ISO 17034:2016, ISO/IEC 17025:2017 and certified to ISO 9001:2015.



COA Form
Revision 3 (3/2015)

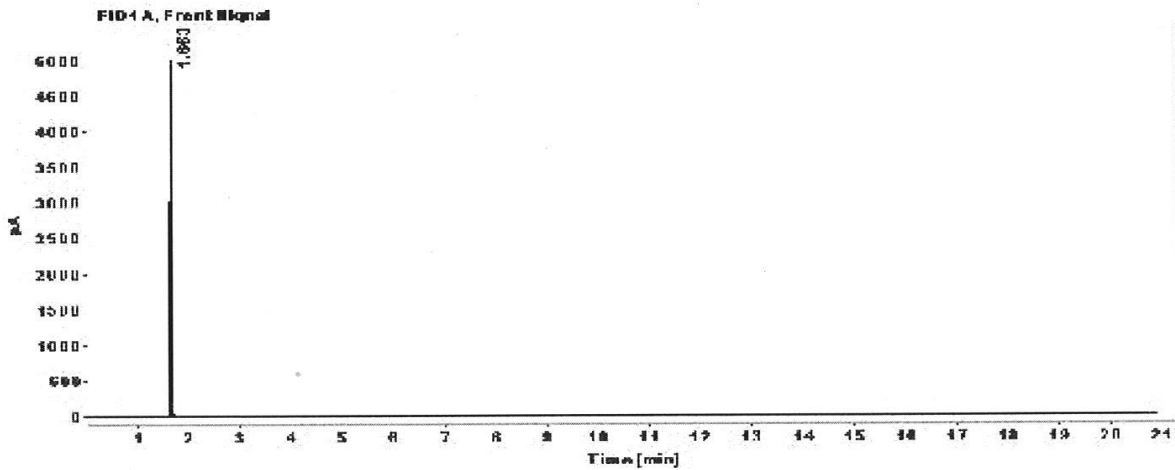
Print Date: 04/13/23

Page 1 of 2

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Gas Chromatography / Flame Ionization Detector (GC/FID)

Data file: C:\Chem32\11\Data\2023 Data\0123\acetaldehyde.D
Sample name: Acetaldehyde
Acq. method: FRANNY-FRONT.M
Instrument: GC3 Location: 102
Injection date: 2/2/2023 2:07:25 PM Injection Vol: 0.200
Column name: Rxi-624Sil MS(30m x 0.32mm ID, 1.8um) # Of Injections: 1



Signal: FID1 A, Front Signal

RT [min]	Type	Width [min]	Area	Height	Area%
1.663	VB S	0.0177	5419.2119	4979.1372	100.0000
Sum			5419.2119		

Chem Service, Inc. is accredited to ISO 17034:2016, ISO/IEC 17025:2017 and certified to ISO 9001:2015.





660 Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 19381-0599
1-800-452-9994 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Methanol

CATALOG NUMBER N-12395-1G
LOT NUMBER 10043000
DATE CERTIFIED 03/30/20
EXPIRATION DATE 03/31/24
CAS NUMBER 67-56-1
MOLECULAR FORMULA CH₄O
MOLECULAR WEIGHT 32.05
STORAGE Store in a cool dry place.
HANDLING See Safety Data Sheet
INTENDED USE For laboratory use only.

<u>Analytical Test</u>	<u>Value</u>
% PURITY (GC/FID)	99.5
FT-IR SPECTROSCOPY	CONFORMS TO STRUCTURE
GC/MS SPECTRA ID	MATCHES NIST
PHYSICAL APPEARANCE	COLORLESS SOLID

Chem Service, Inc. guarantees the purity to be +/- 0.5% deviation prior to the expiration date shown on the label and exclusive of any customer contamination.

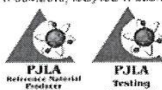
Certified By:

Mary Beth O'Donnell

Mary Beth O'Donnell
CSM/TC

COA Form
Revision 3 (3/2015)

Chem Service is accredited to ISO 17034:2016, ISO/IEC 17025:2017 and certified to ISO 9001:2015



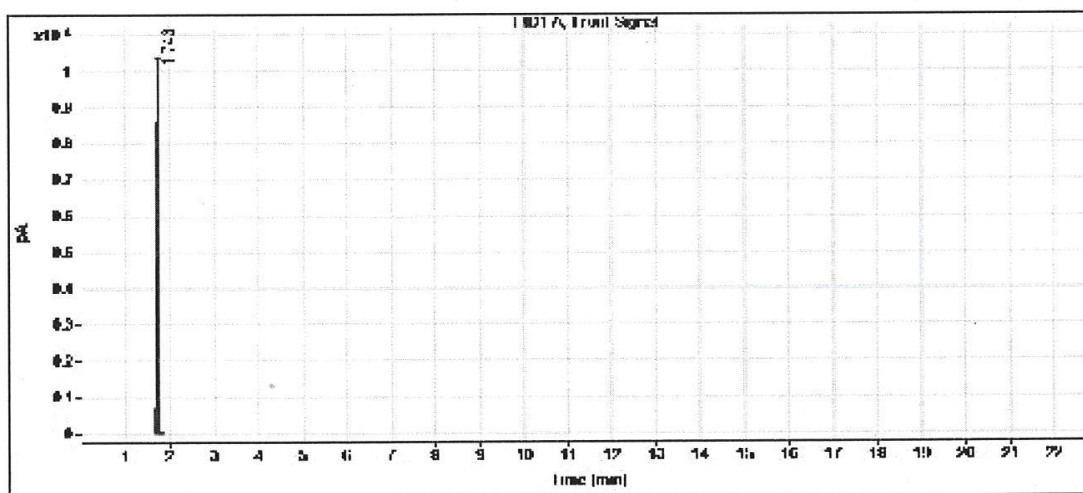
CHEM SERVICE INC.

660 Tower Lane • P.O. Box 599 • West Chester, PA 19381-0599
1-800-452-9994 • 1-610-692-3026 • Fax 1-610-692-8729
info@chemservice.com • www.chemservice.com

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Gas Chromatography / Flame Ionization Detector (GC/FID)

Data file: C:\CHEM32\1\DATA\2020 DATA\0320\FID042080.D
Sample name: N-12395
Instrument: GC 1
Injection date: 3/28/2020 11:28:01 AM
Acq. method: N-12395.M
Column name: Rxi-624Sil (30m x 0.32mm x 1.8um)
Sample type: Sample
Location: Vial 141
Injection volume: 1.0uL



Signal: FID1 A, Front Signal

RT [min]	Type	Width [min]	Area	Height	Area%
1.743	VBAS	0.0273	21365.8750	10257.9580	100.0000
Sum			21365.8750		

Chem Service is accredited to ISO 17034:2016, ISO/IEC 17025:2017 and certified to ISO 9001:2015



Anexo B: Certificados de calibración de equipos y materiales.



LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO
ISO/IEC 17025:2017
Accredited Calibration Laboratory ISO/IEC 17025:2017



Escanee este QR
para descargar
informe original
con firma
electrónica en pdf

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
Certificate of Calibration
N° CGC-7636-004-23



Cliente: SODERAL SOCIEDAD DE
Customer DESTILACION DE ALCOHOLES SA
Dirección: CORONEL MARCELINO
Address MARIDUEÑA - AV. PRINCIPAL O
AV. SAN CARLOS.
Teléfono: 0985146451
Phone Number
Persona de Contacto: Gladis Espinoza Garcia
Contact Person
Objeto: BALANZA ANALITICA
Item

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.



Escanee este QR y encuentre:
El/Quel electrónico
Certificados originales en pdf
Historia de intervenciones
Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

Marca: SARTORIUS
Manufacturer
Modelo: ENTRIS 224I-1S
Model
No. de Serie: 0036506128
Serial Number
Identificación: CLCMBAL07
Identification
Ubicación del Objeto⁽¹⁾: ÁREA DE CROMATOGRAFÍA
Item Location
Fecha de Recepción: 2023-12-27
Date of Receipt
Fecha de Calibración: 2023-12-27
Calibration Date
Próxima Fecha de Calibración: 2024-06
Due Date
Técnico Responsable: Victor Chavez
Responsible Technician

In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

Persona que Autoriza / Fecha de Emisión:
Person authorizing / Date of issue

Ing. Savino Pineda / 2023-12-29

Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ
Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ, serialNumber=090523155159, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. 2, c=EC
Fecha: 2023-12-29 15:39:02



Escanee este QR para descargar informe original con firma electrónica en pdf

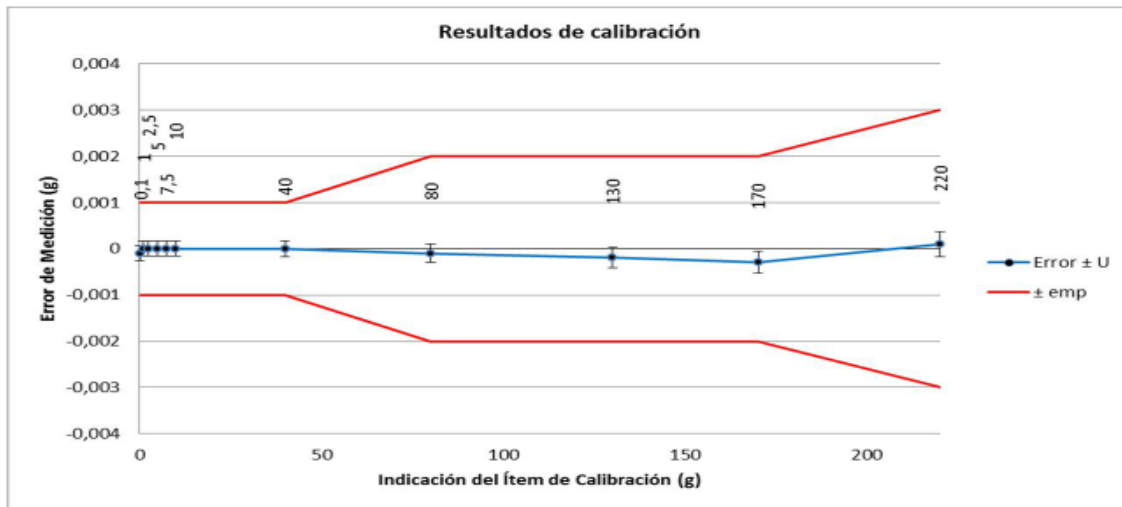
CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
Certificate of Calibration
N° CGC-7636-004-23



Ensayo de Errores de Indicación

Test for errors of indication

Carga de Prueba <i>Test Load</i>	Indicación Ítem <i>Item Reading</i>	Valor Patrón <i>Standard Value</i>	Error de Medición (e) <i>Measurement Error (e)</i>	Incertidumbre (U) <i>Uncertainty (U)</i>	E.M.P. <i>M.P.E.</i>	Factor de Cobertura (k) <i>Coverage factor</i>	Cumplimiento <i>Compliance</i>
g	g	g	g	g	g		
0,05	0,0500	0,05000	0,00000	0,00016	± 0,0010	2,32	Cumple
0,1	0,0999	0,10000	-0,00010	0,00016	± 0,0010	2,32	Cumple
1	1,0000	1,00000	0,00000	0,00016	± 0,0010	2,32	Cumple
2,5	2,5000	2,50000	0,00000	0,00016	± 0,0010	2,28	Cumple
5	5,0000	5,00000	0,00000	0,00016	± 0,0010	2,28	Cumple
7,5	7,5000	7,50000	0,00000	0,00016	± 0,0010	2,21	Cumple
10	10,0000	10,00000	0,00000	0,00016	± 0,0010	2,28	Cumple
40	40,0000	40,00000	0,00000	0,00017	± 0,0010	2,16	Cumple
80	79,9999	80,00000	-0,00010	0,00019	± 0,0020	2,08	Cumple
130	129,9999	130,00010	-0,00020	0,00022	± 0,0020	2,04	Cumple
170	169,9998	170,00010	-0,00030	0,00024	± 0,0020	2,03	Cumple
220	220,0002	220,00010	0,00010	0,00027	± 0,0030	2,02	Cumple



Errores Máximos Permitidos <i>Maximum Permissible Errors</i>			
Para cargas de prueba, m: <i>For test loads, m:</i>			emp <i>m_{pe}</i>
g			g
m ≤	50		0,001
50	< m ≤	200	0,002
	m >	200	0,003



Escanea este QR
 para visualizar
 el certificado digital
 electrónico en pdf

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
 Certificate of Calibration
N° CGC-7636-026-23



Cliente:
 Customer
**SODERAL SOCIEDAD DE
 DESTILACION DE ALCOHOLES SA.**

Dirección:
 Address
**CORONEL MARCELINO
 MARIDUEÑA - AV. PRINCIPAL O
 AV. SAN CARLOS.**

Teléfono:
 Phone Number
0085146451

Persona de Contacto:
 Contact Person
Gladis Espinoza Garcia

Objeto:
 Item
PIPETA DE PISTÓN

Este certificado de calibración documenta la trazabilidad a los estándares nacionales, que realizan las unidades de medida de acuerdo con el Sistema Internacional de Unidades (SI)

Con el fin de asegurar la calidad de sus mediciones, el usuario está obligado a recalibrar sus instrumentos a intervalos apropiados.



Escanea este QR y accede:
 Duplica electrónica
 Certificados originales en pdf
 Historio de intervenciones
 Documentos relevantes, manuales, fotografías

This calibration certificate documents the traceability to national standards, which realize the units of measurement according to the International System of Units (SI)

Marcas:
 Manufacturer
BRAND

Modelo:
 Model
TRANSFERPETTE

No. de Serie:
 Serial Number
03E46244

Identificación:
 Identification
P1

Ubicación del Objeto⁽¹⁾:
 Item Location
**LABORATORIO CONTROL DE
 CALIDAD**

Fecha de Recepción:
 Date of Receipt
2023-12-29

Fecha de Calibración:
 Calibration Date
2023-12-29

Próxima Fecha de Calibración:
 Due Date
2024-12

Técnico Responsable:
 Responsible Technician
Ronald Arias

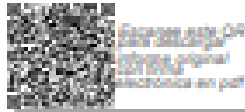
In order to ensure the quality of their measurements, the user is obliged to have the object recalibrated at appropriate intervals.

Persona que Autoriza / Fecha de Emisión: Ing. Savino Pineda / 2024-01-02
 Person authorizing / Date of Issue

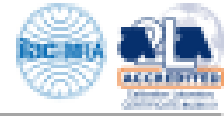


Gerente Técnico

Autorizado y firmado electrónicamente por SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ
 Nombre de reconocimiento (DN): cn=SAVINO ENRIQUE PINEDA GONZALEZ,
 serialNumber=99602155199, ou=ENTIDAD DE CERTIFICACION DE
 INFORMACION, o=SECURITY DATA S.A. S, c=EC
 Fecha: 2024-01-02 13:44:52



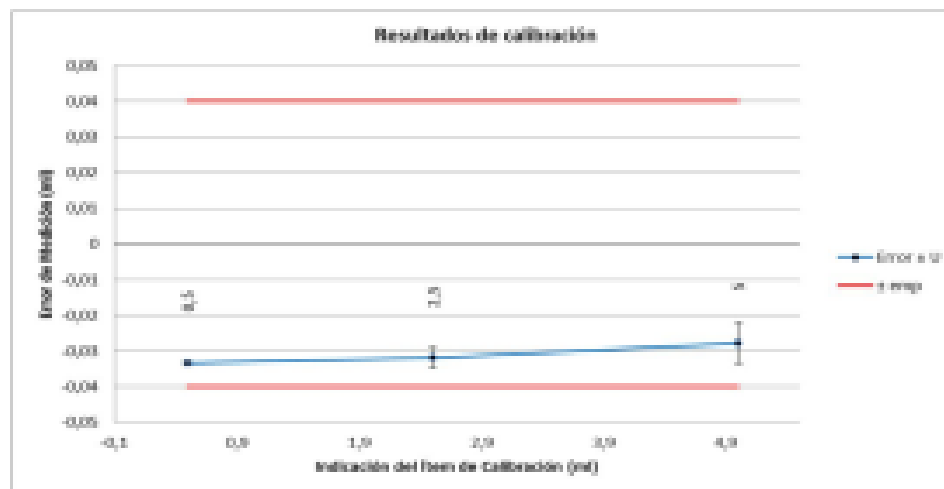
CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN
Certificate of Calibration
N° CGC-7636-026-23



Resultados de la Calibración

Calibration Results

Valor de Prueba Test Value	Volumen Medido Measured Volume	Error de Medición (μ) Measurement Error (μ)	Incertidumbre (μ) Uncertainty (μ)	Factor de Cobertura (K) Coverage Factor	Temperatura (°C) Temperature	E.M.P. M.P.E.	Cumplimiento Compliance
00	00	00	00	2,00	21,8	0,04	Compliance
1	4,8722	-0,0018	0,0028	2,00	21,8	0,04	Compliance
2,5	2,4981	-0,0018	0,0028	2,00	21,8	0,04	Compliance
5,0	0,4999	-0,0020	0,0028	2,00	21,8	0,04	Compliance



Notas

Notes

- Temperatura de Referencia: 20 °C
- El error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).
- Se ha realizado diez mediciones por cada valor de prueba.
- Reference Temperature: 20 °C
- The measurement error (best estimate of the true value) are shown to the same number of digits as the reported uncertainty (see GUM 7.2.6).
- Ten measurements have been performed for each test value.



IDENTIFICACIÓN DEL CLIENTE

NOMBRE: SODERAL SOCIEDAD DE DESTILACIÓN DE ALCOHOLES SA
 DIRECCIÓN: CORONEL MARCELINO MARDUEÑA - AV. PRINCIPAL O AV. SAN CARLOS.
 TELÉFONO: 0985 146451
 PERSONA(S) DE CONTACTO: GLADIS ESPINOZA GARCIA

IDENTIFICACIÓN DEL ÍTEM DE CALIBRACIÓN

ÍTEM: DENSÍMETRO DIGITAL CÓDIGO⁽¹⁾: CLQmDEN02
 MARCA: ANTON PAAR UNIDAD DE MEDIDA: GRADO ALCOHOLICO %(v/v)
 MODELO: DMA4900M INTERVALO DE MEDIDA⁽²⁾: 99,99
 SERIE: 81381982 UBICACIÓN⁽³⁾: LAB. CONTROL DE CALIDAD

EQUIPAMIENTO UTILIZADO

CODIGO	NOMBRE	MARCA	MODELO	SERIE	VENCE CAL.	N° CERTIFICADO
EL.COA.133	ESTANDAR DE DENSIDAD A 20°C	CPA chem	NO ESPECIFICA	900890	2025-05-24	DNS08 (73 L.1
EL.PT.425	TERMOMIGROMETRO	ELICROM	TH-0511	NO ESPECIFICA	2024-08-22	CGC-4526-009-23

DECLARACIÓN DE TRAZABILIDAD METROLÓGICA

Los resultados de calibración contenidos en este certificado son trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI) por medio de una cadena ininterrumpida de calibraciones a través del NIST (National Institute of Standards and Technology - Estados Unidos) o de otros Institutos Nacionales de Metrología (INMs).

CALIBRACIÓN

MÉTODO: COMPARACIÓN DIRECTA CON PATRONES DE REFERENCIA
 PROCEDIMIENTO: PEC.EL.PG
 LUGAR DE CALIBRACIÓN: LAB. CONTROL DE CALIDAD
 TEMPERATURA AMBIENTAL MEDIA: 21,7 °C ± 0,4 °C
 HUMEDAD RELATIVA MEDIA: 57,0 %RH ± 1,0 %RH

Densidad Del Etanol

Lecturas Realizadas	Estándar de Densidad a 20°	Lectura del equipo	Temp. DMA	Grado Alcohólico
1	0,80703	0,80705	20,01	96,10
2		0,80703	20,01	96,09
3		0,80703	20,00	96,09
4		0,80703	20,01	96,10
5		0,80703	20,01	96,10
6		0,80704	20,00	96,10
7		0,80703	20,01	96,10
8		0,80705	20,01	96,09
9		0,80706	20,00	96,09
10		0,80704	20,00	96,10

RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN DE DENSIDAD

Unidad de Medida	Incertidumbre	Observación
DENSIDAD(g/ml)	0,00015	0,80705

RESULTADOS DE LA CALIBRACIÓN DE GRADO ALCOHOLICO

Unidad de Medida	Incertidumbre	Observación
GRADO ALCOHOLICO %(v/v)	0,012	96,10

OBSERVACIONES

La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición (intervalo de confianza), la cual se evaluó con base en el documento JCGM 100:2008 (GUM 1995 with minor corrections) "Evaluation of measurement data - Guide to the expression of uncertainty in measurement", multiplicando la incertidumbre típica combinada por el factor de cobertura $k=2,00$, que para una distribución t (de Student) corresponde a un nivel de confianza de aproximadamente el 95,45%. Este certificado no podrá reproducirse excepto en su totalidad sin la aprobación escrita del laboratorio Elicrom-Calibración. Los resultados contenidos en este certificado son válidos únicamente para el ítem aquí descrito, en el momento y bajo las condiciones en que se realizó la calibración.

NOTA: La lectura del patrón y el error de medición (mejor estimación del valor verdadero) se muestran con la misma cantidad de decimales que la incertidumbre reportada (véase 7.2.6 de la GUM).

⁽¹⁾ Información proporcionada por el cliente. Elicrom no es responsable de dicha información.

⁽²⁾ Información tomada de las especificaciones del ítem de calibración (proporcionada por el fabricante).

CALIBRACIÓN REALIZADA POR: Lauro Vargas
 FECHA DE RECEPCIÓN DEL ÍTEM: 2023-12-30
 FECHA DE CALIBRACIÓN: 2023-12-30
 FECHA DE EMISIÓN: 2024-01-17
 FECHA PRÓXIMA DE CALIBRACIÓN: 2024-06



Autenticación de certificado

Autorizado y firmado electrónicamente por:

Ing. Servino Pinoda
 Gerente Técnico



Firma electrónica

Anexo C: Certificados de análisis de reactivos para la determinación del metanol.

CERTIFIED REFERENCE MATERIAL
Organic substance

Ref No: SB5000.1000

Lot No: 935262

Certification Date: 13.09.2023

Barcode: 41500811

Description of the Reference Material (CRM): 1-Butanol

CAS No: 71-36-3

Empirical formula: $C_4H_{10}O$ MW: 74.122

Certified Purity/ Uncertainty: 97.9 +/- 0.5 %

Water content: 0.441 mg/g (determined by Karl-Fischer titration)

Storage Conditions: Store under normal laboratory conditions, at temperatures between 15°C to 25°C

Expiry date: 13.10.2025

Method of certification: CRM's calibration procedure (WQP 5.15.1/22)

The following methods of analysis are used to determine purity: GC/MS (Purity=100% - Assay impurities)

Analytical Data:

GC Conditions:

Column	Agilent CP9105 J&W VF-624ms 60m, 0.32mm, 1.80µm	Oven	Temperature	Hold
Flow rate	1.6 ml/min	Initial	50°C	0
Injector	200 °C	5°C/min	100°C	2
injection volume	1µl split	20°C/min	160°C	1
Carrier gas	He, constant flow			

MS Conditions:

Transfer line	180°C	ionization mode	EI
MS Source	230°C	Mode	Scan
MS Quad	150°C		

Concept of Certification and traceability statement:

The reported expanded uncertainty of measurement is stated as the standard uncertainty of measurement multiplied by the coverage factor $k = 2$, which for a normal distribution corresponds to a coverage probability of approximately 95%. The standard uncertainty of measurement has been determined in accordance with EA 4/02.



CPAchem Ltd. is ISO 17034 (Cert No AR-1835) and ISO/IEC 17025 (Cert No AT-1838) accredited by ANAB

CPAchem Ltd
www.cpachem.com
e-mail: info@cpachem.com; tel: +359 42952901
for France, Belgium and Switzerland:
e-mail: acad2@wanadoo.fr; tel: 01 30 57 57 32 / fax: 01 30 57 57 33

CERTIFIED REFERENCE MATERIAL
Organic substance

Ref No: SB243.1000

Lot No: 935261

Certification Date: 13.09.2023

Barcode: 41523769

Description of the Reference Material (CRM): Methanol

CAS No: 67-56-1

Empirical formula: CH₄O

MW: 32.041

Certified Purity/ Uncertainty: 99.9 +/- 0.1 %

Water content: 0.112 mg/g (determined by Karl-Fischer titration)

Storage Conditions: Store under normal laboratory conditions, at temperatures between 15°C to 25°C

Expiry date: 13.10.2025

Method of certification: CRM's calibration procedure (WQP 5.15.1/22)

The following methods of analysis are used to determine purity: GC/MS (Purity=100% - Assay impurities)

Analytical Data:

GC Conditions:

Column	Agilent CP9105 J&W VF-624ms 60m, 0.32mm, 1.80µm	Oven	Temperature	Hold
Flow rate	1.6 ml/min	Initial	40°C	4
injector	200 °C	10°C/min	100°C	0
Injection volume	1µl split	20°C/min	150°C	5
Carrier gas	He, constant flow			

MS Conditions:

Transfer line	170°C	ionization mode	EI
MS Source	230°C	Mode	Scan
MS Quad	150°C		

Concept of Certification and traceability statement:

The reported expanded uncertainty of measurement is stated as the standard uncertainty of measurement multiplied by the coverage factor $k = 2$, which for a normal distribution corresponds to a coverage probability of approximately 95%. The standard uncertainty of measurement has been determined in accordance with EA 4/02.



CPAchem Ltd. is ISO 17024 (Cert No AR-1325)

www.
e-mail: info@cpachem.com; tel: +
for France, Belgium &