



Universidad del Azuay
Facultad de Ciencia y Tecnología

Escuela de Ingeniería en Alimentos

**DETERMINACIÓN DE METANOL EN AGUARDIENTE DE
PRODUCCIÓN ARTESANAL EN LA PROVINCIA DEL
AZUAY POR EL MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE
GASES**

Trabajo de grado previo a la obtención del título de Ingeniero en Alimentos

Autor:

Rubén Patricio Jara Arbito

Director:

Piercosimo Tripaldi Capelletti

Cuenca-Ecuador

2013

DEDICATORIA

El presente trabajo dedico a Dios en primer lugar por brindarme la vida y haberme dado salud para lograr mis objetivos. A mi madre y a mis abuelos por el apoyo incondicional en todo momento, que con cariño me supieron guiar día a día en mi caminar estudiantil.

A ellos muchas gracias por estar siempre conmigo.

AGRADECIMIENTOS

De una manera muy especial, al Dr. Piercosimo Tripaldi, a quien le debo muchas horas de comprensión, paciencia y dedicación.

A la Ing. María Fernanda Rosales y a todo el equipo de laboratorio por su apoyo incondicional y por su colaboración en la realización de este trabajo.

De igual manera mis más sinceros agradecimientos a la Dra. Rebeca Webster y a la Dra. Diana Chalco por aportar con sus conocimientos para la realización de éste trabajo.

A mis profesores, quienes en las aulas de esta hermosa Universidad me supieron guiar en el campo educativo y moral, para llegar a ser una persona útil a la sociedad y que sus conocimientos me enrumbaron por el camino de la sabiduría.

Con cariño, a mis apreciados compañeros con quienes compartimos momentos agradables en las aulas que nunca olvidaré.

Finalmente agradezco a Dios por darme la fuerza, sabiduría y paciencia para la realización de este trabajo.

ÍNDICE DE CONTENIDOS

| | |
|---------------------------|------|
| Dedicatoria..... | ii |
| Agradecimientos..... | iii |
| Índice de contenidos..... | iv |
| Índice de tablas..... | vii |
| Índice de figuras..... | viii |
| Índice de anexos..... | ix |
| Resumen..... | x |
| Abstract..... | xi |
| Introducción..... | xii |

CAPÍTULO I: METODOLOGÍA ANALÍTICA

| | |
|---|----|
| Introducción..... | 1 |
| 1.1 Cromatografía de gases..... | 1 |
| 1.1.1 Tipo de cromatografía de gases..... | 2 |
| 1.1.2 Instrumentación y funcionamiento..... | 2 |
| 1.1.2.1 Gas..... | 3 |
| 1.1.2.2 Inyector..... | 3 |
| 1.1.2.3 Columna cromatográfica..... | 4 |
| 1.1.2.4 Detector..... | 4 |
| 1.1.3 Proceso cromatográfico..... | 6 |
| 1.1.4 Aplicaciones de la cromatografía..... | 7 |
| 1.1.4.1 Análisis cuantitativo..... | 7 |
| 1.1.4.2 Análisis cualitativo..... | 7 |
| 1.2 Espectroscopía FT- IR..... | 7 |
| 1.2.1 Instrumentación y funcionamiento..... | 9 |
| 1.2.1.1 Fuente..... | 10 |
| 1.2.1.2 Interferómetro..... | 10 |
| 1.2.1.3 Muestra..... | 10 |
| 1.2.1.4 Detector..... | 10 |

| | |
|----------------------------------|----|
| 1.2.1.5 Equipo..... | 10 |
| 1.3 Estandarización interna..... | 11 |

CAPÍTULO II: TOXICOLOGÍA DEL METANOL

| | |
|--|----|
| Introducción..... | 12 |
| 2.1 Metanol..... | 12 |
| 2.2 Fisiopatología..... | 12 |
| 2.3 La intoxicación por metanol..... | 13 |
| 2.4 Diagnóstico..... | 13 |
| 2.5 Tratamiento..... | 14 |
| 2.6 Rango de toxicidad de metanol en humanos..... | 14 |
| 2.7 Requisito de metanol para aguardiente de caña rectificado..... | 14 |

CAPÍTULO III: MATERIALES Y MÉTODOS

| | |
|---|----|
| Introducción..... | 15 |
| 3.1 Obtención de las muestras..... | 15 |
| 3.2 Condiciones de trabajo..... | 16 |
| 3.3 Determinación de metanol por cromatografía de gases..... | 16 |
| 3.3.1 Equipos, materiales y reactivos..... | 17 |
| 3.3.2 Preparación de los patrones por el método estándar interno..... | 18 |
| 3.3.3 Preparación de las muestras por el método del patrón interno..... | 19 |
| 3.4 Determinación de etanol por FT-IR..... | 20 |
| 3.4.1 Equipos, materiales y reactivos..... | 21 |
| 3.4.2 Preparación de los patrones para etanol..... | 22 |

CAPÍTULO IV: RESULTADOS

| | |
|---|----|
| Introducción..... | 23 |
| 4.1 Desarrollo de la curva de calibración para metanol..... | 23 |
| 4.1.1 Cuantificación de metanol en muestras..... | 26 |
| 4.2 Desarrollo de la curva de calibración para etanol..... | 28 |
| 4.2.1 Cuantificación de etanol en muestras..... | 30 |
| 4.3 Concentración final de metanol en muestras..... | 30 |

CAPÍTULO V: DISCUSIÓN

| | |
|--------------------------|-----------|
| Introducción..... | 32 |
| 5.1 Discusión..... | 32 |
| CONCLUSIONES..... | 34 |
| BIBLIOGRAFÍA..... | 35 |
| ANEXOS..... | 38 |

ÍNDICE DE TABLAS

| | |
|---|----|
| Tabla 1: Preparación de patrones mediante el método del patrón interno..... | 18 |
| Tabla 2: Preparación de muestras mediante el método del patrón interno..... | 19 |
| Tabla 3: Preparación de patrones para etanol..... | 22 |
| Tabla 4: Áreas de patrones..... | 24 |
| Tabla 5: Resultados de la curva de calibración para metanol..... | 25 |
| Tabla 6: Área de patrones mediante Cal Tode..... | 25 |
| Tabla 7: Áreas de muestras | 27 |
| Tabla 8: Concentración de metanol en muestras..... | 28 |
| Tabla 9: Resultados de la curva de calibración para etanol..... | 29 |
| Tabla 10: Concentración de etanol en muestras..... | 30 |
| Tabla 11: Concentración final de metanol en muestras..... | 31 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1: Partes elementales de un cromatógrafo de gases..... | 2 |
| Figura 2: Vibraciones de las moléculas..... | 8 |
| Figura 3: Proceso de análisis de las muestras..... | 9 |
| Figura 4: Muestras refrigeradas de aguardiente artesanal a 8 °C..... | 15 |
| Figura 5: Cromatógrafo de gases..... | 17 |
| Figura 6: Patrones para metanol mediante el método del patrón interno..... | 19 |
| Figura 7: Muestras preparadas mediante el método del patrón interno | 20 |
| Figura 8: Infrarrojo con transformada de Fourier..... | 21 |
| Figura 9: Patrones para etanol..... | 22 |
| Figura 10: Curva de calibración para metanol..... | 26 |
| Figura 11: Curva de calibración para etanol..... | 29 |

ÍNDICE DE ANEXOS

| | |
|---|----|
| Anexo 1. Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 362:92. Bebidas Alcohólicas. Aguardiente de Caña Rectificado. Requisitos. Cuarta revisión... | 38 |
| Anexo 2. Cromatograma: Medición bajo el área (Spectrum Viewer)..... | 41 |
| Anexo 3. Tabla de correlaciones en espectroscopia infrarroja..... | 42 |

10/10/13

“Determinación de metanol en aguardiente de producción artesanal en la provincia del Azuay por el método de cromatografía de gases”

RESUMEN

La producción de alcohol artesanal puede verse contaminada con metanol por la elaboración inadecuada. Debido a esto es importante realizar un control de calidad riguroso. En el presente trabajo se seleccionaron muestras de este tipo de bebida en diferentes lugares a nivel de la provincia del Azuay; donde se determinó la concentración de metanol mediante el uso de la técnica de cromatografía de gases en el laboratorio químico de la Universidad del Azuay por el método de cuantificación por patrón interno. Evidenciando valores fuera de lo permitido en muestras procedentes del cantón Santa Isabel y Girón, según la norma técnica ecuatoriana que permite concentraciones máximas de 10 mg de metanol en 100 cc de alcohol anhidrido.

Palabras claves: Cromatografía de gases, Espectroscopía, Patrón Interno, Metanol, Alcohol anhidrido.



Dr. Piercosimo Tripaldi

Director



Rubén Jara

Autor



Ing. Fausto Parra

Presidente Junta Académica

Rubén Jara
21/12/13

ABSTRACT

"Determination of methanol by gas chromatography method in the production of hand-crafted liquor at the province of Azuay"

The artisanal alcohol production may be contaminated with methanol by inadequate preparation. Because of this, it is important to conduct a rigorous quality control. In the present work, samples of this type of drink were collected in different places of the province of Azuay. We used the Chemical Laboratory of *Universidad del Azuay* to determine the concentration of methanol by using the gas chromatography technique done through the quantification method by internal standard. We were able to evidence not permitted values in samples taken in *Santa Isabel* and *Girón* Cantons, as the Ecuadorian technical standard allows maximum concentrations of 10 mg of methanol in 100 ml of anhydrous alcohol.

Keywords: Gas chromatography, spectroscopy, Internal Standard, Methanol, Alcohol dioxide.

Piercosimo Tripaldi

Dr. Piercosimo Tripaldi
Director

Rubén Jara

Rubén Jara
Author

Fausto Parra

Ing. Fausto Parra
President of the Academic Board



Lourdes Crespo

Translated by,
Lic. Lourdes Crespo

Jara Arbito Rubén Patricio

Trabajo de graduación

Dr. Tripaldi Capelletti Piercosimo

Octubre 2013

**DETERMINACIÓN DE METANOL EN AGUARDIENTE DE
PRODUCCIÓN ARTESANAL EN LA PROVINCIA DEL AZUAY POR EL
MÉTODO DE CROMATOGRAFÍA DE GASES**

INTRODUCCIÓN

La industria de las bebidas alcohólicas genera altos ingresos por la gran demanda y consumo que existe, esto ha provocado que se elabore de una manera artesanal en numerosos lugares del mundo incluyendo a Ecuador con o sin estándares de calidad. La elaboración de bebidas alcohólicas fuera de los estándares de calidad crea una serie de complicaciones que atenta con la salud y la vida de las personas que las consumen.

En la provincia del Azuay se expende bebidas alcohólicas elaboradas artesanalmente como es el aguardiente usualmente conocido como puro o punta. Por consiguiente el consumo de bebidas alcohólicas, entre los que se encuentra el aguardiente, es masivo en esta zona y es prioritario controlar su calidad para evitar problemas de salud pública.

Las bebidas alcohólicas de tipo aguardiente pueden verse contaminadas con metanol al no ser sometidas a procesos de destilación; ésta probabilidad aumenta cuando estas bebidas son elaboradas sin tomar en cuenta las buenas prácticas de manufactura y son distribuidas sin haberseles realizado un control de calidad riguroso, en el cual, pueda determinarse la presencia o no de contaminación o adulteración.

La intoxicación por metanol ocurre frecuentemente por vía digestiva cuando se trata de bebidas alcohólicas; causa la ceguera irreversible y en dosis mayores puede causar hasta la muerte. La ingestión de 0,1 g metanol/kg peso corporal o

más, debería ser considerada como grave, la ingestión de más de 1 g metanol/kg peso corporal es potencialmente letal (*Dirección General de Salud Pública de la Región de Murcia. 2007*).

En la actualidad uno de los principales temas de interés y preocupación para el consumidor, al momento de ingerir este tipo de bebidas, es asegurarse si cumple con todos los pasos correctos de su elaboración, permisos y normativas; puntos claves para garantizar el consumo seguro y evitar riesgos de salud que pueden hasta provocar la muerte del consumidor.

El presente proyecto propone la determinación de metanol por el método de cromatografía de gases en bebidas alcohólicas de tipo aguardiente de producción artesanal que se expende en los cantones de Paute, Gualaceo, Girón y Santa Isabel de la provincia del Azuay; los resultados de las muestras se comprobará con el valor permitido en la norma NTE INEN 362:92 para bebidas alcohólicas de tipo aguardiente; que indica un valor máximo de metanol de 10mg/100cc de alcohol anhidro.

CAPÍTULO I

METODOLOGÍA ANALÍTICA

Introducción

En este capítulo se abordarán los métodos de análisis de cromatografía de gases e infrarrojo con transformada de Fourier, la instrumentación y el funcionamiento de cada equipo, la metodología por estandarización interna. Además se incluye las aplicaciones de los métodos de análisis, el proceso cromatográfico, los tipos de cromatografía de gases. También se adjunta figuras ilustrativas de las partes fundamentales de un cromatógrafo de gases, los tipos de vibraciones de las moléculas y el proceso de análisis por FT-IR.

1.1 Cromatografía de gases

La cromatografía de Gases consiste en la inyección de una pequeña cantidad de la muestra (constituída por una mezcla de sustancias volátiles) en el inyector de un Cromatógrafo de Gases en el que son vaporizadas y transportadas por un gas inerte a través de una columna empacada o capilar con un líquido de partición que presenta solubilidad selectiva con los componentes de la muestra, ocasionando su separación (*Norma Mexicana NMX-V-021-1986*).

Los componentes que eluyen de la columna pasan uno a uno por el "Detector", el cual genera una señal eléctrica proporcional a su concentración, la que es transformada por el registrador (o integrador) en una gráfica de concentración contra tiempo llamada cromatograma (*Norma Mexicana NMX-V-021-1986*).

1.1.1 Tipo de cromatografía de gases

Existen dos tipos de cromatografía de gases:

La cromatografía gas-sólido se basa en una fase estacionaria sólida en el cual se produce la retención de los compuestos como consecuencia de la adsorción. Este tipo de cromatografía ha tenido una aplicación limitada debido a la retención semipermanente de las moléculas activas o polares y a la obtención de picos de elución con colas. Tiene una gran aplicación en la separación de ciertas especies gaseosas de bajo peso molecular.

La cromatografía gas-líquido, en el tipo de la cromatografía de gases, se basa en la distribución del analito entre una base líquida inmovilizada sobre la superficie de un sólido inerte y una fase móvil gaseosa, el tipo de equilibrio se da por la partición entre gas y líquido.

1.1.2 Instrumentación y funcionamiento

En la siguiente figura se presenta las partes elementales de un cromatógrafo de gases.

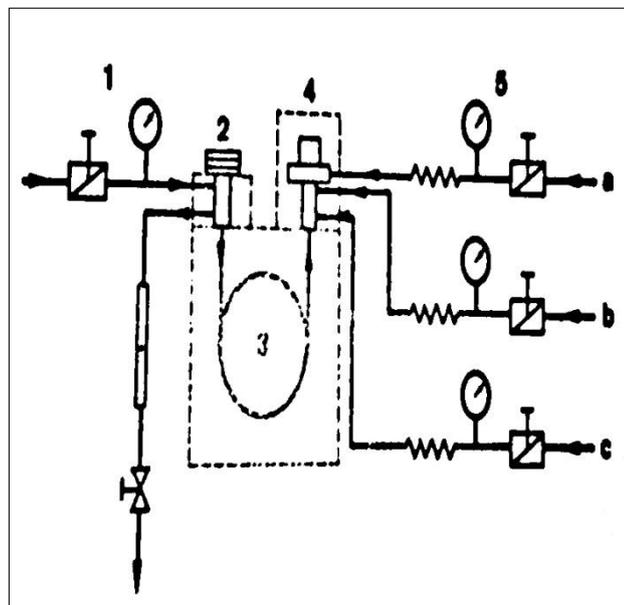


Figura 1: Partes elementales de un cromatógrafo de gases

Fuente: SCHOMBURG, Gerhard. (1990). Gas Chromatography a Practical Course.

1. Suministro de gas portador.
2. Inyector de muestra por división o sin división.
3. Columna empaquetada o capilar.
4. Detector.
5. Suministrador de gas por FID, nitrógeno, hidrogeno, aire.

1.1.2.1 Gas

El gas portador debe ser un gas inerte de elevada pureza, para prevenir su reacción con el analito o con la columna cromatográfica y compatible con el detector empleado. Generalmente se emplean gases como el helio, argón, hidrógeno, nitrógeno, aire o dióxido de carbono; viene normalmente en un tubo a presión que se conecta con reguladores de presión, válvulas de caudal, medidores de presión y de flujo.

1.1.2.2 Inyector

El inyector es usualmente caliente para volatilizar las muestras líquidas. El sistema de inyección más utilizado emplea una microjeringa para introducir el analito a una cámara de vaporización, debe ser rápida para evitar el ensanchamiento de las bandas de salida y la evaporización de la muestras antes de inyectar. Hay cuatro tipos básicos de inyección:

- **Split (Dividido):** solo una parte de la muestra entra en la columna, el resto se elimina al exterior por la línea de split, recomendable para muestras concentradas, inyección head space y para análisis isoterms. En este tipo de inyector la válvula dispone de un sistema de apertura y cierre.
- **Splitless:** de alta sensibilidad mayor que en el modo split, la totalidad de la muestra inyectada pasa a la columna cuando la transferencia de la muestra ha sido completa, se abre el split para limpiar el inyector, recomendable para el análisis de muestras pocos concentradas.
- **PTV (programed temperature vaporization) / PTV (Vaporización por temperatura programada):** idóneo para muestras térmicamente sensibles, la

muestra se introduce en frío y el aumento de temperatura programada provoca la evaporación de la muestra.

- On– column: Adecuado para compuestos inestables térmicamente, la muestra se introduce a temperatura ambiente, no se produce vaporización, la inyección se realiza directamente en la cabeza de la columna (*Schomburg, 1990*).

1.1.2.3 Columna cromatográfica

Es donde el proceso de separación cromatográfica toma lugar, entre los principales tipos de columna cromatográficas tenemos los siguientes:

- Empaquetadas o de relleno: El material del tubo puede ser de metal, vidrio o teflón relleno de la fase estacionaria. Con una longitud de 2 a 4 metros y con un diámetro de 4 a 9 milímetros. Este tipo de columnas tiene baja separación y se van usando cada vez menos.
- Capilares o abiertas: Consiste de un tubo capilar relleno de la fase estacionaria. Con una longitud de 25 a 100 metros y con un diámetro interno de 0,1 a 0,5 milímetros. Este tipo de columnas tienen mayor resolución y sensibilidad.

La columna se encuentra en el horno cromatográfico el cual proporciona los siguientes beneficios:

- Un ambiente estable para la columna analítica.
- El calentamiento y enfriamiento es rápido.
- Correcta circulación de aire que asegura la estabilidad térmica.
- Existen aberturas para facilitar el enfriamiento (*Schomburg, 1990*).

1.1.2.4 Detector

El detector se encarga de determinar cuándo ha salido el analito por el final de la columna. Se clasifican según su sensibilidad:

- Detector de conductividad térmica TCD: o detector de hilo caliente uno de los primeros detectores que se utilizaron en cromatografía de gases, se basa en los cambios de conductividad térmica de la corriente de gas ocasionados por la presencia de las moléculas del analito.
- El detector de conductividad térmica posee un amplio rango dinámico lineal, da respuestas universales tanto a especies orgánicas como inorgánicas, permite recoger los solutos tras la detección y es muy simple. Una limitación del detector de conductividad térmica es su sensibilidad relativamente baja.
- Detector de flama ionizante FID: es uno de los detectores más extensamente utilizados y uno de los más aplicables en cromatografía de gases. El detector de ionización de llama es más utilizado para la mayoría de compuestos orgánicos, incluyendo aquellos que están contaminados con agua y con óxidos de nitrógeno y de azufre.
- El detector de ionización de llama posee una elevada sensibilidad, un gran intervalo lineal de respuesta, estable y un bajo ruido. Por lo general, es resistente y fácil de utilizar. Una desventaja del detector de ionización de llama es que se trata de un detector destructivo de la muestra.
- Detector de captura electrónica ECD: El detector de captura de electrones es de respuesta selectiva, siendo muy sensible a las moléculas que contiene grupos funcionales electronegativas como: halógenos, peróxidos, quinonas y grupos nitro; y no es sensible a grupos funcionales como aminas, alcoholes e hidrocarburos. Una aplicación importante del detector de captura electrónica es en la detección y determinación de insecticidas clorados. Los detectores de captura de electrones son altamente sensibles y tienen la ventaja de no alterar la muestra. Una limitación del detector de captura electrónica es su sensibilidad baja.
- Detector específico de fósforo y nitrógeno N, P-FID: también conocido como detector termoiónico o detector de llama alcalina, se basa en la adición de una sal de metales alcalinos a la flama de un detector de ionización aumentando la respuesta de éste hacia determinados elementos

(fósforo, nitrógeno, azufre, etc.). Este tipo de detector es muy utilizado en el campo de medio ambiente, fundamentalmente para la determinación de residuos de plaguicidas, debido a su sensibilidad y especificidad. La selectividad es muy dependiente de parámetros como la temperatura, la forma y el tamaño de la llama, la composición de la sal alcalina, geometría del detector etc.; debido a estos parámetros el manejo de este detector es difícil, la estabilidad y la optimización de la respuesta es tediosa.

- Detector de flama fotométrica FPD: utiliza una llama de hidrógeno para excitar a un estado electrónico elevado a fragmentos de moléculas que contengan átomos de azufre o fósforo. Estos dos elementos son excitados de forma óptica por la llama de hidrógeno y cuando se retornan a su estado fundamental emiten las líneas características de sus espectros. La sensibilidad y selectividad de este tipo de detectores son variables, dependiendo de su diseño y las condiciones de trabajo.

Las características de un detector ideal son:

- Alta sensibilidad, que sea estable y tenga un amplio rango lineal.
- Tiempo de respuesta corto.
- Intervalos de temperatura de trabajo amplio.
- Respuesta selectiva.
- Poco sensible a cambios de caudal, presión y temperatura.
- Respuesta rápida a cambios de concentración (*Schomburg, 1990*).

1.1.3 Proceso cromatográfico

La teoría básica de separación cromatográfica se describe a continuación:

- La fase móvil fluye a lo largo de la columna cromatográfica en contacto con la fase estacionaria.
- La fase móvil fluye, arrastrando consigo los solutos.
- Los solutos se reparten entre ambas fases (fase estacionaria, fase móvil).
- Las moléculas de soluto en fase estacionaria se estancan.
- Las moléculas en fase móvil avanzan con ella.

- La velocidad del soluto varía inversamente con la afinidad por la fase estacionaria.
- Los componentes se separan y dejan la columna y entran al detector con diferentes retenciones de tiempo.

1.1.4 Aplicaciones de la cromatografía

1.1.4.1 Análisis cuantitativo

Para el análisis cuantitativo se determina integrando las áreas de cada compuesto o midiendo su altura y se obtiene la concentración de cada analito. Para la determinación de cantidad de analito la mejor medida es el área bajo la curva que se realiza mediante integradores y ordenadores modernos, es conveniente usar el método de estandarización interna debido a que la inyección tiene poca repetibilidad.

1.1.4.2 Análisis cualitativo

Para el análisis cualitativo se suele emplear el tiempo de retención o el volumen de retención que es único para cada compuesto. Es útil para la identificación de compuestos incógnita presentes en una muestra. La cromatografía de gases se puede aplicar en los siguientes campos:

- Análisis de alimentos: esteroides, ácidos grasos, alcoholes, terpenos, terpenoides, pesticidas, herbicidas, etc.
- Medioambiente: dioxinas, pesticidas, herbicidas, hidrocarburos, etc.
- Análisis farmacéuticos: principios activos, impurezas, disolventes residuales, etc.
- Industriales: disolventes residuales, migración de compuestos volátiles, etc.

1.2 Espectroscopía FT – IR

La espectroscopía FT–IR o infrarrojo con transformada de Fourier se basa en la absorción de la radiación infrarroja por las moléculas en vibración. La absorción

de luz infrarroja de energía o frecuencia apropiada excita a la molécula desde su estado fundamental hasta un estado excitado.

Una molécula absorberá energía cuando ésta sea igual a la necesaria para que se produzca un cambio vibracional de la molécula (cada molécula representa un espectro IR característico). Existen dos tipos fundamentales de vibraciones: de tensión y de flexión.

- Las vibraciones de tensión son cambios en la distancia interatómica a lo largo del eje del enlace entre dos átomos.
- Las vibraciones de flexión son cambios en el ángulo que forman dos enlaces.

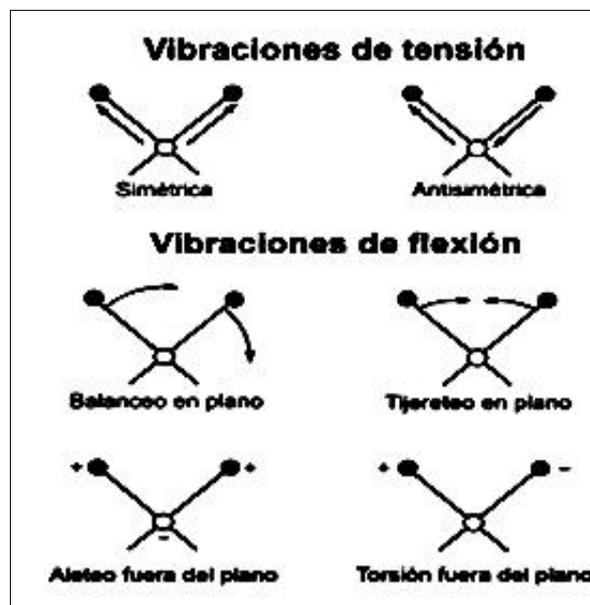


Figura 2: Vibraciones de las moléculas

Fuente: RUBINSON K, A. y RUBINSON J, F. Análisis Instrumental. (2000).

La información que puede proporcionar el infrarrojo con transformada de Fourier es la siguiente:

- Puede identificar materiales desconocidos.
- Se puede determinar la calidad o la consistencia de una muestra.
- Capaz de determinar la cantidad de componentes de una mezcla.

FT-IR es preferible por varias razones:

- Es una técnica no destructiva.
- Es un método de medición precisa.
- No requiere una calibración externa.
- Se puede aumentar la velocidad de un análisis cada segundo.
- Se puede aumentar la sensibilidad.
- Mayor rendimiento óptico.
- Es mecánicamente simple.
- Con algoritmos de software modernos la espectroscopía de infrarrojos es una excelente herramienta para el análisis cuantitativo.

1.2.1 Instrumentación y funcionamiento

En la siguiente figura se presenta las partes elementales de un infrarrojo con transformada de Fourier.

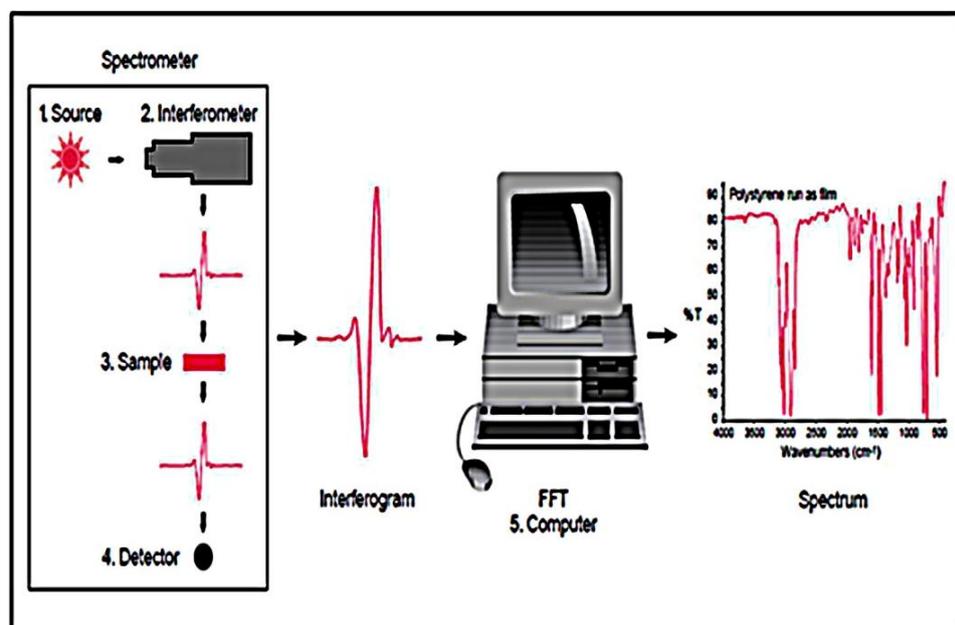


Figura 3: Proceso de análisis de las muestras

Fuente: Thermo Nicolet Corporation. (2001). Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry.

1.2.1.1 Fuente

La energía infrarroja es emitida por una fuente de cuerpo negro brillante. Este haz pasa a través de una abertura que controla la cantidad de energía presentada a la muestra (y, en última instancia, al detector); adaptable a los diferentes tipos de muestras.

1.2.1.2 Interferómetro

Es un instrumento que emplea la interferencia de las ondas de luz para medir con gran precisión longitudes de onda de la misma luz. El haz entra en el interferómetro de donde toma la "codificación espectral". La señal interferograma resultante sale del interferómetro.

1.2.1.3 Muestra

El haz entra en el compartimento de la muestra en el que se transmite a través de o reflejada fuera de la superficie de la muestra, dependiendo del tipo de análisis que se esté realizando. Es donde se absorben las frecuencias específicas de la energía, que es única y característica de la muestra.

1.2.1.4 Detector

El haz pasa finalmente al detector para la medición final. Los detectores utilizados están especialmente diseñados para medir la señal especial interferograma; proporciona un nivel de rendimiento superior en la inspección de materias primas y la identificación de materiales desconocidos

1.2.1.5 Equipo

La señal medida se digitaliza y se envía al equipo en el que la transformación de Fourier se lleva a cabo. La transformada de Fourier es básicamente el espectro de frecuencias de una función. El espectro infrarrojo se presenta a continuación al usuario para la interpretación.

1.3 Estandarización interna

En la cromatografía de gases, para la cuantificación de compuestos, existen diversas técnicas como la normalización de áreas, el método del patrón externo o el método del patrón interno. En las técnicas de cromatografía de gases, cuando se realiza un análisis, se obtiene un cromatograma. En un cromatograma se observa una serie de picos que corresponden a los analitos detectados. Cada pico sale a su tiempo de retención determinado y tiene una altura y áreas determinadas. A continuación se describirá el método utilizado en este proyecto.

La cuantificación por Estandarización Interna: consiste en obtener el cromatograma de la muestra estandarizada, o sea adicionada de una sustancia llamada estándar interno que deberá aparecer en un sitio del cromatograma, libre de traslapes y desde luego no deberá ser componente de la muestra, aunque es recomendable que sea de la misma naturaleza química y del mismo rango de concentración que el componente de la muestra por cuantificar (Metanol). Deberán obtenerse cromatogramas paralelos con soluciones de concentración conocida del componente por cuantificar (Metanol) y del estándar interno (por ejemplo Butanol o Hexanol) y trazar una curva de calibración que tenga por ordenadas la relación de concentraciones correspondientes al componente por cuantificar y al estándar interno (*Norma Mexicana NMX-V-021-1986*).

Esta curva servirá para situar en sus ordenadas la relación de áreas correspondientes al componente por cuantificar y al estándar interno del cromatograma de la muestra estandarizada y así ubicar la relación correspondiente de concentraciones (*Norma Mexicana NMX-V-021-1986*). Para la cuantificación de los analitos detectados se utilizó el área bajo la curva mediante un software moderno (Spectrum Viewer 2.6.3), obteniéndose la concentración de cada analito.

CAPÍTULO II

TOXICOLOGÍA DEL METANOL

Introducción

En este capítulo se abordará los temas de: el metanol y su utilización, la fisiopatología, la intoxicación por metanol, el rango de toxicidad de metanol permitido en humanos, el requisito de metanol para aguardiente de caña rectificado según la norma ecuatoriana. Además, incluye el diagnóstico y los métodos de tratamiento ante la toxicidad por metanol, los síntomas y signos de intoxicación por metanol en el sistema nervioso central, ocular y gastrointestinal.

2.1 Metanol

El metanol, (CH₃OH), a temperatura ambiente, es un líquido incoloro, volátil e inflamable, semejante en su olor y otras propiedades químicas al alcohol etílico. Utilizado industrialmente como disolvente y como materia prima en la obtención de formaldehído, ésteres metílicos de ácidos orgánicos e inorgánicos. También, se utiliza, como anticongelante en vehículos, disolvente de tintas, tintes, resinas y adhesivos.

2.2 Fisiopatología

El metanol es biotransformado en el hígado, oxidándose merced a la alcoholdehidrogenasa dando formaldehído, el cual es rápidamente convertido, por la aldehídedeshidrogenasa, en ácido fórmico. Éste último, mediante una oxidación dependiente del folato, se convertirá en anhídrido carbónico y agua. En la toxicocinética del metanol interesa fijarse en un detalle: el etanol tiene una afinidad por la alcoholdehidrogenasa unas 10-20 veces superior al metanol, de ahí su eficacia como antídoto (*ROLDÁN, J., FRAUCA, C. y DUEÑAS, A. 2003*).

2.3 La intoxicación por metanol

En el caso de bebidas alcohólicas la presencia de metanol puede ser por su uso fraudulento de esta sustancia como sustituto del etanol o por contaminación por una deficiencia en la fermentación y destilación. La intoxicación por metanol ocurre frecuentemente por vía digestiva y sus efectos dependen de la cantidad ingerida. El inicio de la sintomatología varía extraordinariamente, entre 40 minutos a 72 horas, aunque lo habitual suele ser que parezcan los síntomas en las primeras 12-24 horas.

Los síntomas y signos de la intoxicación por vía oral generalmente afectan al sistema nervioso central, tracto gastrointestinal, ojos y pueden agruparse en:

- Sistema nervioso central: en la intoxicación leve como moderada se produce cefalea, mareo, letargia, ataxia o un estado de embriaguez similar al de la intoxicación etílica. En la intoxicación grave pueden aparecer convulsiones, coma y edema cerebral.
- Ocular: en el sentido de la vista, puede existir la pérdida de la agudeza visual con edema de papila y alteraciones de los reflejos pupilares. Además, puede desarrollarse pérdida de visión y ceguera irreversible por atrofia del nervio óptico.
- Gastrointestinales: náuseas, vómitos y dolor abdominal. Además, puede presentarse pancreatitis aguda, con aumento de transaminasas y enzimas pancreáticas. Otras manifestaciones: en ocasiones se percibe un olor de la orina a formaldehído (ROLDÁN, J., FRAUCA, C. y DUEÑAS, A. 2003).

2.4 Diagnóstico

En todos los casos de sospecha de intoxicación o para valorarla, será necesario solicitar una analítica general, gasometría. También, solicitar niveles de etanol, para determinar si hubo coingesta. Hoy en día se puede hacer un diagnóstico rápido de la ingesta de metanol pura (sin asociar etanol) mediante kits comerciales basados en la detección de alcohol deshidrogenasa y alcohol oxidasa.

2.5 Tratamiento

El método más simple para frenar la metabolización del metanol es la administración del etanol, a este tratamiento se suma otros métodos clásicos como: corrección de la acidosis, hemodiálisis, lavado gástrico; se ha incorporado recientemente un nuevo antídoto, el fomepizol, que representa una opción diferente a la utilización del etanol. Ambos, antídotos tratan de evitar que el metanol se metabolice a través del alcohol deshidrogenasa.

2.6 Rango de toxicidad de metanol en humanos

La ingestión de 0,1 g metanol/kg peso corporal o más, debería ser considerada como grave, la ingestión de más de 1 g metanol/kg peso corporal es potencialmente letal (*Dirección General de Salud Pública de la Región de Murcia. 2007*).

2.7 Requisito de metanol para aguardiente de caña rectificado

En bebidas alcohólicas el requisito de metanol en aguardiente de caña rectificado en Ecuador es de 10 mg/100cc de alcohol anhidro como valor máximo permitido (*Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 362:92*); esta norma establece los requisitos que debe cumplir el aguardiente para ser considerado apto para el consumo.

CAPÍTULO III

MATERIALES Y MÉTODOS

Introducción

En el siguiente capítulo se describirá la metodología utilizada en el desarrollo del presente trabajo de investigación. Los métodos incluyen: la obtención de las muestras, la instrumentación y condiciones de trabajo en el cromatógrafo de gases y en el infrarrojo con transformada de Fourier, la preparación de los patrones y muestras por el método del patrón interno. Además se incluye la preparación de los patrones y muestras para la determinación en el infrarrojo y los materiales utilizados para cada método de análisis.

3.1 Obtención de las muestras

Para la obtención de las muestras de aguardiente de producción artesanal se visitó los siguientes cantones de la provincia del Azuay: Paute, Santa Isabel, Gualaceo y Girón; se tomó por cantón tres muestras y se guardó en refrigeración a una temperatura de 8°C hasta su posterior análisis que no excedió los 30 días.



Figura 4: Muestras refrigeradas de aguardiente artesanal a 8 °C

Fuente: Propia del autor

3.2 Condiciones de trabajo

Se desarrolló con las siguientes condiciones: en la preparación de patrones y en muestras se trabajó peso/peso, cuidadosamente en una balanza analítica con capacidad desde 1 mg hasta 101 g, tanto en cromatografía de gases como en infrarrojo con transformada de Fourier.

3.3 Determinación de metanol por cromatografía de gases

Se trabajó en un cromatógrafo de gases marca Carlo Erba Instruments de tipo Hrgc 5300, la instrumentación y las condiciones de trabajo se detallan a continuación.

- Columna cromatográfica de tipo capilar de sílice fundida de 25 m de longitud y de diámetro interior de 0.32 mm, con un espesor de la película de 0.2-0.25 μm y de fase estacionaria OV17. La temperatura inicial y máxima de trabajo fue de 51°C y 240°C respectivamente.
- Se utilizó el hidrógeno como gas transportador del analito con un split de 89.40mm y los gases nitrógeno y aire como parte del funcionamiento del equipo. Un detector de ionización de flama (FID) y un inyector de división para la introducción de las muestras.

Con una jeringa se tomó 3 μl de cada patrón y se inyectó en el cromatógrafo de gases por triplicado y 8 μl de cada muestra y se inyectó por duplicado en el cromatógrafo de gases. Los patrones y muestras fueron cuantificados con el método antes mencionado en el punto 1.3.



Figura 5: Cromatógrafo de gases

Fuente: Laboratorio Químico (Universidad del Azuay)

3.3.1 Equipos, materiales y reactivos

Se utilizaron los siguientes medios para cromatografía de gases:

Equipos

- Cromatógrafo de gas.
- Balanza analítica.

Materiales

- Jeringa de 10 microlitros.
- Pipetas de 100 y 1000 microlitros.
- Pipetas volumétricas de 1, 2, y 10 mililitros.
- Balones de aforo de 25 mililitros.
- Papel absorbente.

Reactivos

- Etanol, metanol y n-butanol.
- Agua destilada.

3.3.2 Preparación de los patrones por el método estándar interno

Los patrones para metanol por el método de estandarización interna se prepararon en balones de aforo de 25 mililitros, donde se adicionaron los μl correspondientes de metanol, posteriormente se agregaron 10 ml de etanol y 2 ml de n butanol y se aforaron con agua destilada (Tabla 1).

| % Patrón | Peso Balón de aforo (g) | Peso metanol (g) | Peso etanol (g) | Peso n butanol (g) | Peso Aforo con agua destilada (g) |
|-----------------|--------------------------------|-------------------------|------------------------|---------------------------|--|
| Blanco | 22,43169 | - | 30,46850 | 32,06772 | 46,32279 |
| 0.1 | 24,70954 | 24,73878 | 32,77466 | 34,38293 | 47,92496 |
| 0.01 | 56,18962 | 57,24450 | 65,27569 | 66,88712 | 120,24068 |
| 1 | 25,72913 | 26,04377 | 34,09637 | 35,70088 | 49,03927 |
| 2 | 25,35638 | 25,88251 | 33,92225 | 35,52915 | 48,43646 |
| 3 | 25,28101 | 26,02808 | 34,04627 | 35,65693 | 48,31964 |
| 4 | 25,56152 | 26,50960 | 34,54984 | 36,15214 | 48,51710 |
| 5 | 25,17491 | 26,53383 | 34,58594 | 36,20869 | 48,11080 |

Tabla 1: Preparación de patrones mediante el método del patrón interno



Figura 6: Patrones para metanol mediante el método del patrón interno

3.3.3 Preparación de las muestras por el método del patrón interno

Para la preparación de las muestras por el método de estándar interno se trabajó en balones de aforo de 25 mililitros, donde se adicionaron 2 μ l de n butanol y el aforo se realizó con la muestra (Tabla 2); cada uno de los procesos fue pesado cuidadosamente.

| Muestra | Peso balón de aforo (g) | Peso n butanol (g) | Peso aforo con muestra (g) |
|----------------|--------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| Paute 1 | 25,77520 | 27,38468 | 48,79896 |
| Paute 2 | 25,53766 | 27,14851 | 48,37383 |
| Paute 3 | 25,66850 | 27,28356 | 48,72132 |
| Santa Isabel 1 | 25,69836 | 27,31151 | 48,36276 |
| Santa Isabel 2 | 25,33017 | 26,94475 | 47,71451 |
| Santa Isabel 3 | 25,69392 | 27,31183 | 48,45146 |
| Girón 1 | 25,76259 | 27,37461 | 47,94421 |
| Girón 2 | 25,63555 | 27,24178 | 47,11016 |
| Girón 3 | 25,58565 | 27,19116 | 48,58663 |
| Gualaceo 1 | 25,71420 | 27,31957 | 48,60037 |
| Gualaceo 2 | 25,79214 | 27,39706 | 48,14881 |
| Gualaceo 3 | 25,38532 | 26,99274 | 48,30547 |
| Zhumir | 22,48157 | 24,08862 | 46,42611 |
| Cristal | 22,51582 | 24,13842 | 46,59223 |

Tabla 2: Preparación de muestras mediante el método del patrón interno



Figura 7: Muestras preparadas mediante el método del patrón interno

3.4 Determinación de etanol por FT - IR

Se trabajó con infrarrojo con transformada de Fourier para la determinación de etanol en las muestras, por la necesidad de expresar los resultados finales de etanol en cc de alcohol anhidro, según la norma NTE INEN 362 para bebidas alcohólicas de tipo aguardiente (mg/100cc de alcohol anhidro). Para la determinación de etanol en patrones y en muestras, se trabajó en un espectrofotómetro infrarrojo de marca Thermo Nicolet de modelo IR 100. Las condiciones de trabajo fueron las siguientes:

- Se trabajó con una frecuencia de inicio y final de 1800 y 780 respectivamente, ya que el rango intensidad de absorción para los alcoholes primarios C-O (en este caso el etanol) es de $1050 \pm 10\text{cm}^{-1}$ (Anexo 3).
- Para la medición de los patrones y de las muestras, se colocó directamente en la celda del espectrofotómetro, mediante una pipeta; seguidamente para la cuantificación de los espectros detectados se utilizó el área bajo la curva mediante un software (Spectrum Viewer 2.6.3).



Figura 8: Infrarrojo con transformada de Fourier
Fuente: Laboratorio Químico (Universidad del Azuay)

3.4.1 Equipos, materiales y reactivos

Para la medición de etanol en patrones y muestras por FT-IR se utilizaron los siguientes medios:

Equipos

- Infrarrojo con transformada de Fourier
- Balanza analítica

Materiales

- Pipetas volumétricas de 2, 5 y 10 mililitros
- Balones de aforo de 25 mililitros
- Papel absorbente

Reactivos

- Etanol
- Agua destilada

3.4.2 Preparación de los patrones para etanol

Los patrones para etanol se prepararon en balones de aforo de 25 mililitros, donde se adicionaron los μl correspondientes de etanol cuidadosamente y se aforaron con agua destilada, después de cada paso realizado se procedió a tomar los pesos correspondientes. (Tabla 3).

| % Patrón | Peso balón de aforo (g) | Peso etanol (g) | Peso aforo con agua destilada (g) |
|----------|-------------------------|-----------------|-----------------------------------|
| 20 | 25,73740 | 29,78777 | 50,08984 |
| 30 | 25,38104 | 31,29344 | 49,38376 |
| 40 | 25,59752 | 33,62835 | 49,24999 |
| 50 | 25,64596 | 35,58030 | 48,80058 |

Tabla 3: Preparación de patrones para etanol



Figura 9: Patrones para etanol

CAPÍTULO IV

RESULTADOS

Introducción

En el siguiente capítulo se describirán los resultados obtenidos del desarrollo de la curva de calibración para metanol, la cuantificación de metanol en muestras de aguardiente de producción artesanal; el desarrollo de la curva de calibración para etanol, la cuantificación de etanol en muestras de aguardiente. Además se presentará mediante gráficos los desarrollos de la curva de calibración y en tablas las concentraciones de metanol y etanol.

4.1 Desarrollo de la curva de calibración para metanol

Después de haber preparado los patrones por el método de estandarización interna, se procedió a trabajar en el cromatógrafo de gases con las condiciones de trabajo antes mencionada en el punto 3.2 y 1.3. En la siguiente tabla se muestran los resultados obtenidos durante el ensayo.

| X= % Metanol | Prueba | Á. Metanol | Á. n-butanol | Y= Á. metanol / Á. n-Butanol |
|-------------------------|---------------|-------------------|---------------------|-------------------------------------|
| 5 | 1 | 12,663 | 37 | 0,338791 |
| | 2 | 40,265 | 114,5 | 0,351659 |
| | 3 | 1,7398 | 5,5649 | 0,312638 |
| 4 | 1 | 2,3035 | 7,9532 | 0,289632 |
| | 2 | 1,1554 | 3,9535 | 0,292247 |
| | 3 | 2,6762 | 9,6416 | 0,277568 |
| 3 | 1 | 3,5404 | 19,608 | 0,180559 |
| | 2 | 3,0671 | 16,25 | 0,188745 |
| | 3 | 2,4276 | 11,372 | 0,213472 |
| 2 | 1 | 2,7625 | 19,567 | 0,141182 |
| | 2 | 2,1749 | 14,774 | 0,147211 |
| | 3 | 10,796 | 77,358 | 0,139559 |
| 1 | 1 | 3,2034 | 38,7 | 0,082775 |
| | 2 | 7,8359 | 110,19 | 0,071113 |
| | 3 | 1,0082 | 12,795 | 0,078796 |
| 0,1 | 1 | 1,0351 | 124,32 | 0,008326 |
| | 2 | 0,41345 | 46,737 | 0,008846 |
| | 3 | 1,1041 | 129,09 | 0,008553 |
| 0,01 | 1 | 0,13072 | 55,726 | 0,002346 |
| | 2 | 0,2539 | 71,504 | 0,003551 |
| | 3 | 0,12165 | 30,769 | 0,003954 |
| Blanco | 1 | 0,014926 | 79,96 | 0,000187 |
| | 2 | 0,014086 | 1124,88 | 0,000013 |
| | 3 | 0,0040101 | 253,352 | 0,000016 |

Tabla 4: Áreas de patrones

Para el desarrollo de la curva de calibración, se construyó una matriz de datos ya promediados, en base a la relación entre áreas del metanol sobre n butanol registradas de las diferentes concentraciones (0, 0.01, 0.1, 1, 2, 3, 4, 5 %) de metanol. La relación entre las concentraciones y las áreas se reportan a continuación.

| X= % Metanol | Y = Á. metanol / Á. n-Butanol |
|---------------------|--------------------------------------|
| 0 | 0,00007167 |
| 0,01 | 0,00328342 |
| 0,1 | 0,00857512 |
| 1 | 0,07756141 |
| 2 | 0,14265061 |
| 3 | 0,19425842 |
| 4 | 0,28648242 |
| 5 | 0,33436292 |

Tabla 5: Resultados de la curva de calibración para metanol

En la obtención de la curva de calibración para metanol se manejó un programa estadístico llamado Cal Tode, los resultados obtenidos en la tabla 4 fueron procesados mediante esta herramienta, para mejorar y asegurar la confiabilidad de los datos, obteniendo la siguiente tabla como resultado final:

| Level | X | Y | Ycalc |
|-------|--------|-----------|-----------|
| 1 | 0,0000 | 0 | 1,458E-03 |
| 1 | 0,0000 | 0 | 1,458E-03 |
| 2 | 0,0100 | 0,0023458 | 2,164E-03 |
| 2 | 0,0100 | 0,0035509 | 2,164E-03 |
| 2 | 0,0100 | 0,0039537 | 2,164E-03 |
| 3 | 0,1000 | 0,0083261 | 8,517E-03 |
| 3 | 0,1000 | 0,0088463 | 8,517E-03 |
| 3 | 0,1000 | 0,0085529 | 8,517E-03 |
| 4 | 1,0000 | 0,0711126 | 7,204E-02 |
| 5 | 2,0000 | 0,1411816 | 1,426E-01 |
| 5 | 2,0000 | 0,1472113 | 1,426E-01 |
| 5 | 2,0000 | 0,1395589 | 1,426E-01 |
| 6 | 3,0000 | 0,2134717 | 2,132E-01 |

Tabla 6: Área de patrones mediante Cal Tode

En la siguiente figura se muestra la gráfica resultante de la curva de calibración manejado mediante este software (Cal Tode).

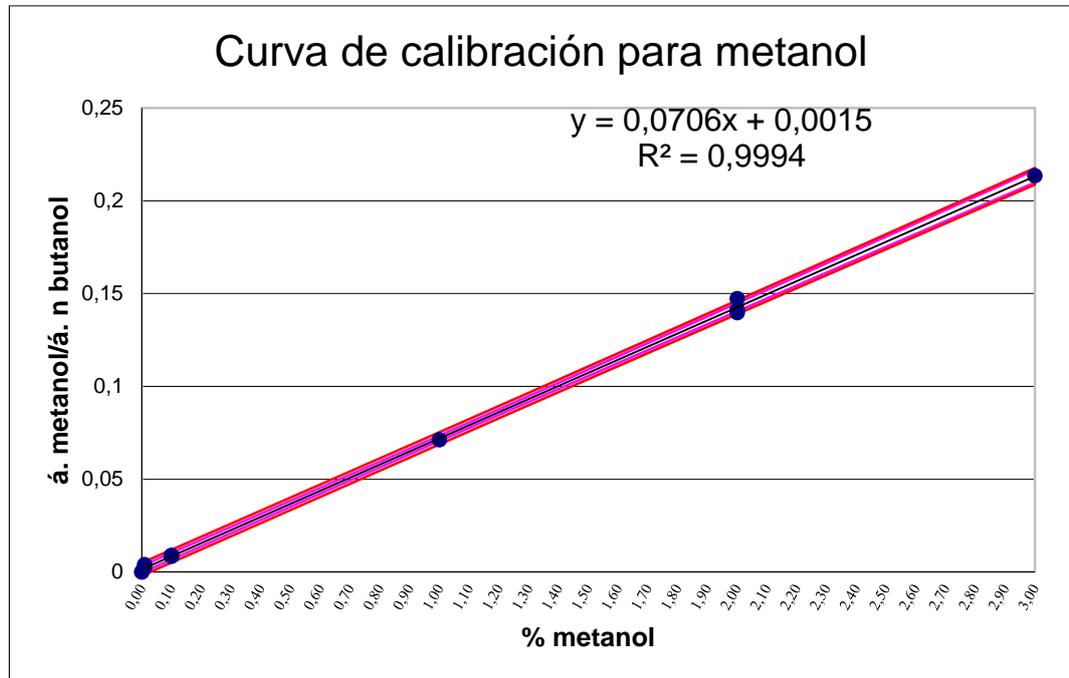


Figura 10: Curva de calibración para metanol

4.1.1 Cuantificación de metanol en muestras

Para la cuantificación de metanol, después de haber preparado las muestras, se procedió a trabajar en el cromatógrafo de gases con las condiciones de trabajo antes mencionada en el punto 3.2 y 1.3. En la siguiente tabla se muestran las áreas obtenidas durante el ensayo.

| Muestra | Prueba | Á. metanol | Á n-Butanol | Y= Á. metanol/ Á n-Butanol |
|----------------|---------------|-------------------|--------------------|-----------------------------------|
| Paute 1 | 1 | 0,039682 | 127,968 | 0,000310 |
| Paute 1 | 2 | 0,061016 | 1632,8 | 0,000037 |
| Paute 2 | 1 | 0,020108 | 2814,72 | 0,000007 |
| Paute 2 | 2 | 0,005252 | 612,648 | 0,000009 |
| Paute 3 | 1 | 0,11825 | 1311,28 | 0,000090 |
| Paute 3 | 2 | 0,061001 | 757,616 | 0,000081 |
| Santa Isabel 1 | 1 | 0,050298 | 327,024 | 0,000154 |
| Santa Isabel 1 | 2 | 0,065749 | 239,092 | 0,000275 |
| Santa Isabel 2 | 1 | 0,25248 | 339,6 | 0,000743 |
| Santa Isabel 2 | 2 | 0,29229 | 372,304 | 0,000785 |
| Santa Isabel 3 | 1 | 1,288 | 2186,84 | 0,000589 |
| Santa Isabel 3 | 2 | 0,22814 | 422,64 | 0,000540 |
| Gualaceo 1 | 1 | 0,22483 | 2226,36 | 0,000101 |
| Gualaceo 1 | 2 | 0,32976 | 2868,68 | 0,000115 |
| Gualaceo 2 | 1 | 0,39918 | 2845,92 | 0,000140 |
| Gualaceo 2 | 2 | 0,1716 | 769,232 | 0,000223 |
| Gualaceo 3 | 1 | 0,010382 | 2553,76 | 0,000004 |
| Gualaceo 3 | 2 | 0,010163 | 2834,72 | 0,000004 |
| Girón 1 | 1 | 0,065863 | 1966,96 | 0,000033 |
| Girón 1 | 2 | 0,015543 | 490,448 | 0,000032 |
| Girón 2 | 1 | 0,24598 | 359,104 | 0,000685 |
| Girón 2 | 2 | 1,2679 | 2063,28 | 0,000615 |
| Girón 3 | 1 | 0,63729 | 3071,52 | 0,000207 |
| Girón 3 | 2 | 0,28046 | 1487,36 | 0,000189 |
| Zhumir | 1 | 0,047652 | 706,488 | 0,000067 |
| Zhumir | 2 | 0,18744 | 2405,92 | 0,000078 |
| Cristal | 1 | 0,026495 | 1233,84 | 0,000021 |
| Cristal | 2 | 0,023704 | 996,96 | 0,000024 |

Tabla 7: Áreas de muestras

Para la cuantificación de metanol en las muestras por cromatografía de gases, se construyó una matriz de datos, en base a la ecuación obtenida en la curva de calibración (Figura 10). Los resultados se indican a continuación, representado en porcentaje.

| Muestras | Y | X | X corregido | Promedio (%) |
|-----------------|----------|------------|--------------------|---------------------|
| Paute 1 | 0,00031 | -0,0162615 | 0,004193 | 0,002261 |
| Paute 1 | 3,74E-05 | -0,0201252 | 0,000329 | |
| Paute 2 | 7,14E-06 | -0,0205534 | -0,000099 | -0,000089 |
| Paute 2 | 8,57E-06 | -0,0205331 | -0,000079 | |
| Paute 3 | 9,02E-05 | -0,019377 | 0,001077 | 0,001009 |
| Paute 3 | 8,05E-05 | -0,0195139 | 0,000940 | |
| Santa Isabel 1 | 0,000154 | -0,0184756 | 0,001978 | 0,002837 |
| Santa Isabel 1 | 0,000275 | -0,0167587 | 0,003695 | |
| Santa Isabel 2 | 0,000743 | -0,0101219 | 0,010332 | 0,010627 |
| Santa Isabel 2 | 0,000785 | -0,0095323 | 0,010922 | |
| Santa Isabel 3 | 0,000589 | -0,0123105 | 0,008144 | 0,007795 |
| Santa Isabel 3 | 0,00054 | -0,0130073 | 0,007447 | |
| Gualaceo1 | 0,000101 | -0,0192239 | 0,001230 | 0,001329 |
| Gualaceo1 | 0,000115 | -0,0190261 | 0,001428 | |
| Gualaceo2 | 0,00014 | -0,0186675 | 0,001787 | 0,002373 |
| Gualaceo2 | 0,000223 | -0,0174942 | 0,002960 | |
| Gualaceo3 | 4,07E-06 | -0,020597 | -0,000143 | -0,000146 |
| Gualaceo3 | 3,59E-06 | -0,0206038 | -0,000150 | |
| Girón1 | 3,35E-05 | -0,0201802 | 0,000274 | 0,000261 |
| Girón1 | 3,17E-05 | -0,0202056 | 0,000249 | |
| Girón2 | 0,000685 | -0,0109504 | 0,009504 | 0,009004 |
| Girón2 | 0,000615 | -0,0119488 | 0,008505 | |
| Girón3 | 0,000207 | -0,0177152 | 0,002739 | 0,002605 |
| Girón3 | 0,000189 | -0,0179832 | 0,002471 | |
| Zhumir | 6,74E-05 | -0,019699 | 0,000755 | 0,000829 |
| Zhumir | 7,79E-05 | -0,0195509 | 0,000903 | |
| Cristal | 2,15E-05 | -0,0203504 | 0,000104 | 0,000120 |
| Cristal | 2,38E-05 | -0,0203177 | 0,000136 | |

Tabla 8: Concentración de metanol en muestras

En la tabla 8 (Concentración de metanol en muestras) nos muestra una columna (x calculado corregido), esta operación se realizó porque se corrigió el blanco por la existencia de trazas de metanol en etanol; restando cada valor resultante de las muestras con el valor promediado del blanco.

4.2 Desarrollo de la curva de calibración para etanol

Para el desarrollo de la curva de calibración de etanol, se procedió a trabajar en el Infrarrojo con transformada de Fourier con las condiciones de trabajo antes mencionado en el punto 3.3. Se construyó una matriz de datos en base a las

lecturas de las áreas de los espectros registradas a diferentes concentraciones (0, 20, 30, 40, 50 %) de etanol. La relación entre las concentraciones y las áreas de los espectros se muestran a continuación.

| X= % Etanol | Y= Área etanol |
|-------------|----------------|
| 0 | 2,095 |
| 20 | 8,9 |
| 30 | 13,326 |
| 40 | 18,511 |
| 50 | 24,066 |

Tabla 9: Resultados de la curva de calibración para etanol

En la siguiente figura se muestra la gráfica resultante de la curva de calibración.

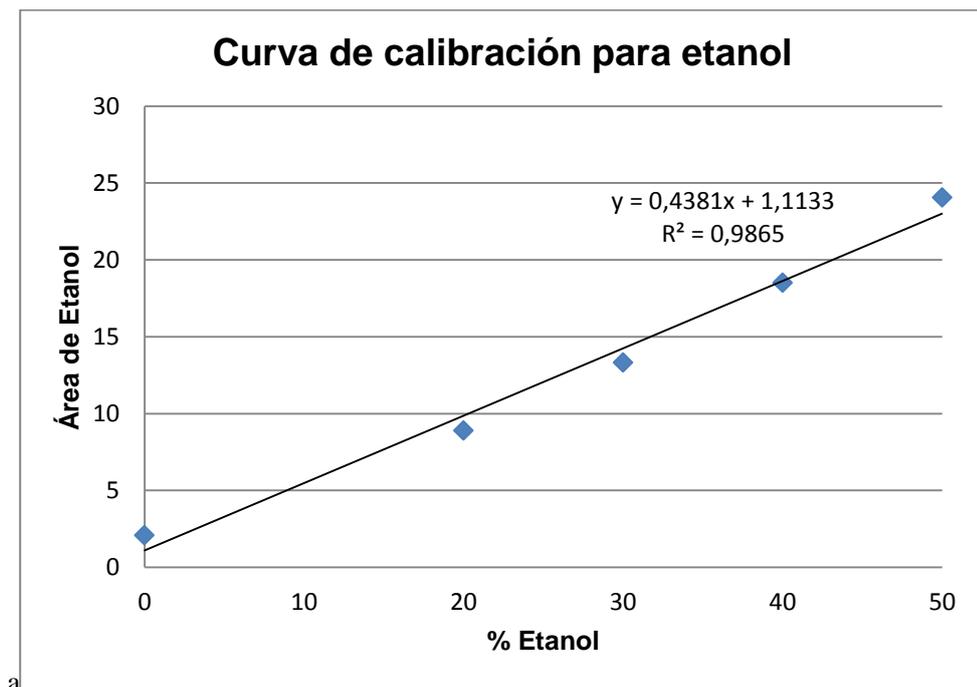


Figura 11: Curva de calibración para etanol

4.2.1 Cuantificación de etanol en muestras

Para la cuantificación de etanol en las muestras (aguardiente de producción artesanal), se construyó una matriz de datos en base a la ecuación obtenida en la curva de calibración (Figura 11). Las muestras fueron preparadas de acuerdo a la técnica detallada en el punto 3.3. Los resultados se muestran a continuación.

| Muestras | Á. etanol (y) | (y-b) | % $x=(y-b)/(m)$ |
|----------------|---------------|-------|-----------------|
| Paute 1 | 32,30 | 31,19 | 71,19 |
| Paute 2 | 32,38 | 31,27 | 71,38 |
| Paute 3 | 32,16 | 31,04 | 70,86 |
| Santa Isabel 1 | 32,15 | 31,03 | 70,84 |
| Santa Isabel 2 | 32,10 | 30,99 | 70,73 |
| Santa Isabel 3 | 32,23 | 31,11 | 71,02 |
| Gualaceo 1 | 22,45 | 21,33 | 48,70 |
| Gualaceo 2 | 22,38 | 21,27 | 48,55 |
| Gualaceo 3 | 22,31 | 21,20 | 48,38 |
| Girón 1 | 22,50 | 21,38 | 48,81 |
| Girón 2 | 32,06 | 30,95 | 70,65 |
| Girón 3 | 22,39 | 21,28 | 48,56 |
| Zhumir | 19,91 | 18,79 | 42,90 |
| Cristal | 21,38 | 20,26 | 46,25 |

Tabla 10: Concentración de etanol en muestras

4.3 Concentración final de metanol en muestras

Después de haber obtenido los porcentajes de concentración de metanol y los porcentajes de concentración de etanol, se promedió y se procedió a construir una matriz de datos para la concentración total de metanol en cada una de las muestras. En la tabla 11 se muestran los datos de concentración total obtenidos y expresados en mg/100cc de alcohol anhidro.

| Muestras | % Etanol | % Metanol | mg/100cc alcohol anhidro |
|-----------------|-----------------|------------------|---------------------------------|
| Paute 1 | 71,19 | 0,0023 | 3,52 |
| Paute 2 | 71,38 | -0,0001 | -0,14 |
| Paute 3 | 70,86 | 0,0010 | 1,59 |
| Santa Isabel 1 | 70,84 | 0,0028 | 4,46 |
| Santa Isabel 2 | 70,73 | 0,0106 | 16,76 |
| Santa Isabel 3 | 71,02 | 0,0078 | 12,20 |
| Gualaceo 1 | 48,70 | 0,0013 | 4,42 |
| Gualaceo 2 | 48,55 | 0,0024 | 7,94 |
| Gualaceo 3 | 48,38 | -0,0001 | -0,49 |
| Girón 1 | 48,81 | 0,0003 | 0,86 |
| Girón 2 | 70,65 | 0,0090 | 14,23 |
| Girón 3 | 48,56 | 0,0026 | 8,71 |
| Zhumir | 42,90 | 0,0008 | 3,55 |
| Cristal | 46,25 | 0,0001 | 0,44 |

Tabla 11: Concentración final de metanol en muestras

Una vez analizado los resultados (Tabla 11) se expresó el metanol en mg sobre 100 cc de alcohol anhidro. Donde las muestras que presenta una mayor concentración de metanol son Santa Isabel 2, 3 y Girón 2. Las muestras que no poseen metanol es Paute 2 y Gualaceo 3 y el resto de muestras están por debajo del límite máximo de la norma.

CAPÍTULO V

DISCUSIÓN

Introducción

En este capítulo se discutirá los términos de mayor importancia referentes a este trabajo de investigación, planteando una breve discusión sobre el trabajo realizado, incluyendo un estudio realizado por el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical Leopoldo Izquieta Pérez – INH.

5.1 Discusión

El límite máximo permitido de metanol en aguardiente de caña rectificado ecuatoriano es de 10 mg/100cc de alcohol anhidro (0.01%). Aunque nueve de las catorce muestras de aguardiente artesanal y de marca existe la presencia de metanol, estas no superan el valor máximo permitido, incluso estos valores no sobrepasan las normativas de otros países para bebidas alcohólicas de tipo aguardiente, como la normativa mexicana que es de 300 mg/100cc (0.3%) (NORMA MEXICANA. NOM-142-SSA1-1995). Se encontró metanol fuera del límite permitido en tres de catorce muestras con valores de 16,76; 12,20 y 14,23 mg / 100 cc de alcohol anhídrido, muestras procedentes de Santa Isabel 2, 3 y Girón 2 respectivamente. Además las muestras de Paute 2 y Gualaceo 3 no poseían metanol.

Cabe destacar que de acuerdo a los estudios realizados por el Instituto Nacional de Higiene y Medicina Tropical Leopoldo Izquieta Pérez – INH, se determinó la presencia de metanol en altas concentraciones, tanto en muestras biológicas de pacientes como muestras de productos incautados. Las muestras positivas han mostrado valores superiores a 10mg/100ml de alcohol anhidro, incluso el valor

más alto encontrado fue de 611.3 mg/100ml de alcohol anhídrido; las muestras analizadas fueron remitidas a nivel nacional.

Se requieren más estudios de los componentes de las bebidas alcohólicas de tipo aguardiente de producción artesanal para asegurar la inocuidad en cuanto a niveles tóxicos de otros compuestos y no solo de metanol, garantizando un producto seguro para el consumo.

El presente trabajo de investigación tuvo como fin la determinación de metanol en bebidas alcohólicas de tipo aguardiente de producción artesanal en los cantones de Paute, Gualaceo, Girón y Santa Isabel; lugares productores y populares de mayor consumo en la provincia del Azuay, se necesitaría realizar más estudios a nivel nacional y realizar un seguimiento en el proceso de manufacturación, así como del control de calidad.

CONCLUSIONES

El desarrollo de la presente investigación sobre la determinación de metanol en aguardiente de producción artesanal en la provincia del Azuay por el método de cromatografía de gases, condujo a las siguientes conclusiones:

- En la determinación de metanol en bebidas alcohólicas de tipo aguardiente de producción artesanal se demostró que nueve de las catorce muestras analizadas no superan el valor máximo permitido según la norma NTE INEN 362:92, cumpliendo en su totalidad con la legislación que rige en Ecuador.
- Se encontró metanol fuera del límite permitido en tres de catorce muestras con valores de 16,76; 12,20 y 14,23 mg / 100 cc de alcohol anhidrido, muestras procedentes de Santa Isabel 2, 3 y Girón 2 respectivamente. Además las muestras de Paute 2 y Gualaceo 3 no poseían metanol.
- Para un consumo seguro de este tipo de bebidas alcohólicas en nuestro país se necesita una mayor responsabilidad del productor y las autoridades de control, pues la falta de control y seguimiento, hacen que el producto no sea seguro y ponga en riesgo la salud del consumidor.
- En los lugares de recolección de muestras, las bebidas se expenden en envases reciclados sin un previo tratamiento, convirtiéndose en un producto inseguro para el consumo por la contaminación que puede poseer el envase.
- En cuanto a las condiciones de producción, la mayoría de productores no aplican las buenas prácticas de manufacturación y son distribuidas sin habérselos realizado un control de calidad riguroso, por lo tanto el no garantiza la calidad es estos productos.

BIBLIOGRAFÍA

Referencias bibliográficas

- BARQUEROS QUIRÓS, Miriam. *Principios y Aplicaciones de la Cromatografía de gases*. Primera edición. Costa Rica: Editorial San José, 2006. 57p.
- HARRIS, Daniel. *Análisis Químico Cuantitativo*. Tercera edición. España: Editorial Reverté, 2003. 487p.
- INSTITUTO ECUATORIANO DE NORMALIZACIÓN. *Bebidas Alcohólicas. Aguardiente de Caña Rectificado. Requisitos*. Cuarta revisión. NTE INEN 362:92.
- MAIOCCHI, Alessandro. and TODESCHINI, Roberto. *Calibration of Laboratory Analyses by Statistics. Cal Tode*. Dept. Environmental Sciences, University of Milano-Bicocca, Milano (Italy)
- MENTASTI, E. and SAINI, G. *Analisi Chimica Cromatografica*. Padova: Piccin Libreria S.p.A, 1990. 423p.
- NORMA MEXICANA. *Bebidas Alcohólicas Destiladas. Determinación de Metanol*. Dirección General. NMX-V-021-1986.

- NORMA MEXICANA. Bienes y servicios. *Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial.* NOM-142-SSA1-1995.
- PARÉ, JRJ. And BÉLANGER, JMR. *Instrumental Methods In FOOD Analysis.* Vol 18. Canadá: Editorial Elsevier, 1997. 487p.
- PECSOK, Robert L. and HIELDS, Donald L. *Métodos Modernos de Análisis Químicos.* México, DF: Editorial Limusa, 1987. 487p.
- SCHOMBURG, Gerhard. *Gas Chromatography A Practical Course.* VCH. New York, 1990. 320p.

Referencias electrónicas

- DIRECCIÓN GENERAL DE SALUD PÚBLICA DE LA REGIÓN DE MURCIA. *Riesgo químico. Accidentes graves metanol.* 2007, [citado mayo 2013]. Disponible en internet:
<http://www.murciasalud.es/recursos/ficheros/99967-Metanol.pdf>
- FERNÁNDEZ SEGOVIA, Isabel. and GARCÍA MARTÍNEZ, Eva. *Cuantificación de compuestos por cromatografía, Método del Patrón Interno.* 2012, [citado abril 2013]. Disponible en internet:
<http://riunet.upv.es/bitstream/handle/10251/16356/M%C3%A9todo%20Patr%C3%B3n%20Interno.pdf?sequence=2>
- METHANEX. *Ficha de datos de seguridad. Metanol.* 2001, [citado mayo 2013]. Disponible en internet:
http://www.methanex.com/products/documents/MSDS_EUespanol.pdf

- MI SALUD. *Los niveles tóxicos de metanol en el alcohol. Ecuador. 2010*, [citado mayo 2013]. Disponible en internet: http://instituciones.msp.gob.ec/misalud/index.php?option=com_content&view=article&id=91:los-niveles-toxicos-de-metanol-en-el-alcohol&catid=52:edusalud&Itemid=244
- MORÁN, I. MARTÍNEZ, J. SANT, L. and NOGUÉ, S. *Toxicología clínica. 2011*, [citado mayo 2013]. Disponible en internet: http://www.fetoc.es/asistencia/Toxicologia_clinica_libro.pdf. ISBN-13: 978-84-95545-52-7.
- NOGUÉ Santiago, *Intoxicaciones agudas. Protocolos de tratamiento. Barcelona. 2004*, [citado mayo 2013]. Disponible en internet: <http://www.scfarmclin.org/docs/toxicologia/protocols.pdf>
- ROLDÁN, J. FRAUCA, C. and DUEÑAS, A. *Intoxicación por alcoholes. Vol. 26, suplemento 1. 2003*, [citado mayo 2013]. Disponible en internet: <http://www.cfnavarra.es/salud/anales/textos/vol26/sup1/suple7a.html>.
- THERMO NICOLET CORPORATION. *Introduction to Fourier Transform Infrared Spectrometry. 2001*, [citado junio 2013]. Disponible en internet: <http://mmrc.caltech.edu/FTIR/FTIRintro.pdf>
- UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA. *Guía de cromatografía. Caracas. 2008*, [citado abril 2013]. Disponible en internet: <http://www.ciens.ucv.ve:8080/generador/sites/LIApregrado/archivos/Guia%20para%20cromatografia.pdf>

ANEXOS

- Anexo 1

Norma Técnica Ecuatoriana NTE INEN 362:92. Bebidas Alcohólicas. Aguardiente de Caña Rectificado. Requisitos. Cuarta revisión.

1. OBJETO

1.1 Esta norma establece los requisitos que debe cumplir el aguardiente de caña rectificado, para ser considerado apto para el consumo humano.

2. DEFINICIONES

2.1 Aguardiente de caña rectificado. Es el producto obtenido mediante la fermentación alcohólica y destilación de jugos y otros derivados de la caña de azúcar, sometido a rectificación, de modo que conserve sus características organolépticas. También podrá denominarse "Aguardiente" o "Aguardiente de caña".

3. REQUISITOS

3.1 Debe ser transparente, incoloro o ambarino, con olor y sabor característicos del aguardiente de caña rectificado.

3.2 No se permite la adición de edulcorantes artificiales, colorantes diferentes al caramelo de sacarosa, esencias naturales o artificiales que modifiquen sus características organolépticas, ni bonificadores artificiales.

3.3 Debe cumplir con los requisitos establecidos en la tabla 1.

Tabla 1. Requisitos del aguardiente de caña rectificado.

| REQUISITOS | UNIDAD | MINÍMIMO | MÁXIMO | MÉTODO DE ENSAYO |
|----------------------------------|---------------|-----------------|---------------|-------------------------|
| Grado alcohólico a 15° C | °GL | | | INEN 340 |
| a) a nivel de productor | | 85 | - | |
| a) a nivel de consumidor | | 30 | 50 | |
| Acidez total, como ácido acético | * | - | 40 | INEN 340 |
| Esteres, como acetato de etilo | * | - | 80 | INEN 340 |
| Aldehídos, como etanal | * | - | 20 | INEN 340 |
| Furfural | * | - | 1.5 | INEN 340 |
| Alcoholes superiores | * | - | 150 | INEN 340 |
| Metanol | * | - | 10 | INEN 340 |
| Congéneres | * | 18 | 250 | |

* **mg/100 cc de alcohol anhidro.**

3.4 El agua utilizada para hidratar el producto hasta los niveles establecidos en la tabla 1 debe ser potable, según Norma INEN 1108. También podrá ser destilada, desionizada o desmineralizada.

4. INSPECCIÓN

4.1 El muestreo debe realizarse de acuerdo a la Norma INEN 339

5. ENVASADO Y ROTULADO

5.1 El aguardiente, para consumo final, debe envasarse cumpliendo los requisitos establecidos en la Norma correspondiente, de tal forma que se garantice su calidad e inviolabilidad.

5.2 El aguardiente, como producto de consumo final, debe tener impreso, con caracteres legibles e indelebles en el panel principal de la etiqueta, la denominación "Aguardiente", "Aguardiente de caña" o "Aguardiente de caña rectificado", Indistintamente, además de todos los requisitos estipulados en la Norma INEN 1 933.

5.3 El envasado y comercialización del aguardiente de caña rectificado, para consumo final, se someterá a las Normas y Regulaciones dictadas por el INEN y las leyes pertinentes.

APÉNDICE Z

Z.1 DOCUMENTOS NORMATIVOS A CONSULTAR

INEN 339 Bebidas alcohólicas. Muestreo.

INEN 340 Bebidas alcohólicas. Determinación del grado alcohólico.

INEN 341 Bebidas alcohólicas. Determinación de la acidez.

INEN 342 Bebidas alcohólicas. Determinación de ésteres.

INEN 343 Bebidas alcohólicas. Determinación de aldehídos.

INEN 344 Bebidas alcohólicas. Determinación de furfural.

INEN 345 Bebidas alcohólicas. Determinación de alcoholes superiores.

INEN 337 Bebidas alcohólicas. Determinación de metanol

INEN 1108 Agua potable. Requisitos.

INEN 1933 Bebidas alcohólicas. Rotulado. Requisitos.

Z.2 BASES DE ESTUDIO

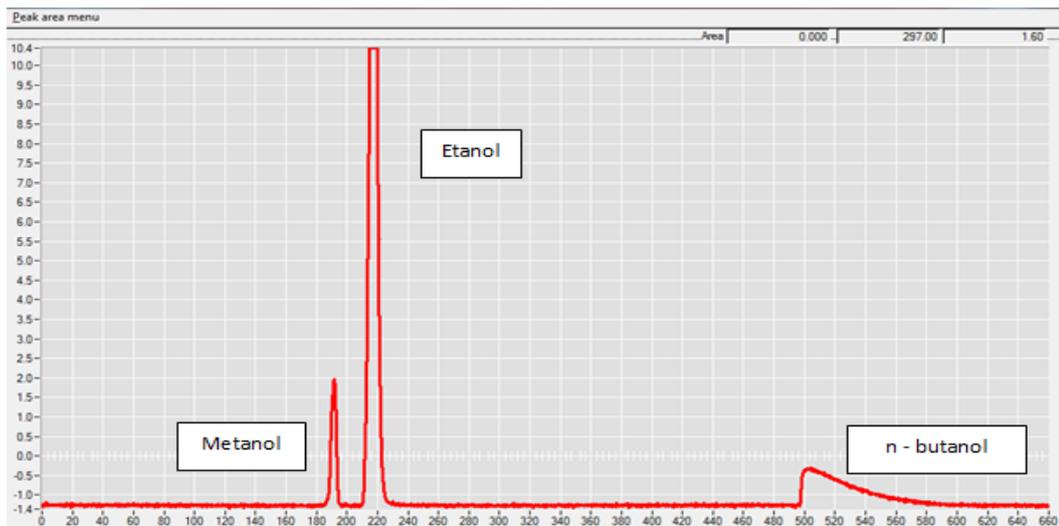
Norma Cubana 83-0. Aguardiente. Especificaciones de calidad. Comité Estatal de Normalización. La Habana, 1984.

Norma ICONTEC 410. Bebidas alcohólicas. Aguardiente de caña. Primera revisión. Instituto Colombiano de Normas Técnicas. Bogotá, 1976.

Código Latinoamericano de Alimentos. Bebidas alcohólicas y licores. Segunda edición. Buenos Aires, 1964

- Anexo 2

Cromatograma: Medición bajo el área (Spectrum Viewer)



- Anexo 3

Tabla de correlaciones en espectroscopia infrarroja

| Enlace | Tipo de enlace | Tipo específico de enlace | Rango e intensidad de absorción | |
|--------|---------------------------|----------------------------|--|-------------------------------|
| C-H | alquilo | Metilo | 1380 cm ⁻¹ (débil), 1460 cm ⁻¹ (fuerte) y 2870, 2960 cm ⁻¹ (ambos, de fuerte a medio) | |
| | | metileno | 1470 cm ⁻¹ (fuerte) y 2850, 2925 cm ⁻¹ (ambos, de fuerte a medio) | |
| | | metino | 2890 cm ⁻¹ (débil) | |
| | vinilo | C=CH ₂ | 900 cm ⁻¹ (fuerte) y 2975, 3080 cm ⁻¹ (medio) | |
| | | C=CH | 3020 cm ⁻¹ (medio) | |
| | | alqueno monosustituido | 900, 990 cm ⁻¹ (ambos fuerte) | |
| | | alqueno cis-disustituido | 670-700 cm ⁻¹ (fuerte) | |
| | | alqueno trans-disustituido | 965 cm ⁻¹ (fuerte) | |
| | | alqueno trisustituido | 800-840 cm ⁻¹ (fuerte a medio) | |
| | | aromático | benceno/benceno sustituido | 3070 cm ⁻¹ (débil) |
| | benceno monosustituido | | 700-750 cm ⁻¹ (fuerte) y 700±10 cm ⁻¹ (fuerte) | |
| | benceno orto-disustituido | | 750 cm ⁻¹ (fuerte) | |
| | benceno meta-disustituido | | 750-800 cm ⁻¹ (fuerte) y 860-900 cm ⁻¹ (fuerte) | |
| | benceno para-disustituido | | 800-860 cm ⁻¹ (fuerte) | |
| | alquino | | 3300 cm ⁻¹ (medio) | |
| | aldehído | | 2720, 2820 cm ⁻¹ (medio) | |
| | C=C | C=C acíclico | alqueno monosustituido | 1645 cm ⁻¹ (medio) |
| | | | alqueno 1,1-disustituido | 1655 cm ⁻¹ (medio) |
| | | | alqueno cis-1,2-disustituido | 1660 cm ⁻¹ (medio) |

| | | | |
|------------|--------------------------------|---|--|
| | | alqueno trans-1,2-disustituido | 1675 cm ⁻¹ (medio) |
| | | alqueno tri y tetrasustituido | 1670 cm ⁻¹ (débil) |
| | C=C conjugado | Dienos | 1600, 1650 cm ⁻¹ (fuerte) |
| | | con anillo de benceno | 1625 cm ⁻¹ (fuerte) |
| | | con C=O | 1600 cm ⁻¹ (fuerte) |
| | C=C aromático | | 1450, 1500, 1580, 1600 cm ⁻¹ (fuerte a débil) - siempre los 4 |
| | C≡C | alquino terminal | 2100-2140 cm ⁻¹ (débil) |
| | | alquino disustituido | 2190-2260 cm ⁻¹ (muy débil, a veces no visible) |
| C=O | cetona/aldehído | alifáticos saturados/ciclos de 6 miembros | 1720 cm ⁻¹ |
| | | α,β-insaturado | 1685 cm ⁻¹ (también va para cetonas aromáticas) |
| | | ciclo de 5 miembros | 1750 cm ⁻¹ |
| | | ciclo de 4 miembros | 1775 cm ⁻¹ |
| | | aldehído | 1725 cm ⁻¹ (influencia de la conjugación como en las cetonas) |
| | derivados de ácido carboxílico | ácido carboxílico saturado | 1710 cm ⁻¹ |
| | | ácido carboxílico insaturado/aromático | 1680-1690 cm ⁻¹ |
| | | ésteres y lactonas | 1735 cm ⁻¹ (influencia de la conjugación y el tamaño del anillo como en las cetonas) |
| | | anhídridos | 1760 y 1820 cm ⁻¹ (ambos) |
| | | halogenuros | 1800 cm ⁻¹ |
| | | amidas | 1650 cm ⁻¹ (amidas asociadas) |
| | | sales de carboxilatos | 1550-1610 cm ⁻¹ (también va para zwitteriones aminoácidos) |
| O-H | alcoholes, fenoles | | 3610-3670 cm ⁻¹ (la concentración de la muestra ensancha la absorción y la mueve a 3200-3400 cm ⁻¹) |
| | ácidos carboxílicos | | 3500-3560 cm ⁻¹ (la concentración de la muestra ensancha la absorción y la mueve a 3000 cm ⁻¹) |
| N-H | aminas primarias | | doblete entre 3400-3500 cm ⁻¹ y 1560- |

| | | | |
|--------------------------------|------------------------------|-----------------|---|
| | imarias | | 1640 cm ⁻¹ (fuerte) |
| | aminas secundarias | | sobre 3000 cm ⁻¹ (medio a débil) |
| | iones amonio | | se ensancha con múltiples picos entre 2400-3200 cm ⁻¹ |
| C-O | alcoholes | primarios | 1050±10 cm ⁻¹ |
| | | secundarios | alrededor de 1100 cm ⁻¹ |
| | | terciarios | 1150-1200 cm ⁻¹ |
| | fenoles | | 1200 cm ⁻¹ |
| | éteres | alifáticos | 1120 cm ⁻¹ |
| | | aromáticos | 1220-1260 cm ⁻¹ |
| | ácidos carboxílicos | | 1250-1300 cm ⁻¹ |
| | ésteres | | 1100-1300 cm ⁻¹ |
| C-N | aminas alifáticas | | 1020-1220 cm ⁻¹ (frecuentemente sobrepuestas) |
| | C=N | | 1615-1700 cm ⁻¹ (efectos de conjugación similares a C=O) |
| | nitrilos (enlace triple C-N) | | 2210-2260 cm ⁻¹ (no conjugado 2250, conjugado 2230 cm ⁻¹) |
| | isonitrilos (enlace R-N-C) | | 2165-2110 cm ⁻¹ (2140 - 1990 cm ⁻¹ para R-N=C=S) |
| C-X (X=F, Cl, Br, I) | fluoroalcanos | ordinarios | 1000-1100 cm ⁻¹ |
| | | trifluorometilo | dos fuertes, se ensancha entre 1100-1200 cm ⁻¹ |
| | cloroalcanos | | 540-760 cm ⁻¹ (medio to débil) |
| | bromoalcanos | | below 600 cm ⁻¹ |
| | iodoalcanos | | below 600 cm ⁻¹ |
| N-O | compuestos nitro | Alifático | 1540 cm ⁻¹ (más fuerte) y 1380 cm ⁻¹ (más débil) - Siempre ambas. |
| | | aromático | 1520, 1350 cm ⁻¹ (la conjugación usualmente baja el número de onda) |