



# MATERIAL DE REFERENCIA FORENSE- ÁMBITO ALCOHOSENSORES

NIDIA MIREYA PEREZ PEREZ  
INSTITUTO NACIONAL DE MEDICINA LEGAL Y CIENCIAS  
FORENSES /SUBRED FORENSE  
[nperez@medicinalegal.gov.co](mailto:nperez@medicinalegal.gov.co)

# JUSTIFICACIÓN

- Ley 1696 de diciembre de 2013 **“Disposiciones Penales y Administrativas Para Sancionar la Conducción Bajo el Influjo de Alcohol u Otras Sustancias Psicoactivas”**. el inciso 2 del literal F *“el estado de embriaguez o alcoholemia se establecerá mediante una prueba que no cause lesión, la cual será determinada por el Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses. (...)”*.
- Código Sustantivo del Trabajo , Numeral 2, artículo 60, prohibiciones para el trabajador **“... Presentarse al trabajo en estado de embriaguez o bajo la influencia de narcóticos o drogas enervantes (...)”**
- Resolución 181 de 2015 del Instituto Nacional de Medicina Legal y Ciencias Forenses, se adoptó la *“Guía para la Medición Indirecta de Alcoholemia a través de aire aspirado”*. **“Comprobar el estado de embriaguez se debe realizar un ensayo de medición de etanol en aire aspirado, utilizando un analizador de alcohol en el aire aspirado denominado alcohosensor (...)”**

# JUSTIFICACIÓN

- **Se hace necesario la acreditación de laboratorios que calibren alcohosensores y para ello debe haber acceso a material de referencia de concentración alcohólica conocida, en forma de gas seco o soluciones hidroalcohólicas. Con trazabilidad confiable.**

# MATERIAL DE REFERENCIA



- **A partir de la Experiencia del INMETRO (Método Gravimétrico).**
- **Lineamientos de la ISO-GUIDE 35:2006 Materiales de Referencia- Principios Generales y Estadísticos para Certificación (Valor asignado/Homogeneidad/ Estabilidad/Almacenamiento/Incertidumbre).**

# PREPARACION DE SOLUCIONES

- Método Gravimétrico:
- Material de partida Etanol Absoluto 99,9 pureza (pureza Karl Fischer Coulombimétrico, trazado a corriente).
- Final Etanol en agua al 95,6% de pureza NIST.
- Determinar factor de evaporación del etanol durante preparación.
- Determinar densidad soluciones preparadas.



# Método Gravimétrico:

- **Disminución del factor de evaporación del etanol durante preparación**

**Matraces de cuello alto prehumedecidos, para pesada (no pesar por debajo de 1 mg).**

**Balanzas calibradas**

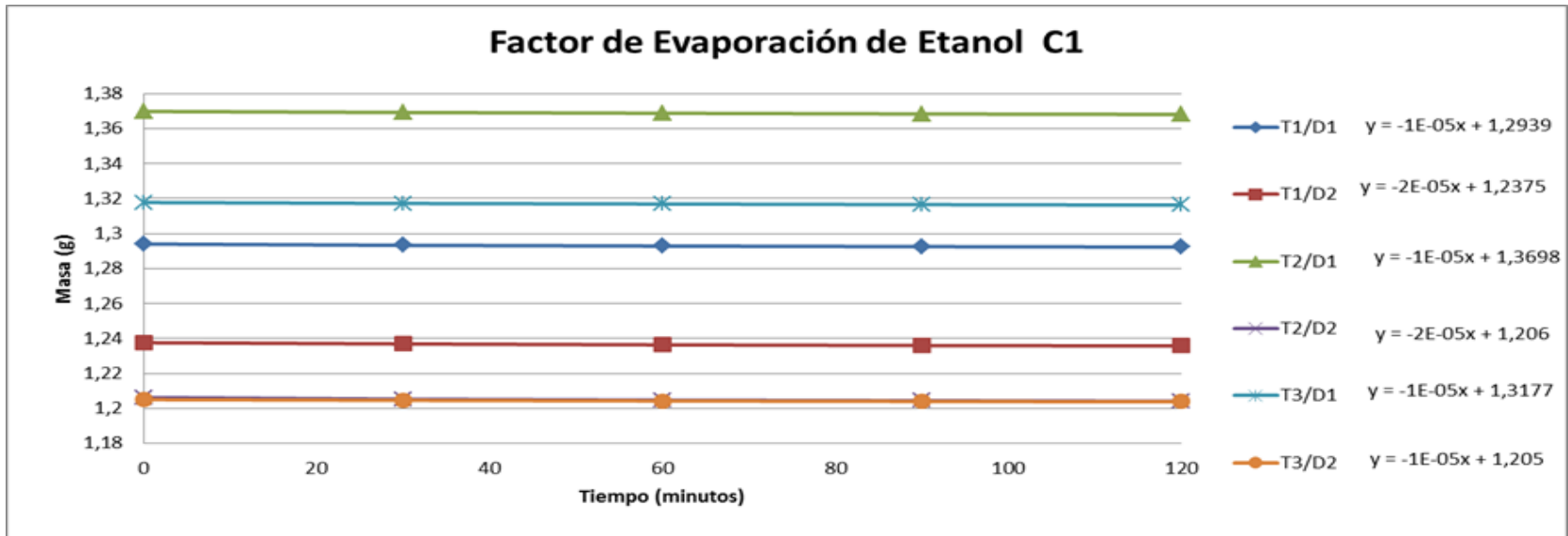
**Vertido de etanol sobre el agua (2/3 partes de agua).**

**Preparación de grandes cantidades (5 L), para disminuir error en concentración**

**Destreza en técnica de pesada .**

- **Determinar el factor de evaporación en la, pesada (con solución similar, pesada cada 30 segundos, por 2 minutos, repetir 2 días diferentes, 4 operarios.**

# Método Gravimétrico:



RESUMEN evaporacion en (g/min)						
	T1/D1	T1/D2	T2/D1	T2/D2	T3/D1	T3/D2
C1	-1,00E-05	-2,00E-05	-1,00E-05	-2,00E-05	-1,00E-05	-1,00E-05
C2	-1,00E-05	-1,00E-05	-1,00E-05	-2,00E-05	-1,00E-05	-6,00E-06
C3	-2,00E-05	-2,00E-05	-1,00E-05	-1,00E-05	-1,00E-05	-2,00E-05
C4	-2,00E-05	-2,00E-05	-2,00E-05	-2,00E-05	-2,00E-05	-1,00E-05
C5	-2,00E-05	-2,00E-05	-2,00E-05	-2,00E-05	-2,00E-05	-2,00E-05
RESUMEN evaporacion en (g/en 5 segundos)						
	T1/D1	T1/D2	T2/D1	T2/D2	T3/D1	T3/D2
C1	-8,33E-07	-1,67E-06	-8,33E-07	-1,67E-06	-8,33E-07	-8,33E-07
C2	-8,33E-07	-8,33E-07	-8,33E-07	-1,67E-06	-8,33E-07	-5,00E-07
C3	-1,67E-06	-1,67E-06	-8,33E-07	-8,33E-07	-8,33E-07	-1,67E-06
C4	-1,67E-06	-1,67E-06	-1,67E-06	-1,67E-06	-1,67E-06	-8,33E-07
C5	-1,67E-06	-1,67E-06	-1,67E-06	-1,67E-06	-1,67E-06	-1,67E-06
Promedio de evaporacion en 5 segundos (g)				-1,29E-06		

$$f_{\text{evap}} = \left( 1 - \frac{\bar{m}_{\text{evap}5}}{m_{\text{EtOH}}} \right) \quad (\text{Ec.2})$$

$\bar{m}_{\text{evap}5}$ ; es la masa evaporada en 5 segundos

$m_{\text{EtOH}}$ ; es la masa pesada de etanol

# Asignación del Valor:

$$C_i = \frac{m_{\text{EtOH}}}{m_{\text{EtOH}} + m_{\text{agua}}} \cdot f_{\text{evap}} \cdot \rho_{\text{EtOH}} \quad (\text{Ec.3})$$

$m_{\text{agua}}$ ; es la masa de agua

$m_{\text{EtOH}}$ ; es la masa pesada de etanol

$f_{\text{evap}}$ ; factor de evaporación

$\rho_{\text{EtOH}}$ ; pureza del etanol

	Masa etanol (g)	Masa de agua (g)	Factor de evaporación $f_{\text{evap}}$	Pureza $\rho_{\text{EtOH}}$	Concentración (g EtOH/ g de solución)	Densidad de Soluc. g/mL)	Concentración (g EtOH/ L de solución)	Concentración (mg EtOH/ 100 mL de sangre)	Concentración (mg EtOH/ L de aire)
C1	1,21643	4988,84	9,999 989 E-01	0,999794	0,0002437	0,9991	0,24351	20,096	0,096
C2	2,44230	4987,62	9,999 995 E-01	0,999794	0,0004893	0,9989	0,48881	40,34	0,192
C3	6,18059	4983,84	9,999 998 E-01	0,999794	0,0012383	0,9984	1,23645	102,04	0,486
C4	9,19003	4980,87	9,999 999 E-01	0,999794	0,0018412	0,9984	1,83838	151,72	0,722
C5	12,40550	4978,37	9,999 999 E-01	0,999794	0,0024851	0,9981	2,48068	204,73	0,975



# ESTUDIO DE HOMOGENEIDAD

- Diferencia de la característica despreciable al compararla con la incertidumbre.
- Cada lote de 10 botellas de 500 mL, selección ( $\sqrt{N}=3$ ). de botellas 3,6,9 a Cromatografía de Gases con Espacio de Cabeza, Acreditado en medición de concentración de etanol en solución.
- Análisis de homogeneidad de varianzas, dentro de la botella y entre botellas, para lo cual se utilizó un ANOVA, para comprobar la **hipótesis nula** (Ho: Material es homogéneo, se acepta. H1: el material no es homogéneo, si se rechaza).

# ESTUDIO DE HOMOGENEIDAD

**La varianza por no homogeneidad entre botellas**

$$s_{bb}^2 = \frac{MS_{\text{entre}} - MS_{\text{dentro}}}{n_0} \quad (\text{Ec.4})$$

**La varianza por no homogeneidad dentro de botellas**

$$s_{wb}^2 = \frac{s_r^2}{n_0} \quad (\text{Ec.5})$$

# ESTUDIO DE HOMOGENEIDAD

Concentración N° 1 (mg de etanol/100 mL de solución)			
	Botella 1/ID	Botella 2/ID	Botella 3/ID
No replicas	01-14-03	01-14-06	01-14-09
1	23,02	23,06	23,07
2	22,96	23,00	23,15
3	23,02	23,05	22,94
4	22,93	23,21	23,13
5	23,15	23,16	23,08
6	23,07	23,10	23,16
7	23,06	23,21	23,02
8	23,09	23,20	23,02
9	23,07	23,06	23,06
10	23,15	23,13	22,96
S	0,07	0,08	0,08
$\bar{X}$	23,1	23,1	23,1
CV	0,3	0,3	0,3
CV GLOBAL	0,3		
$U_{\text{expandida}}$	0,47	0,47	0,47

## Análisis de varianza de un factor

RESUMEN						
Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza		
Botella 1	10	230,52	23,052	0,0051956		
Botella 2	10	231,18	23,118	0,0056844		
Botella 3	10	230,59	23,059	0,0056767		
ANOVA						
Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Promedio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	0,026286667	2	0,01314333	2,3815182	0,1115485	3,35413083
Dentro de los grupos	0,14901	27	0,00551889			
Total	0,175296667	29				

# ESTUDIO DE ESTABILIDAD

- El objetivo de un material de referencia es que sea estable en un período de tiempo considerable y útil para los fines de calibración ( SH para las concentraciones mayores volatilidad. Requiere Almacenamiento con hermeticidad).
- Muestras el mismo día, un mes y seis semanas, Cromatografía de gases FID



# ESTUDIO DE ESTABILIDAD



Estudio de Concentración antes del Uso

Técnica Cromatografía de gases/Porcentaje de Cambio de la Concentración

Concentración	C1	C2	C3	C4	C5
Semana Cero	0	0	0	0	0
Semana Cuatro	2,5	0,7	3,2	1,2	1,3
Semana Seis	3,7	3,6	3,7	3,9	3,5

Tabla que muestra la concentración antes del uso, para soluciones almacenadas en condiciones de laboratorio 20 °C ± 3°C; a Humedad Realativa de 50 % ± 10 %.

Sustancia hidroalcohólica almacenada en botellas de vidrio ámbar, grafadas y con tapón de caucho

Técnica Cromatografía de gases/Porcentaje de Cambio de la Concentración

En todos los casos la concentración fue decreciente, se tomaron diez réplicas

# EVALUACION DE LA INCERTIDUMBRE

## - Gravimetría

$$u_c(C_i) = \sqrt{u^2(\text{caracterización}) + u^2(\text{almacenamiento}) + u^2(\text{homogeneidad}) + u^2(\text{estabilidad})} \quad (\text{Ec.6})$$

## - Caracterización del Material

$$u(\text{car}) = \sqrt{u^2(m_{\text{EtoH}}) + u^2(m_{\text{agua}}) + u^2(f_{\text{evap}}) + u^2(p_{\text{EtoH}})} \quad (\text{Ec.7})$$

# EVALUACION DE LA INCERTIDUMBRE

PRESUPUESTO DE INCERTIDUMBRE DE CARACTERIZACIÓN										
	Tipo de Incertidumbre	Distribución de Probabilidad	Variable (xi)		Incertidumbre típica u(xi)		Coeficiente de sensibilidad (ci)		Contribución a la Incertidumbre ui(y)	Grados de libertad
<b>1. Incertidumbre de la masa del etanol (g)</b>										
1.1. Resolución de la balanza (g)	B	Rectangular	d	0,00001	(d/2)/raiz(3)	2,88675E-06	$\frac{C_i \cdot m_{\text{agua}}}{(m_{\text{EtOH}} + m_{\text{agua}}) m_{\text{EtOH}}}$	0,000200308	5,7824E-10	$\infty$
1.2. Calibración de la balanza (g)	B	Normal	U	0,000021	U/k	0,0000105	$\frac{C_i \cdot m_{\text{agua}}}{(m_{\text{EtOH}} + m_{\text{agua}}) m_{\text{EtOH}}}$	0,000200308	2,10324E-09	$\infty$
<b>2. Incertidumbre de la masa del agua (g)</b>										
2.1. Resolución de la balanza (g)	B	Rectangular	d	0,01	(d/2)/raiz(3)	0,002886751	$\frac{-C_i}{(m_{\text{EtOH}} + m_{\text{agua}})}$	-4,88412E-08	-1,40992E-10	$\infty$
2.2. Calibración de la balanza (g)	B	Normal	U	0,02	U/k	0,01	$\frac{-C_i}{(m_{\text{EtOH}} + m_{\text{agua}})}$	-4,88412E-08	-4,88412E-10	$\infty$
2.3. Repetibilidad de la pesada del agua (g)	A	Normal	s	0,015	s/raiz(n)	0,0015	$\frac{-C_i}{(m_{\text{EtOH}} + m_{\text{agua}})}$	-4,88412E-08	-7,32618E-11	9
<b>3. Incertidumbre del factor de evaporación del etanol</b>										
3.1. Incertidumbre por repetibilidad	A	Normal	s	4,37E-07	s/raiz(n)	7,97849E-08	$\frac{C_i}{f_{\text{evap}}}$	2,437206E-04	1,94452E-11	29
<b>4. Incertidumbre de la pureza del etanol</b>										
4.1. Incertidumbre por repetibilidad (g agua/g etanol)	A	Normal	s	0,000002	s/raiz(n)	6,32456E-07	$\frac{C_i}{P_{\text{EtOH}}}$	0,000243771	1,54174E-10	9
									Incertidumbre combinada "uc (car)" (g)	2,24631E-09
									Grados efectivos de libertad "v <sub>ef</sub> "	385874,015
									Factor de cobertura para 95%; "k"	2,00
									Incertidumbre expandida del valor asignado "U(car)" (g)	4,49262E-09

# EVALUACION DE LA INCERTIDUMBRE

- No homogeneidad

$$u_{bb} = \sqrt{\frac{MS_{dentro}}{n}} \cdot \sqrt[4]{\frac{2}{V_{MSdentro}}} \quad (\text{Ec.13})$$

- Incertidumbre total

$$u_c(C_i) = \sqrt{u^2(\text{caracterización}) + u^2(\text{homogeneidad})}$$



# EVALUACION DE LA INCERTIDUMBRE

<b>Cuadro resumen</b>	<b>RESULTADOS DE GRAVIMETRIA</b>				
Concentraciones	C1	C2	C3	C4	C5
$\bar{X}$ (g Etoh/ g de solución)	0,00024372	0,000489332	0,001238335	0,001841288	0,002485174
$u_c$ (car) (g Etoh/ g de solución)	2,24631E-09	2,43235E-0,9	3,49030E-10	4,60190E-09	5,88779E-09
$u_{bb}$ (g Etoh/ g de solución)	3,70036E-07	7,00375E-07	1,59284E-06	4,32918E-06	3,65514E-06
Incertidumbre combinada	3,70043E-07	7,00375E-07	1,59284E-06	4,32918E-06	3,65514E-06
<b>U (expandida)</b>	<b>7,4009E-07</b>	<b>1,40075E-06</b>	<b>3,186E-06</b>	<b>8,66E-06</b>	<b>7,31028E-06</b>
Unidades	Concentración (g Etoh/ g de solución)				

# CONCLUSIONES

- **Se requiere acceso a material de referencia certificado.**
- **Competencia el personal que prepara el material de referencia.**
  - **Se debe completar el estudio de estabilidad a largo plazo.**

