

Pre-Protocolo

Ensayo de aptitud para la determinación de Alcoholes, Ésteres y Acetaldehído (congéneros de etanol) en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases y determinación del contenido alcohólico por densímetro digital.

CNM-EA-630-0007/2023

**Dirección de Análisis Orgánico
Dirección General de Metrología de Materiales**

INTRODUCCIÓN.

Para garantizar la calidad de los productos en la industria de bebidas alcohólicas, es necesario mantener un estricto control en la concentración de los congéneres del etanol, entre ellos: acetaldehído, metanol, alcoholes superiores al etanol y ésteres, que deben medirse de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana NOM-142-SSA1-2014 [1] y normas mexicanas complementarias: NMX-V-005-NORMEX-2018 [2] y NMX-V-013-NORMEX-2019 [3].

Los EA permiten a la industria y a los laboratorios de análisis evaluar su desempeño y la competencia o desviación de sus resultados. Los valores obtenidos por el participante al medir una muestra ciega (material caracterizado mediante métodos de alta jerarquía y con valores de referencia asignados) son comparados de forma objetiva respecto a los valores de referencia emitidos por CENAM, los cuales son comparables y trazables al Sistema Internacional de Unidades (SI).

El CENAM organiza Ensayos de Aptitud (EA) en base a la Norma NMX-EC-17043-IMNC-2010 [4] que les permita tanto a las industrias, productores de bebidas alcohólicas, así como a los laboratorios de análisis tener medidas de comparabilidad del más alto nivel.

Este ensayo de aptitud se organiza para que los laboratorios participantes cuenten con evidencia de su capacidad técnica para trabajar con el método correspondiente a la medición de los congéneres del etanol medidos por cromatografía de gases y la medición de contenido alcohólico por densímetro digital.

1. Objetivo del ensayo de aptitud y mensurandos a medir.

1.1. Objetivo.

Evaluar la competencia técnica del laboratorio para realizar la determinación de aldehídos, ésteres metanol y alcoholes superiores en bebidas alcohólicas por cromatografía de gases, así mismo realizar la determinación del contenido alcohólico en bebidas alcohólicas por densímetro digital.

1.2. Mensurandos a medir.

Los mensurandos a medir se indican a continuación, así como el Intervalo de concentración en masa (mg/100 mL) en el que se encuentran los valores de referencia de estos en las muestras del ensayo:

	Mensurando	Intervalo de concentración de masa mg/100 mL
Aldehídos:	Acetaldehído	• De 10 a 30
Ésteres:	Acetato de etilo	• De 05 a 20
	Lactato de etilo	• De 10 a 30
	Metanol	• De 100 a 300
Alcoholes superiores:	1-propanol	• De 20 a 70
	2-metil-1-propanol	• De 150 a 400
	2-metil-1-butanol	• De 60 a 180
	3-metil-1-butanol	• De 200 a 500

Mensurando	Intervalo (% Alc. Vol.)
Contenido alcohólico a 20°C (% Alc. Vol.)	De 35 a 45

2. Modalidad del ensayo de aptitud.

Envío de muestras (materiales de referencia) a cada laboratorio participante.

3. Descripción del objeto del ensayo.

Las muestras del ensayo se tratan de dos bebidas alcohólicas destiladas diferentes y son 2 Materiales de Referencia envasados por el CENAM en atmósfera inerte de nitrógeno en frascos ámbar de 50 mL y 100 mL con tapa de rosca de sellado hermético:

- 2 muestras de 100 mL para que se realice la determinación de aldehídos, ésteres, metanol y alcoholes superiores.
- 2 muestras de 50 mL para la determinación del contenido alcohólico.

3.1. Envío y conservación de la muestra antes de su medición.

El laboratorio recibirá 4 muestras la cuales serán enviadas por mensajería, en un paquete que conserve las muestras de algún golpe a las condiciones de temperatura ambiente durante su traslado.

Al recibir las muestras, inspeccionar que no tengan daño aparente en el empaque y contenido. Es recomendable se almacenen a una temperatura entre (4 a 18) °C, pero no congelarse.

Nota: en caso de que las muestras estuvieran dañadas, favor de notificarlo inmediatamente al siguiente correo electrónico: vserrano@cenam.mx, anexando escaneado y firmado, el documento de custodia (formato 1), así mismo alguna fotografía donde se observe el daño de las muestras para tomar las acciones pertinentes y proceder al envío de nuevas muestras.

4. Descripción de los participantes.

Este ensayo es aplicable a los laboratorios de análisis que provean de servicios de medición de congéneres del etanol y contenido alcohólico en bebidas alcohólicas provenientes de destilados de acuerdo con las NOM-142-SSA1-2014 [1], NMX-V-005-NORMEX-2018 [2] y NMX-V-013-NORMEX-2019 [3].

4.1. Laboratorio organizador y contacto técnico.

Este EA está organizado por la Dirección de Análisis Orgánico perteneciente a la Dirección General de Metrología de Materiales de CENAM. A continuación, se proporcionan los datos del personal:

Responsable técnico del ensayo:

IQ. Victor M. Serrano Caballero,

Tel: +52 (442) 2110500 / 04 Ext. 3921, vserrano@cenam.mx

Suplente técnico del ensayo:

Dra Irais Gómez López

Tel: +52 (442) 2110500 / 04 Ext. 3994, igomez@cenam.mx

Coordinador de ensayos de aptitud:

Lic. Maribel Medina González,

Tel: +52 (442) 2110500 / 04 Ext. 3006, mmedina@cenam.mx

4.2. Generalidades sobre la realización del ensayo.

- El CENAM asignará a cada laboratorio un código de participación. El tratamiento de los resultados y el informe se realizará utilizando el número asignado a cada laboratorio para preservar la confidencialidad de los resultados.
- El CENAM enviará por correo electrónico a cada laboratorio, un enlace para que pueda descargar el protocolo y formatos del ensayo de aptitud.
- La recolección de las muestras (ítem del ensayo) en CENAM correrá por cuenta de cada laboratorio participante, ya sea que venga por ellas o mediante un servicio de paquetería. Estas estarán identificadas con una etiqueta la cual contendrá: logotipo del CENAM, clave del ensayo de aptitud y el número de identificación de las muestras.
- El laboratorio deberá realizar las mediciones siguiendo las indicaciones del punto 6 del presente protocolo.
- Con la finalidad de agilizar la evaluación de los datos, el laboratorio participante deberá llenar los formatos correspondientes, indicados en el apartado 8. **Es necesario completar cuidadosamente cada formato.**

5. Cronograma correspondiente a las diferentes etapas del ensayo.

En la siguiente tabla se presentan las fechas de cada una de las actividades referentes al ensayo de aptitud.

Tabla 1. Cronograma de actividades para el ensayo.

	Actividad	Fecha	Responsable
1	Envío de protocolo a los laboratorios participantes	2023-07-07	CENAM
2	Envío de muestras en CENAM a los laboratorios participantes	2023-07-10	CENAM
3	Fecha límite de envío de resultados a CENAM	2023-07-28	Laboratorios participantes
4	Envío del borrador de informe del ensayo a participantes	2023-08-18	CENAM
5	Envío de comentarios al informe borrador a CENAM	2023-08-25	Laboratorios participantes
6	Envío de informe final	2023-09-08	CENAM

Cuando el laboratorio participante hizo su pago y se autorizó este, recibió un correo electrónico (a la cuenta de correo registrada previamente por el laboratorio) con el asunto:

“Confirmación de participación en el ensayo CNM-EA-630-0007/2023”

En dicho correo podrá consultar:

- El código de participación asignado.
- Los enlaces para que gestione su participación de acuerdo con las fechas establecidas:
 - Enlace para descargar el protocolo y formatos (archivo extra)
 - Enlace para subir el archivo con sus resultados.
 - Enlace para descargar el informe borrador.
 - Enlace para descargar el informe final.

6. Indicaciones para la realización de las mediciones.

- El laboratorio debe designar al analista responsable de la medición y de reportar la información solicitada en los formatos del presente ensayo.
- Previo a la medición de las muestras del EA, el laboratorio debe realizar las pruebas de funcionamiento y/o verificación que rutinariamente realiza a sus equipos.

Para la determinación del contenido alcohólico:

- Utilizar las 2 muestras de 50 mL identificadas para la medición del contenido alcohólico.
- Medir la densidad de cada muestra por triplicado, utilizando densímetro digital a 20°C y estime el contenido alcohólico de acuerdo con el método por densímetro digital a 20°C incluir en el reporte la densidad determinada por dicho método.
- Realizar la medición de la densidad de cada muestra por triplicado, deberá utilizar sus métodos de rutina en base a la NMX-V-13-NORMEX-2019 [3], utilizando un densímetro digital a 20 °C.
- Con los datos de densidad obtenidos, realizar el cálculo del contenido alcohólico en base a la NMX-V-13-NORMEX-2019 [3].
- Finalmente llenar los formatos correspondientes. Es necesario completar cuidadosamente cada formato.

Para la determinación de los congéneres de etanol:

- Utilizar las 2 muestras de 100 mL identificadas para la medición de Alcoholes, Ésteres y Acetaldehído.
- Aplicar el procedimiento de medición por cromatografía de gases utilizado en su laboratorio, mismo que debe basarse en la norma NOM-142-SSA1-2014 [1] y/o NMX-V-005-NORMEX-2018 [2].
- Obtener una muestra de cada frasco e inyectar tres veces.
- *Los cálculos reportarse en miligramos de mensurando por 100 mL de muestra (mg/100mL).
- Llenar los formatos correspondientes. Es necesario completar cuidadosamente cada formato.

*Nota: Se pide reportar en mg/100mL de muestra ya que, si el laboratorio toma como base los 100 mL para la preparación de muestra que es el tamaño de muestra no sería suficiente para estimar el contenido alcohólico con el alcoholímetro, por lo tanto, no se podría reportar en unidades de mg/100mL de alcohol anhidro.

En caso de que en sus cálculos de la preparación de muestra considere un volumen menor para preparación, realizar la estimación del contenido alcohólico de las muestras y reportar también el valor en unidades de mg/100mL de alcohol anhidro.

7. Información que el participante está obligado a entregar.

Al recibir las muestras, el laboratorio debe registrar las condiciones en que la recibió, así como la información solicitada en el formato No. 1 Custodia de las muestras recibidas, posteriormente enviarlo firmado y escaneado al correo electrónico vserrano@cenam.mx

7.1. Entrega de resultados a CENAM.

Con la finalidad de agilizar la evaluación de los datos, el laboratorio participante deberá llenar cuidadosamente los formatos correspondientes. Estos formatos se encuentran en un archivo de Excel *y es importante mencionar que no deben proteger electrónicamente dichos formatos ni hacerles modificaciones, solo las permitidas en ellas.*

Los formatos requeridos se listan en la tabla 2 y el detalle de su llenado se indica en el apartado 8 de este protocolo.

Tabla 2. Lista de formatos necesarios para reportar la información del ensayo de aptitud.

Formato	Información solicitada
1	Custodia de las muestras recibidas
2	Descripción del sistema de medición. Determinación de Alcoholes, Ésteres y Acetaldehído (congéneres de etanol)
2.1	Descripción del sistema de medición Determinación del Contenido alcohólico
3	Descripción de los materiales de referencia o reactivos químicos utilizados
4	Resultados de medición Determinación de Alcoholes, Ésteres y Acetaldehído (congéneres de etanol)
4.1	Resultados de medición Determinación del Contenido alcohólico

Los formatos se encuentran en formato de Excel, se recomienda hacer un respaldo de los archivos correspondientes utilizando cualquier dispositivo periférico para almacenamiento de información (disco duro, USB, etc).

La fecha límite para la recepción de los resultados es el **28 de julio de 2023**; en el informe final del ensayo de aptitud **CNM-EA-630-0007/2023** no serán considerados aquellos resultados que sean enviados en fecha posterior a la establecida.

7.2. Subir archivo de sus resultados a la plataforma de ensayos de aptitud.

El laboratorio participante cuando realizó el pago o su patrocinio y se autorizó el pago recibió un correo electrónico con el asunto: **“Confirmación de participación en el ensayo CNM-EA-630-0007/2023”**

En dicho correo está un enlace para subir un archivo (formato en Excel) con sus resultados (archivo no mayor a 20 MB)

- Debe presionar el botón “Seleccionar archivo” al elegirlo el archivo con sus resultados se guardará automáticamente.
- Posteriormente el enlace cambiará e indicará que pueden descargar ese archivo subido o bien cambiarlo si lo desean haciendo clic en la casilla “Cambiar archivo de resultados”.
- Sólo se les permitirá cambiar el archivo mientras no se haya alcanzado la fecha límite de registro de resultados.

8. Formatos de registro de datos.

8.1. Formato 1: Custodia de las muestras.

Anotar en este formato:

- Fecha de recepción de las muestras.
- El número de código de participación del laboratorio.
- El nombre del laboratorio que recibe.
- El nombre de la persona que recibe las muestras.
- El nombre del responsable de realizar la medición.
- Inspección visual de las muestras recibidas
- Observaciones si las hubiera.

8.2. Formato 2, 2.1: Descripción del sistema de medición.

Formato 2: *Determinación de Alcoholes, Ésteres y Acetaldehído (congéneres de etanol)*

Escriba el nombre del instrumento analítico y los parámetros de operación empleados en la medición de los mensurandos.

Indique si la cuantificación se hizo por el método de estándar interno o estándar externo.

Formato 2.1: *Determinación del contenido alcohólico por densímetro digital.*

Anotar en este formato:

- La descripción del equipo (tipo de densímetro).
- La marca.
- El modelo.
- El No. de serie.
- Si está o no calibrado el instrumento.
- La fecha de calibración.
- Si realiza o no la verificación del equipo.

8.3. Formato 3: Materiales de referencia utilizados y/o reactivos químicos

Escriba los datos de los materiales de referencia certificados, material de referencia, o sustancias químicas utilizadas en la preparación de las disoluciones de calibración de cada mensurando, tales como el disolvente, la fuente o marca comercial, la concentración, las unidades de concentración e incertidumbre. Indique el método de cuantificación utilizado, por ejemplo, calibración con un punto, calibración de dos puntos o "Bracketing" en el idioma inglés, o curva de calibración externa de más de dos puntos, curva de calibración interna de más de dos puntos (en los dos últimos casos especificar el número de puntos de la curva), la concentración o intervalo de concentraciones de las disoluciones de calibración empleadas para la cuantificación de los mensurandos.

8.4. Formato 4, 4.1: Resultados de medición.

Formato 4: *Determinación de Alcoholes, Ésteres y Acetaldehído (congéneres de etanol)*

Escriba para cada mensurando las concentraciones obtenidas en su proceso de medición, considerando el valor de la media calculado a partir de los resultados experimentales, el valor de la incertidumbre y el factor de cobertura utilizado.

Nota 1: es importante informar si hay coelución, y para el caso particular del 3-metil-1-butanol, informar si se está reportando en adición con el 2-metil-1-butanol, debido a problemas de separación, para evitar que salga evaluado como no satisfactorio. Así también si hay coelución del acetato de etilo y el acetal.

Los cálculos reportarse en miligramos de mensurando por 100 mL de muestra (mg/100mL).

Reportar también los resultados en mg/100mL AA si realizó la verificación del contenido alcohólico a las muestras.

Así mismo se presenta una tabla para reportar individualmente las fuentes de incertidumbre y una parte de texto para explicar brevemente las consideraciones que se tomaron para evaluarla. Se recomienda basarse en la NMX-CH-140-IMNC-2002 [5]. Guía para la expresión de incertidumbre en las mediciones.

Formato 4.1: *Determinación del contenido alcohólico por densímetro digital.*

Para cada muestra deberá registrar:

- El número de identificación de la muestra.
- La fecha de medición.
- La densidad medida a 20 °C en mg/mL.
- El contenido alcohólico calculado en % Alc. Vol. [2]

Posteriormente realizar los cálculos para registrar:

- El valor promedio.
- La incertidumbre estándar.
- El factor de cobertura.
- La incertidumbre expandida.

Finalmente describir como realizó la estimación de la incertidumbre.

9. Criterio de evaluación de desempeño.

9.1. Evaluación de Resultados.

- **Zeta (ζ) [4]:**

Para la comparación de los resultados de los laboratorios se utilizará el estadístico de zeta. De acuerdo con la siguiente ecuación:

$$\zeta = \frac{x - X}{\sqrt{u_{lab}^2 + u_{ref}^2}}$$

Donde:

x = resultado del participante

u_{lab} = incertidumbre estándar del resultado del participante

X = valor de referencia asignado por CENAM

u_{ref} = incertidumbre estándar del valor de referencia asignado por CENAM

- **Criterio de evaluación de desempeño [4]:**

El criterio para una evaluación satisfactoria será $|\zeta| \leq 2$.

Con base a este criterio, se considerará que los laboratorios con resultados de ζ igual o inferior a este límite, tienen una competencia técnica aceptable para la medición de este mensurando.

Para facilitar la comprensión de la evaluación de ζ , se usará una gráfica donde el CENAM reportará la ζ en el que se mostraran los niveles de desempeño de los laboratorios participantes, considerando que entre menor sea la zeta (ζ) su desempeño es mejor.

10. Descripción del informe a entregar a los participantes.

10.1. Informe preliminar.

El 18 de agosto del 2023, los participantes podrán descargar el informe preliminar de los resultados, para su revisión. El informe no tendrá nombres, solo la clave de identificación para mantener la confidencialidad de los resultados.

Los laboratorios contarán con una semana para hacer comentarios.

El CENAM analizará los comentarios recibidos, en esta etapa solo se corregirán datos que hayan sido transcritos con algún error o alguna sugerencia en la redacción, previa verificación con los formatos enviados, pero no podrán modificarse por algún otro motivo.

10.2. Informe final.

Cuando esté disponible el informe final, los participantes recibirán un correo con el enlace al mismo sitio de ensayos de aptitud, pero los ubicará en la sección “Informe” donde se les mostrará un enlace para descargar el archivo.

11. Confidencialidad de los resultados del ensayo de aptitud.

Para mantener la confidencialidad respecto a la identificación de los laboratorios participantes, el CENAM asignará códigos que sólo serán conocidos por el laboratorio y por el CENAM.

La aceptación de este protocolo obliga a los participantes en este ensayo a observar la siguiente declaración de confidencialidad:

- i) Ningún laboratorio podrá (directa o indirectamente) comunicar información (total o parcial) de los resultados obtenidos (o alguna otra información relacionada con este ensayo de aptitud) a ningún otro de los participantes del ensayo durante el transcurso de este.
- ii) Ningún laboratorio participante o el CENAM, podrán dar a conocer información sobre los códigos de identificación ni sobre los resultados obtenidos, a otro laboratorio participante, a personal o instituciones ajenas a este ensayo.
- iii) Los eventos que lleguen a presentarse y que no estén contemplados en este protocolo serán evaluados por el CENAM para realizar la acción que mejor corresponda, en beneficio de la confiabilidad del ensayo.
- iv) En caso de requerirlo, se solicitará a los laboratorios su autorización para publicar los resultados del ensayo en publicaciones técnicas, conservando la confidencialidad de los códigos.
- v) El coordinador del CENAM se reserva el derecho a mantener la información codificada de cada participante relacionada en el tiempo, con propósitos de análisis de tendencias, cumpliendo en todo momento con el inciso (ii).

12. Referencias.

[1] **NOM-142-SSA1-2014.** Especificaciones sanitarias. Etiquetado sanitario y comercial.

[2] **NMX-V-005-NORMEX-2018.** Bebidas alcohólicas – Determinación de aldehídos, ésteres, metanol y alcoholes superiores – Métodos de ensayo (Prueba).

[3] **NMX-V-013-NORMEX-2019.** Bebidas alcohólicas - Determinación del contenido alcohólico (Por ciento de alcohol en volumen a 20 °C) (% Alc. Vol.) –Métodos de ensayo (Prueba).

- [4] **NMX-EC-17043-IMNC-2010.** Evaluación de la conformidad- Requisitos generales para los ensayos de aptitud.
- [5] **NMX-CH-140-IMNC-2002** guía para la expresión de incertidumbre en las mediciones.
- [6] **Guía CG 4 EURACHEM / CITAC. QUAM: 2012.P1-ES.** Cuantificación de la Incertidumbre en Medidas Analíticas. Tercera Edición Inglesa. Primera Edición