


aoxlab	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas

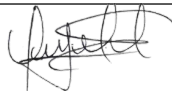

AOXLAB S.A.S.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

DOCUMENTO CONTROLADO


PROC-TC-214 Procedimiento de ensayo de Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas

Copia controlada No.: 1

	Nombre	Puesto o función	Firma	Fecha
Elaboró:	Brayan Ardila	Analista de Laboratorio		2024-11-20
Revisó:	Angela P. Patiño	Directora de Calidad		2024-12-04
Aprobó:	Jonatan Zárate Álvarez	Director Técnico		2024-12-05
Localización del documento:	Plataforma SGC			


Control de Cambios

Estado	Fecha de Inicio de vigencia	Revisión	Descripción del cambio realizado	Realizó	Revisó	Aprobó
Obsoleta	2023-01-10	1	Ninguno (versión original).	SVA	APPP	DPP
Obsoleta	2024-05-27	2	Se modifica la preparación de la curva.	SVA	APPP	LSGF
Vigente	2024-12-05	3	Se modifica preparación de estándar de verificación.	BAAD	APPP	JOZA

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

ÍNDICE

1.	OBJETIVO Y ALCANCE.	4
1.1	Objetivo.	4
1.2	Alcance.	4
2.	DEFINICIONES Y NOTACIONES.	4
2.1	Definiciones.	4
2.2	Notaciones.	5
3.	REFERENCIAS.	5
4.	DESARROLLO	6
4.1	EQUIPOS DE MEDICIÓN.	6
4.2	CONDICIONES GENERALES	6
4.2.1	Inspección visual.	6
4.2.2	Estabilización.	6
4.2.3	Verificación de equipos.	7
4.3	Manejo de la muestra.	7
4.4	Medidas de seguridad.	8
4.5	Instrucciones De Ensayo.	8
4.5.1	Reactivos y/o soluciones	8
4.5.2	Preparación de la muestra:	10
4.5.3	Condiciones cromatográficas	10
4.6	Informe	10
4.7	Control de la calidad	11
5.	RESPONSABILIDADES.	12
6.	FORMATOS RELACIONADOS.	13
7.	ANEXOS.	13

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

1. OBJETIVO Y ALCANCE.

1.1 Objetivo.

Describir los pasos para realizar la determinación de metanol en bebidas alcohólicas de acuerdo a los parámetros establecidos en la AOAC 972.11 [2], así como con los requisitos establecidos por la norma ISO/IEC 17025:2017 [1].

1.2 Alcance.

Prueba o ensayo	Norma o método de referencia	Técnica o Método
Metanol en bebidas alcohólicas	AOAC 972.11 (Modificado)	Cromatografía Gaseosa acoplada masas-masas (Triple cuadrupolo)

Este método se aplica a las siguientes matrices:


- Cervezas
- Vinos
- Cocteles
- Aguardiente
- Ron
- Vodka
- Bebidas

2. DEFINICIONES Y NOTACIONES.

2.1 Definiciones.

Calibración [4].

Operación que, bajo condiciones especificadas, en un primer paso, establece una relación entre los valores de las magnitudes con su incertidumbre de medición provista por patrones de medición y las indicaciones correspondientes con incertidumbres de medición asociadas y, en segundo paso, usa esta información para establecer una relación para obtener un resultado de medición de una indicación.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

Desviación Estándar Relativa (DSR%) [4].

Estimador del grado de dispersión de medidas repetidas. Se calcula como

$$DSR \% = \frac{D.S.}{\bar{x}} \times 100$$

Donde D. S. es la desviación estándar de las réplicas y \bar{x} es el promedio de estas

Error relativo porcentual (E. R. %) [4].

Estimador del sesgo de una medición. Se calcula como

$$b\% = E.R.\% = \frac{\bar{x} - x_{ref}}{x_{ref}} \times 100$$

Donde x_{ref} es el valor teórico o aceptado como verdadero y \bar{x} es el promedio de estas

Ensayo/prueba [3].

Determinación de una o más características de acuerdo con un procedimiento

Procedimiento [3].

Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso.

2.2 Notaciones.

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

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


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

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

3. REFERENCIAS.

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

[2] AOAC 989.19 Official Methods of analysis “Ethanol in Beer”- EOMA Edition Online 2019.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

[3] ISO 9000:2015 Quality management systems -- Fundamentals and vocabulary/ Sistemas de gestión de la calidad-- Fundamentos y vocabulario.

[4] VIM: 2012, International vocabulary of metrology -- Basic and general concepts and associated terms.

4. DESARROLLO

4.1 EQUIPOS DE MEDICIÓN.

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

Equipos y materiales
Cromatógrafo de gases acoplado a masas-masas
Automuestreado AOC-6000
Columna capilar Rxi-624Sil MS 30m, 0.25 mmID, 1.40 µm df
Balones volumétricos de 1 mL, 2 mL, 5 mL, 10 mL, 25 mL, 50 mL y 100 mL
Transfer pipeta de 1 mL, 200 µL y 10 mL
Viales de vidrio de 2 mL
Vortex

4.2 CONDICIONES GENERALES


4.2.1 Inspección visual.

Al recibirse la muestra en el Laboratorio, ésta es inspeccionada a fin de asegurar que se garantizan las condiciones conforme lo indicado en el procedimiento PROC-TC-008 "Procedimiento de aseguramiento de integridad de los ítems bajo servicio".

Antes de iniciar el análisis, se debe verificar que la muestra se encuentra empacada y sellada herméticamente, y etiquetada con el sticker de identificación interna del laboratorio. Se debe contar con al menos 50 mililitros de muestra para realizar este análisis.

En caso de que la muestra no presente alguna de estas condiciones, informar de inmediato al líder comercial a través del Líder de Laboratorio.

4.2.2 Estabilización.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

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

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

4.2.3 Verificación de equipos.


Antes de iniciar el ensayo, debe verificarse que el estado de funcionamiento de los equipos sea adecuado. Esto puede llevarse a cabo revisando que cuenten con la etiqueta de mantenimiento vigente y que estos no tengan alguna etiqueta que lo identifique como “Fuera de servicio”. Además, en el caso en el cual se lleve el control de uso, deben registrarse los últimos registros consignados en el formato FOR-TC-017, con el propósito de verificar que no se han registrado fallas en el funcionamiento. Si algún equipo es utilizado para la medición de alguna magnitud de influencia en el ensayo, este debe estar calibrado. Por tanto, se debe verificar la etiqueta de calibración adherida a este, y comprobar que se encuentre vigente.

Además de lo anterior, debe verificarse la fecha de expiración de los patrones, materiales de referencia y controles de calidad empleados en el ensayo con el fin de evitar el uso de materiales vencidos.

El cromatógrafo de gases acoplado a masas-masas, en caso de encontrarse apagado, se debe estabilizar el vacío que se genera en el espectrómetro de masas aproximadamente 12 horas para su correcto funcionamiento, esto se hace a través del *Software GCMS Real Time Analysis*. Asegurarse que no se tenga fugas en el sistema, verificar que el liner sea el adecuado para el análisis, en este caso el inserto split, el liner no puede estar despicado, parcialmente quebrado y mucho menos sucio, de ser así se debe de cambiar inmediatamente. Verificar el estado de la septa, esta no puede presentar deterioros aparentes, de igual manera la septa al igual que el liner se debe de cambiar aproximadamente cada 200 inyecciones, esto con el fin de prevenir fugas o contaminaciones. Se debe de realizar la verificación de la columna, verificar que la columna no se encuentra partida o quemada; se debe de verificar las conexiones de la columna con el inyector y/o detector.

4.3 Manejo de la muestra.

Las bebidas que se encuentren en la nevera para preservación se deben sacar con anterioridad y atemperar a 20°C. Si las muestras son gasificadas como es el caso de las

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

cervezas, se debe de desgasificar la muestra, para esto se toma una cantidad de muestra y se lleva al ultrasonido por 10 minutos en la opción **DEGAS**, pasados los 10 minutos, se verifica la muestra y de ser necesario se somete a sonicación nuevamente.

4.4 Medidas de seguridad.

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

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

4.5 Instrucciones De Ensayo.

4.5.1 Reactivos y/o soluciones

4.5.1.1 Etanol absoluto

4.5.1.2 Metanol

4.5.1.3 n-Butanol (Estándar interno)

4.5.1.4 Agua Tipo I

Nota: Los reactivos deben ser grado reactivo cromatográfico

4.5.1.5 Preparación solución etanol 40%

En un balón volumétrico de 200 mL adicionar 80 mL de etanol y llevar a volumen con agua tipo I.


4.5.1.6 Preparación solución trabajo metanol 5000 mg/L (0.50 %)

En un balón volumétrico de 100 mL adicionar 500 µL de metanol grado cromatográfico y llevar a volumen con agua tipo I.

4.5.1.7 Preparación solución de trabajo n-Butanol 5000 mg/L (0.50 %)


En un balón volumétrico de 100 mL adicionar 500 µL de n-butanol

4.5.1.8 Preparación curva de calibración

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

Concentración mg/L	Volumen solución trabajo metanol (µL)	Volumen de aforo con (mL)	Volumen solución de trabajo n-butanol (mL)	Concentración estándar interno (mg/L)
5	25	25	1.00	200
10	50	25	1.00	200
25	125	25	1.00	200
50	250	25	1.00	200
100	500	25	1.00	200
200	1000	25	1.00	200

Nota: El volumen de aforo se completa con la solución de etanol al 40% o con un contenido de etanol similar a la muestra a analizar.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

4.5.1.9 Preparación estándar verificación curva

En un balón volumétrico de 25 mL adicionar 100 µL de la solución de trabajo de metanol y 1.00 mL de la solución de trabajo de n-Butanol, completar volumen con la solución de etanol al 40%.

4.5.2 Preparación de la muestra:

Filtrar las muestras a través de un filtro de poro de 0.45 µm, a 5 mL del filtrado se adicionan 200 µL de la solución de trabajo de n-butanol. Por último se adiciona la muestra en un vial y se procede a la inyección en el cromatógrafo.


4.5.3 Condiciones cromatográficas

GC Column:	Rxi-624Sil MS 30m, 0.25 mm ID, 1.40 µm df	Flow Mode:	Velocidad linear constante (39.9 cm/s)
Inj. Mode:	Split	Interface Temp:	300 °C
Split:	100		
GC Oven Temp:	30 °C por 2 minutos, 70 °C / min hasta 250 °C por 1.5 minutos.	Ion Source Temp:	200 °C
		Sample:	1 µL

El metanol y el estándar interno son determinados en el modo SIM, esto fue creado para cada compuesto con la ayuda del programa SmartDatabase de Shimadzu. De igual forma, las condiciones cromatográficas ya se encuentran creadas en el Método: Metanol en bebidas.

4.6 Informe

Los resultados se analizan de la siguiente manera:

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

4.6.1 Registro de datos.

Los datos serán registrados en el formato FOR-TC-113 “Formato para el registro de datos primarios de Etanol y Metanol en bebidas alcohólicas”.

4.6.2 Cálculos.

La concentración de metanol en las muestras, es calculada automáticamente por el software, cargando el método con su respectiva curva de calibración.

Los resultados son calculados de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$C_p = \frac{A/A_{stdi} + I}{m} * FD * C_{stdi}$$

C_p: Concentración metanol en mg/L

A: Área del pico

A_{stdi}: Área del estándar interno

I: Intercepto de la curva

m: Pendiente de la curva


FD: Factor de dilución

C_{stdi}: Concentración del estándar interno

4.7 Control de la calidad

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

CONTROL	PERIODICIDAD	CRITERIO
Blanco de reactivos.	Cada que se realice un cambio de lote en los reactivos de extracción.	Menor o igual a la mitad del límite de cuantificación.
Estándar de verificación de la curva	Cada que se realice el análisis	El R% debe estar entre 90-110% del valor teórico.
Duplicado de muestra	Cada que se realice el análisis	El R% debe estar no debe superar el 7%.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

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

Estos datos son registrados en el cuadro de mando SOFT-TC-082 "Cuadro de mando para el registro de Etanol y metanol en bebidas alcohólicas" en la ruta: L:\LABORATORIO\REGISTROS\REGISTROS RT\Cuadros de Mando.

5. RESPONSABILIDADES.

Director técnico.


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

Director de Calidad.

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

Líder de Laboratorio.

- Asegurar la aplicación del presente documento por el personal subordinado o supervisado.
- Revisar los resultados obtenidos del aseguramiento de calidad del método.
- Revisar los resultados ingresados por el analista, haciendo seguimiento de la trazabilidad del análisis.

	Procedimiento de ensayo Determinación de Metanol en bebidas alcohólicas AOXLAB S.A.S	Identificación: PROC-TC-249
		Revisión: 3
		Inicio de vigencia: 2024-12-05

Analista.

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

6. FORMATOS RELACIONADOS.

SOFT-TC-082 "Cuadro de mando para el registro de Etanol y Metanol en bebidas alcohólicas."

FOR-TC-113 "Formato para el registro de datos primarios de Etanol y Metanol en bebidas alcohólicas".

7. ANEXOS.

No aplica.