

Validación de la determinación cualitativa y cuantitativa de metanol en bebidas alcohólicas: un enfoque docente

López Santiago Norma Ruth*, Alcántara Manjarrez Luis Enrique, Gavilán García Irma Cruz

Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Química. Av. Universidad 3000, Coyoacán, Ciudad de México, C.P. 04510. México.

*Autor para correspondencia: nruthls@yahoo.com

Recibido:

27/febrero/2020

Aceptado:

11/diciembre/2020

Palabras clave:

Validación de métodos analíticos, enseñanza, determinación de metanol

Keywords:

Validation of analytical methods, teaching, methanol determination

RESUMEN

Este trabajo se presenta como propuesta de proyecto de validación en un curso experimental universitario la "Determinación de metanol en bebidas alcohólicas", abordada desde dos enfoques el cualitativo y el cuantitativo. Los resultados obtenidos mostraron que las metodologías presentadas son viables para poder emplearla en la enseñanza de validación de métodos analíticos, de una forma que sea accesible, eficiente, económica, donde se muestra la información necesaria para la generación de documentos y registros científicos, así como documentar estrictamente los registros experimentales y de cálculos e integrar y aplicar sus conocimientos en un laboratorio donde se valida un método analítico acuerdo con la normatividad o necesidades que cubran ampliamente las necesidades de un laboratorio que cuente con certificación (ISO 9001) o acreditación (ISO 17025).

ABSTRACT

This work is presented as a project proposal for validation in an experimental university course, the "Determination of methanol in alcoholic beverages", addressed from two approaches to qualitative and quantitative. The results showed that the methodologies presented are feasible to be able to use it in the teaching of validation of analytical methods, in a way that is accessible, efficient, economical, where the information necessary for the generation of scientific documents and records, as well as strictly documenting experimental and calculation records and integrating and applying their knowledge in a laboratory where an analytical method is validated according to the regulations or needs that broadly meet the needs of a laboratory that is certified (ISO 9001) or accredited (ISO 17025).

Introducción

La mayoría de las actividades industriales, científicas y académicas, demandan resultados de medición confiables para la toma de decisiones. Hoy por hoy bajo la hegemonía de un mundo globalizado es imperativo el asegurar la concordancia de los resultados de análisis, dada la repercusión que tendrán en la toma de decisiones que pudieran impactaren la calidad de un producto, servicio o proyecto (Chauvel y Melton, 2002; Christian, 2002; López y Orta, 2012).

En los laboratorio públicos o privados las actividades de análisis son llevadas a cabo por profesionistas de la química, es por esto que en el campo laboral los contratantes solicitan egresados cada vez más competentes para afrontar proyectos que requieren de llevar a cabo mediciones constantes, en particular aquellas que ostentan certificaciones y/o acreditaciones, tales como laboratorios farmacéutico, del sector alimenticio, de análisis clínicos, análisis ambiental, etc... (Woodget, 2003; López y Orta-, 2012).

Bajo esta perspectiva el reto de la enseñanza universitaria en materia de validación de métodos analíticos (VMA) exige que las metodologías docentes se ajusten a formar profesionales que puedan responder a las demandas laborales (López y Orta, 2012).

Este trabajo se presenta como propuesta de proyecto de validación en un curso experimental universitario: "La determinación de metanol en bebidas alcohólicas", abordada desde dos enfoques el cualitativo y el cuantitativo.

Las bebidas alcohólicas

La industria de las bebidas alcohólicas (BA), es una de las de más grandes y con mayor demanda a nivel mundial. De esta manera, resulta de gran importancia el estudio de este sector debido al gran número de fabricantes, de métodos de envasado, de procesos de producción y de productos finales (Ward, 1998). En ocasiones estas bebidas presentan una baja calidad en su producción no supervisada; así como el control de calidad durante su producción, y aumentan el riesgo de contaminación y pueden presentar como componente no deseado metanol, el cual es un alcohol estructuralmente muy parecido al etanol sin embargo sus características toxicológicas son mayores: no se eliminafácilmente del organismo y puede provocar desde una embriaguez similar a la causada por el etanol, hasta ceguera o la muerte, según sea la cantidad ingerida (Pérez, et al., 2015; Ohimain, 2016;).

Las autoridades sanitarias analizan la calidad de las BA para asegurar que se encuentren dentro de los

parámetros establecidos por las normas oficiales. En el caso de México se emplea la NOM-142-SSA1/SCFI-2014, Bebidas alcohólicas. Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial. Está NOM en su numeral 5.4 establece ellímite permisible de metanol en 300 mg/100 mL, tanto para bebidas alcohólicas fermentadas y no fermentadas (López et al., 2013; Dirección General de Normas, 2014).

Comúnmente en los laboratorios existe una primera etapa de un análisis cualitativo donde se define si el analito a determinar se encuentra presente o ausente en las muestras; si el análisis cualitativo es positivo, se procede a la segunda etapa de análisis cuantitativo (López et al., 2019).

Para efectuar el análisis de metanol en bebidas alcohólicas, existen publicadas diferentes opciones tanto de técnica analítica como de método, por ejemplo: el método colorimétrico con ácido cromotrópico, la cromatografía líquida de alto rendimiento y la cromatografía de gases. Sin embargo, la aplicación de las técnicas cromatográficas en docencia requiere dispositivos e insumos caros y un alto conocimiento técnico que los hace un tanto inaplicables en laboratorios comunes de enseñanza (Hassanian et al., 2018). En este sentido la determinación colorimétrica demetanol usando ácido cromotrópico resulta una buena opción para docencia.

En el método colorimétrico el metanol reacciona con permanganato de potasio para oxidarse a formaldehído, Figura 1 (Fu et al., 2019), y se debe detener la reacción con un reductor como el bisulfito para evitar la reacción subsiguiente de oxidación del formaldehído a ácido fórmicoya que es el formaldehído quien debe reaccionar con el ácido cromotrópico para forma el compuesto colorido que permitirá efectuar la determinación de metanol en bebidas alcohólicas.

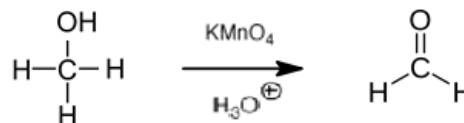


Figura 1. Oxidación de metanol a formaldehído (Fagnani et al., 2003)

La química de la reacción de color entre el formaldehído y el ácido cromotrópico, se lleva a cabo en medios fuertemente ácidos en un proceso de dos pasos, como se muestra en la Figura 2 (Fagnani et al., 2003)

El formaldehído reacciona con el ácido cromotrópico para producir un complejo en condiciones ácidas. La absorbancia del compuesto alcanza su absorción máxima en 575 nm. La concentración de metanol se calcula a

partir de la absorbancia utilizando una curva de calibración. No se encuentra reportada la existencia de alguna interferencia para este método, incluso si el acetaldehído se encuentra presente en un gran exceso (Jendral et al., 2011)

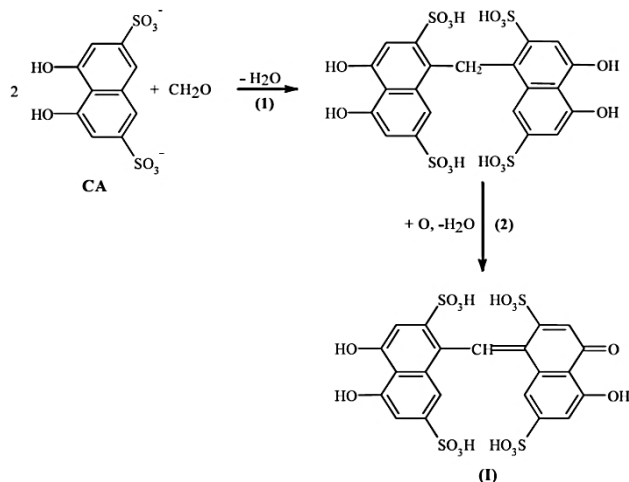


Figura 2. Propuesta de mecanismo entre el formaldehído y el ácido cromotrópico (Fagnani, 2003)

Metodología

Reactivos

Se utilizó bisulfito de sodio (NaHSO₃) de Merck, ácido cromotrópico de Meyer, permanganato de potasio (KMnO₄) de Meyer con ensayo $\geq 99.9\%$, ácido fosfórico (H₃PO₄) de J.T. Baker con una pureza del 85-87%, ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄) de J.T. Baker con una pureza del 95-98%, metanol (CH₃OH) y etanol (C₂H₅OH) de J.T. Baker con una pureza $\geq 99.9\%$.

Instrumentos

Se usó un espectrofotómetro Vernier SpectraVis Plus GDX-SVISPL con un intervalo de longitud de onda: 380nm-950nm, celdas de plástico de 1 cm para todas las mediciones de absorbancia, micropipetas Transferpette® Brand de 20-100 uL, 100-1000 uL y una balanza analítica Ohaus con sensibilidad de 0.0001g.

Se emplearon las siguientes disoluciones:

- **Método cualitativo.** Disolución acuosa de ácido fosfórico 1:20 mol/L, disolución acuosa de permanganato de potasio 1:20 mol/L, disolución acuosa de bisulfito de sodio 1:20 mol/L, disolución de ácido la cual se preparó con 50 mg de ácido cromotrópico 100 mL de ácido sulfúrico al 75%.

- **Método cuantitativo.** Disolución de alcohol etílico al 5.5% (v/v), disolución de permanganato de potasio en ácido fosfórico concentrado (Esta disolución se debe preparar por lo menos cada mes), disolución acuosa al 5% de ácido cromotrópico, disolución patrón de metanol al 0.025% v/v en disolución alcohólica al 5.5% de etanol.

Método cualitativo

En un tubo de ensayo se colocan dos gotas de la muestra, posteriormente se agrega una gota de disolución de ácido fosfórico (1:20) mol/L y una o dos de disolución de permanganato de potasio (1:20) mol/L, se mezcla cuidadosamente y se deja reposar la mezcla durante un minuto. Se agregó la disolución acuosa de bisulfito de sodio (1:20) mol/L, gota a gota y agitando, hasta que el color violeta del permanganato de potasio desaparezca. Si la mezcla presenta una coloración café, se deben agregar gotas de disolución acuosa de ácido fosfórico (1:20) mol/L hasta la desaparición del color, a la disolución incolora resultante, se le agregan 5 mL de la disolución de ácido cromotrópico recientemente preparado, y se calienta la mezcla en baño maría aproximadamente a 60°C durante diez minutos. En presencia de metanol se observa una coloración violeta/café.

Método cuantitativo

Poner 200 μ L de la disolución de permanganato en ácido fosfórico en distintos matraces volumétricos de 10 mL, colocándolo en un baño de hielo, adicionar las alícuotas respectivas para preparar una curva patrón de 150-600 mg/ 100 mL de calibración volúmenes de la disolución patrón fría, y dejar reposar 30 minutos en el baño de hielo. Decolorar con un poco de bisulfito de sodio sólido y agregar 100 μ L de disolución de ácido cromotrópico al 5%. Agregar lentamente, gota a gota, 1.5 mL de ácido sulfúrico concentrado, dejándolo escurrir por las paredes del matraz, agitando constantemente, y colocar en baño maría entre 60 y 75°C durante 15 minutos. Enfriar y adicionar con agitación agua hasta un volumen próximo al aforo, enfriar a temperatura ambiente y llevar al aforo con agua, homogeneizar y reposar durante 5 minutos. (Dirección General de Normas, 1986). Las mediciones se hacen a una longitud de onda de 575 nm.

Validación del método

Para llevar a cabo la validación de cada uno de los métodos se siguieron los planes de validación que se muestran en las Tabla 1 y 2.

Tabla 1. Plan de validación método cualitativo

Parámetro	Ecuaciones de cálculo
Sensibilidad diagnóstica (SD)	$SD = \frac{\text{núm. muestras verdaderos positivos}}{\text{núm. total de muestras con condición}}$
Especificidad diagnóstica (ED)	$ED = \frac{\text{núm. de muestras verdaderos negativos}}{\text{núm. total de muestras sin condición}}$
Concentración de corte (CC)	Probabilidad de respuestas positivas, P(x) y probabilidad de respuestas positivas más no concluyentes versus los niveles de concentración probados
Precisión	<p>Total de falsos positivos</p> $TFP = \frac{\text{núm. de muestras positivas por debajo de la CC}}{\text{núm. total de muestras por debajo de la CC}}$
	<p>Total de falsos negativos</p> $TFN = \frac{\text{núm. de muestras negativas por encima de la CC}}{\text{núm. total de muestras por encima de la CC}}$

Tabla 2. Plan de validación método cuantitativo

Parámetro	Analizar	Obtener	Criterio
Intervalo lineal	Preparar disoluciones para realizar la curva de calibración a partir de la disolución estándar, incluyendo el blanco y con 5-6 niveles de concentración	Coefficiente de correlación (r) al cuadrado r^2	$r^2 \geq 0.98$
Sensibilidad analítica	Realizar el ensayo por triplicado. Leer el blanco. Leer las disoluciones estándar. Realizar el ajuste de la curva por mínimos cuadrados de la respuesta del equipo en función de la concentración del analito	Pendiente: m	$m > 0$
Límites de detección (LD) y de cuantificación (LC)	Realizar mínimo 6 medidas replicadas de la concentración más baja con la que trabajó en la curva de calibración (Ci) o del blanco	LD = 3s' LC = 6s' s es la desviación estándar de la medición instrumental de Ci o del blanco	LC < a la concentración más baja del intervalo lineal LD < LC
Exactitud como Recobro	Se prepararon 6 disoluciones diferentes a la concentración intermedia del intervalo lineal	$\%R = \frac{\text{conc. exp}}{\text{conc. teórica}} \times 100$	97-103%
Repetibilidad	Se prepararon 6 disoluciones diferentes a la concentración intermedia del intervalo lineal	Desviación estándar relativa	DER < 5%
Reproducibilidad	Se prepararon 6 disoluciones diferentes a la concentración intermedia del intervalo lineal en periodos de tiempo diferentes	Desviación estándar relativa	DER < 5%

Aplicación a muestras

Se colocan 200 µL de la disolución de permanganato de potasio en ácido fosfórico en distintos matraces volumétricos de 10 mL, colocados en un baño de hielo, adicionar 100 µL de la muestra fría, y dejar reposar 30 minutos en el baño de hielo. Decolorar con un poco de bisulfito de sodio sólido y agregar 100 µL de disolución de ácido cromotrópico al 5%. Agregar lentamente, gota a gota, 1.5 mL de ácido sulfúrico concentrado, dejándolo escurrir por las paredes del matraz, agitando constantemente, y colocar en baño maría entre 60-75°C durante 15 minutos. Enfriar y adicionar con agitación agua hasta un volumen próximo al aforo, enfriar a temperatura ambiente y llevar al aforo con agua, homogeneizar y reposar durante 5 minutos.

Resultados y discusión

Resultados de la validación del método cualitativo

Bajo la perspectiva de que los resultados que se obtengan de un método cualitativo sentarán la base para la toma de decisiones como efectuar pruebas confirmatorias, su validación debe efectuarse con la misma firmeza que la de un método cuantitativo (López et al., 2019).

Sin perder de vista que para un método cualitativo se debe definir la respuesta o cualidad buscada para asociarla con un resultado "positivo" de la prueba, así mismo, la ausencia de esta cualidad se asocia con un resultado "negativo"; la relación entre estas respuestas permitirá calcular los parámetros de desempeño de cada método, en nuestro caso la respuesta positiva es la aparición del color violeta.

Determinar la concentración de corte (C_c) para un método cualitativo, es el equivalente la determinación del límite de detección en un método cualitativo.

Para la definición de la C_c se trazaron la curva % Tasa de respuesta positiva = $\log[f(C \text{ de Metanol})]$, como se muestra en la Figura 3.

La concentración de corte para el método cualitativo fue de 500 mg MetOH/100 mL, justo donde la tasa de respuestas positivas es del 100%. Por encima de la concentración de corte el 100% de las respuestas es positivo, sin embargo, cuando el contenido de metanol presente en una bebida es de alrededor de 90 mg MetOH/100 mL, la prueba generará alrededor del 30% de tasa positiva y para concentraciones de 223 mg MetOH/100 mL el porcentaje de tasa de respuesta positiva será del 60% de tasa positivas.

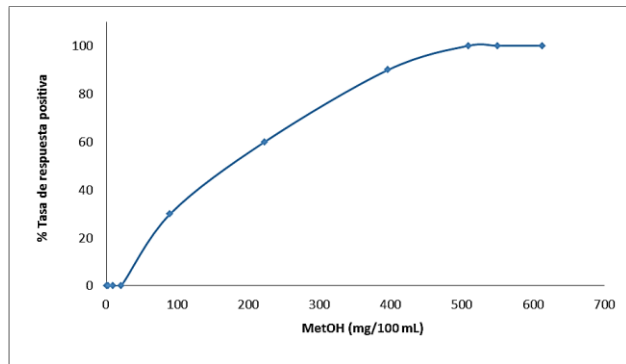


Figura 3. Concentración de corte de la prueba cualitativa de identificación de metanol

En la Tabla 3 se muestran con detalle los valores de la tasa de falsos positivos y la tasa de falsos negativos, en referencia a la concentración de corte.

Tabla 3. Tasa de falsos positivos y tasa de falsos negativos

	Muestras por encima de la C_c	Muestras por debajo de la C_c	
Prueba positiva	100%	30%	Total de pruebas positiva
Prueba negativa	0%	60%	Total de pruebas negativa
	Total de muestras por encima de la C_c	Total de muestras por debajo de la C_c	

Tabla 4. Valores de los parámetros de validación

Parámetro	Pruebas	Porcentaje
TFP	3/10	30%
SD	10/10	100%
TFN	0/10	0%
ED	6/10	60%

A partir de los resultados obtenidos de la validación se puede decir que el método cualitativo para la identificación de metanol en bebidas alcohólicas es preciso y permite efectuar la identificación de metanol de forma confiable cuando se encuentre presente en una muestra en una concentración igual o mayor 500 mg MetOH/100 mL bebida, evidencias suficiente para definir la necesidad de una prueba confirmatoria ya de carácter cuantitativo para conocer la cantidad de metanol presente en la bebida. Así el método validado es completamente adecuado para los fines de la NOM-142-SSA1/SCFI-2014, donde se requiere identificar bebidas alcohólicas que presenten metanol. Una vez que el método fue validado, se realizó una aplicación a diferentes muestras comerciales para la identificación del analito metanol contenido en ellas, esta aplicación se muestra en la Tabla 5.

Tabla 5. Aplicación a muestras del método cualitativo

Muestra	Positivos	Negativos
Ginebra London N°1	0	10
Sidra de Manzana	7	3
Tequila José Cuervo Tradicional	6	4
Mezcal Oro de Oaxaca	10	0
Tequila Jarana Reposado	9	1
Agua Ardiente Artesanal	10	0
Ron Bacardi Superior Blanco	0	10
Mezcal de Oaxaca Artesanal	10	0
Licor de caña Tonayán	10	0
Whisky Johnnie Walker Red Label	6	4

Se puede observar que en ocho muestras de las que se analizaron se tiene la presencia de metanol gracias a la observación de la coloración violeta, esto quiere decir que la prueba fue positiva como se plantea en el procedimiento, así que se procedió a cuantificar el metanol con el método cuantitativo.

Método cuantitativo

Para la validación del método cuantitativo se obtuvieron los siguientes parámetros de desempeño, intervalo de concentraciones, coeficiente de correlación r , coeficiente de determinación r^2 , sensibilidad analítica, límite de detección (LD), límite de cuantificación (LC), exactitud (como recobro) precisión (a dos niveles repetibilidad y reproducibilidad). En la Figura 4 se presenta un ejemplo de la representación gráfica de la curva de calibración.

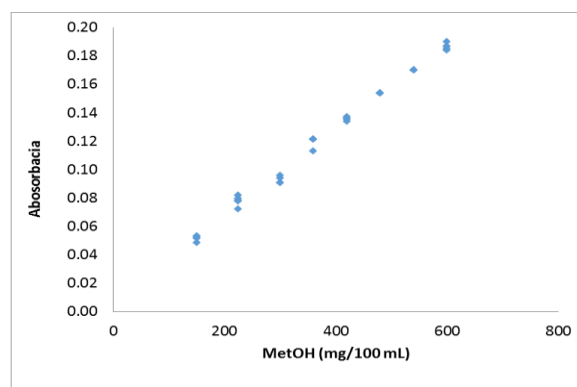


Figura 4. Curva de calibración general Absorbancia vs Concentración.

En la Tabla 6 se presenta el resumen de los parámetros de validación obtenidos. De acuerdo a los parámetros establecidos en el plan de validación, los valores que se obtuvieron aseguran que el método es confiable ya que cumplen con los criterios de aceptación

Tabla 6. Parámetros de desempeño de la determinación cuantitativa de metanol.

Parámetro	Valor obtenido
Intervalo de concentraciones	150-600 mg/ 100 mL
Sensibilidad analítica	0.003
r^2	0.9944
LC (mg/100 mL)	10.4
LD (mg/100 mL)	5.2
EXACTITUD	% Recobro (300 mg/100 mL)
	92.19
PRECISIÓN	Rep. DER (%)
	3.50
	Reprod. DER (%) (300 mg/100 mL)
	2.97

A partir de los parámetros de validación obtenidos y mostrados en la Tabla 6 se puede expresar que el método cuantitativo para determinación de metanol en bebidas alcohólicas se encuentra validado y es adecuado para los fines de la NOM-142-SSA1/SCFI-2014, donde se requiere cuantificar metanol en concentraciones mayores a 300 mg/100 mL, presente en bebidas alcohólicas.

Aplicación a muestras

El método fue aplicado a diez muestras comerciales, vale la pena mencionar que algunas son de marcas formales y reconocidas, y otras de elaboración artesanal. En la Tabla 7, se presentan los resultados obtenidos de los análisis.

Tabla 7. Resultados del análisis cuantitativo.

Muestra	Concentración mg/100 mL
Ginebra London N°1	<LD
Sidra de Manzana	93.5
Tequila José Cuervo Tradicional	222.8
Mezcal Oro de Oaxaca	508.8
Tequila Jarana Reposado	396.4
Agua Ardiente Artesanal	613.1
Ron Bacardi Superior Blanco	20.9
Mezcal de Oaxaca Artesanal	2839.6
Licor de caña Tonayán	3225.4
Whisky Johnnie Walker Red Label	98.7

Como se puede observar la concentración de metanol que se encuentra presente en las bebidas alcohólicas que son elaboradas de una manera no tan controlada como lo son las bebidas artesanales (Mezcal Oro de Oaxaca, Agua Ardiente, Mezcal de Oaxaca sin marca), son las que tienen una mayor concentración de metanol en comparación de las que son elaboradas conforme a la norma oficial mexicana NOM-142-SSA1/SCFI-2014 la cual establece que el límite permisible de metanol presente es de 300 mg/ 100 mL.

Por otra parte, la prueba cuantitativa confirmó los resultados preliminares de la prueba cualitativa.

Aplicación docente

Una vez que validaron de forma independiente los protocolos cualitativos se comprobó que ambos eran viables para su empleo como proyecto de validación en un curso universitario dado que:

- Los materiales y reactivos que se emplean son de fácil acceso en un laboratorio de enseñanza.
- El costo de la validación es muy bajo, ya que requieren de muy poca cantidad de reactivos y de equipo usual de laboratorio.

- Los residuos que se generan son pocos, ya que se utilizan 150 mililitros por sesión y son de fácil tratamiento, esto les confiere a los protocolos un atributo de sustentabilidad, atendiendo a las directrices de la Química verde (Anastas y Warner, 1988).

- Se pueden llevar a cabo en un semestre de 16 semanas con una clase de 3 hrs/semana.

- Contar con un listado de muestras que se pueden emplear para la parte aplicada.

Los protocolos propuestos se probaron con el grupo 06 de Analítica experimental III que se imparte en la Facultad de Química-UNAM, en los semestres 2019-2 y 2020-1, y permitieron que los estudiantes adquirieran los conocimientos para validar un método: generar un protocolo del método analítico a validar, poder elaborar un plan de validación, elaborar registros en bitácora y electrónicos, hojas de cálculo validadas, y generar un informe de validación, y poco más al efectuar los métodos planteados a la aplicación a muestras.

Conclusiones

Los resultados del presente trabajo proporcionan información útil para hacer las siguientes conclusiones:

Los parámetros de desempeño que se obtuvieron en la validación del método cumplen con los criterios de aceptación establecidos y demuestran que cada uno de los métodos (cualitativo y cuantitativo) son adecuados para el alcance de cada uno de ellos: la determinación de metanol en diferentes muestras de bebidas alcohólicas.

En las muestras analizadas se encontró que las bebidas alcohólicas que se elaboran de manera artesanal o de dudosa elaboración contienen mayor concentración de metanol a la reportada en la norma, la cual es de 300 mg/ 100 mL.

De esta manera se puede concluir que el desarrollo de los métodos presentados son viables para poderlos emplear en una enseñanza de validación de métodos analíticos, ya que permite mostrar la información necesaria para la generación de documentos y registros científicos, así como documentar estrictamente los registros experimentales y de cálculos e integrar y aplicar sus conocimientos en un laboratorio donde se valida un método analítico de acuerdo con la normatividad o las necesidades que cubran ampliamente los requisitos de un laboratorio que cuente con certificación (ISO 9001) o acreditación (ISO 17025).

Agradecimientos

A la Dirección General de Asuntos del Personal Académico (DGAPA) de la UNAM por el financiamiento otorgado a través del proyecto: **PAPIME PE201618 Enseñanza de la validación de métodos analíticos.**

Referencias

- Anastas P. T., y Warner J. C. (1988). Green chemistry. Theory and practice. London: Oxford University Press.
- Chauvel, J., Henslee, W., y Melton, L. (2002). Teaching Process Analytical Chemistry. *Analytical Chemistry*, 381A-384A.
- Christian G. D. (2002). International Meeting Examines Analytical Curricula. *Analytical Chemistry*, 219A-221A.
- Dirección General de Normas. (1986). COLPOS. Recuperado el 05 de 2019, de <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-V-021-1986.PDF>
- Ellison S., Fearn T. (2005). Characterising the performance of qualitative analytical methods: Statistics and terminology. *Trends in Analytical Chemistry*, 24(6), 468-476.
- Fagnani E. M. (2003). Chromotropic acid-formaldehyde reaction in strongly acidic media. The role of dissolved oxygen and replacement of concentrated sulphuric acid. *Talanta*, 60(1), 171-176.
- FQ-UNAM. (2019). Facultad de Química-UNAM. Recuperado el 31 de 07 de 2019, de <https://quimica.unam.mx/ensenanza/licenciaturas-de-la-facultad-de-quimica/quimica/>
- Fragoso Lugo, J.A. (2019). Propuesta de protocolos experimentales para la enseñanza de Química Forense a Químicos. Ciudad de México: FQ-UNAM.
- Hassanian-Moghaddama H, A.R. (2018). Evaluation of methanol content of beverages using an easy modified chromotropic acid method. *Food and Chemical Toxicology*, 11-14. doi:<https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.08.012>
- Jendral J.A. (2011). Formaldehyde in alcoholic beverages: large chemical survey using purpald screening followed by chromotropic acid spectrophotometry with multivariate curve resolution. *International Journal of Analytical Chemistry*, 6.
- López M., Callao, M., Ruisánchez I. (2015). A tutorial on the validation of qualitative methods: From the univariate to the multivariate approach. *Analytica Chimica Acta* (891), 62-75.
- López Santiago N. R., Gavilán García I. C., Flores Avila, C. (2019). Propuesta de enseñanza: validación de métodos analíticos cualitativos. *Tendencia de docencia e investigación en Química* (5), 44*48.
- López-Santiago N., Orta-Pérez, M. (2012). Memorias del Quinto Foro Nacional de Ciencias Básicas. Obtenido de <http://dcb.fi-c.unam.mx/Eventos/Foro5/memorias/lista.php?id=3>
- Morrillas P. P. (2016). La Adecuación al Uso de los Métodos Analíticos. Una Guía de Laboratorio para Validación de Métodos y Temas Relacionados. Recuperado el 8 de Junio de 2018, de https://www.eurachem.org/images/stories/Guides/pdf/MV_guide_2nd_ed_ES.pdf
- Ohimain E.I. (2016). Methanol contamination in traditionally fermented alcoholic beverages: the microbial dimension. SpringerPlus, 5(1).
- Pérez Vega Á. I., Fernández Fernández, A. (2015). Revista COFEPRIS Protección y salud. Obtenido de Todo sobre bebidas adulteradas: <http://revistacofepris.salud.gob.mx/inter/2015/inspector.html>
- Qiang Fu L. P. (2019). Improved Method for Detecting Methanol in Transformer Oil Based on Colorimetry with a Chemometric Method. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 95-100.
- Secretaría de Economía. (2017). Norma Oficial Mexicana NOM-199-SCFI-2017, Bebidas alcohólicas-Denominación, especificaciones fisicoquímicas, información comercial y métodos de prueba. Diario Oficial del la Federación.
- Trullols E., Ruisánchez I., Riu F. (2004). Validation of qualitative analytical methods. *Trends in Analytical Chemistry*, 23(2), 137-145.
- Virtus D. (2015). Lista de precios LAB 2015. Obtenido de <http://www.diagnosticsvirtus.com/julio2015/Baker%20Mallinckrodt%200115.pdf>
- Ward L. A. (1998). Perfil general. Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo.
- Woodget B. (2003). Teaching Undergraduate with the Process Model Analytical Science with the Process Model. *Analytical Chemistry*, 307-310.