

PROY-NOM-211-SSA1-2002

PROYECTO DE NORMA OFICIAL MEXICANA, PRODUCTOS Y SERVICIOS. METODOS DE PRUEBA FISICOQUIMICOS. DETERMINACION DE HUMEDAD Y SOLIDOS TOTALES EN ALIMENTOS POR SECADO EN ESTUFA. DETERMINACION DE ARSENICO, CADMIO, COBRE, CROMO, ESTAÑO, HIERRO, MERCURIO, NIQUEL, PLATA, PLOMO, SELENIO Y ZINC EN ALIMENTOS, AGUA Y HIELO APTOS PARA CONSUMO HUMANO, BEBIDAS Y ADITIVOS ALIMENTARIOS POR ESPECTROFOTOMETRIA DE ABSORCION ATOMICA.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Salud.

ERNESTO ENRIQUEZ RUBIO, Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, con fundamento en los artículos 4o. de la Ley Federal de Procedimiento Administrativo; 39 de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 3 fracciones XXII y XXIV, 13 apartado A fracciones I y II, 194 fracción I, 195, 197, 199 y 214 de la Ley General de Salud; 38 fracción II, 40 fracciones I, III, VII, XI y XIII, 41 y 47 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 4, 15 y quinto transitorio del Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios; 28 y 33 del Reglamento de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 2 literal C fracción II, 34 y 36 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Salud, y 2 fracciones II y III, 7 fracción XVI y 11 fracciones I y II del Decreto por el que se crea la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios, me permito ordenar la publicación en el **Diario Oficial de la Federación** del Proyecto Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-211-SSA1-2002, Productos y servicios. Métodos de prueba fisicoquímicos. Determinación de humedad y sólidos totales en alimentos por secado en estufa. Determinación de arsénico, cadmio, cobre, cromo, estaño, hierro, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio y zinc en alimentos, agua y hielo aptos para consumo humano, bebidas y aditivos alimentarios por espectrofotometría de absorción atómica.

El presente Proyecto se publica a efecto de que los interesados, dentro de los siguientes 60 días naturales, contados a partir de la fecha de su publicación, presenten sus comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante el Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, sito en Monterrey número 33, colonia Roma, código postal 06700, México, D.F., correo electrónico rfs@salud.gob.mx.

Durante el plazo mencionado, los documentos que sirvieron de base para la elaboración del proyecto estarán a disposición del público para su consulta en el domicilio del Comité.

PREFACIO

En la elaboración del presente Proyecto de Norma participaron los siguientes organismos e instituciones:

SECRETARIA DE SALUD

Comisión Federal para la Protección Contra Riesgos Sanitarios
Dirección General de Control Sanitario de Productos y Servicios
Laboratorio Nacional de Salud Pública
Dirección General de Salud Ambiental

**DIRECCION GENERAL DE REGULACION SANITARIA DE BIENES Y SERVICIOS DE TLAXCALA
SECRETARIA DE AGRICULTURA, GANADERIA, DESARROLLO RURAL, PESCA Y ALIMENTACION**

Dirección General de Salud Animal
PROCURADURIA FEDERAL DEL CONSUMIDOR

Dirección General de Investigación
UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

Facultad de Química

LICONSA, S.A. DE C.V.

BUFETE QUIMICO, S.A. DE C.V.

CENTRO DE CONTROL TOTAL DE CALIDADES, S.A. DE C.V.

AMERICAN QUALITY LAB, S.A. DE C.V.

SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACION Y CERTIFICACION, S.C. NORMEX

INDICE

1. Objetivo y campo de aplicación
2. Referencias

3. Definiciones
4. Símbolos y abreviaturas
5. Determinación de humedad y sólidos totales
6. Determinación de arsénico, cadmio, cobre, cromo, estaño, hierro, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio y zinc
7. Concordancia con normas internacionales
8. Bibliografía
9. Observancia de la Norma

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1 Esta Norma Oficial Mexicana establece el procedimiento para determinar la humedad y sólidos totales por secado en estufa y es aplicable a alimentos en general, con excepción de aquéllos en los que se requiera de una metodología específica, de acuerdo con el tipo de producto.

1.2. Esta Norma Oficial Mexicana establece los métodos de prueba por espectrofotometría de absorción atómica para la determinación de:

1.2.1 Arsénico, cadmio, cobre, fierro, mercurio, níquel, plomo, estaño y zinc en alimentos.

1.2.2 Arsénico, cobre, plomo y zinc en bebidas alcohólicas.

1.2.3 Arsénico, cadmio y plomo en bebidas no alcohólicas.

1.2.4 Arsénico, cromo, mercurio y plomo en aditivos alimentarios.

1.2.5 Arsénico, cadmio, níquel, plata, plomo y selenio en agua y hielo aptos para consumo humano.

1.3. Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en el territorio nacional para las personas físicas o morales que requieran efectuar este método en productos nacionales o de importación, para fines oficiales.

2. Referencias

NOM-008-SCFI-1993, Sistema General de Unidades de Medida.

3. Definiciones

Para fines de esta Norma se entiende por:

3.1 Blanco de calibración del instrumento, a la solución usada como diluyente del elemento de interés.

3.2 Blanco de reactivos, a la solución que contiene todos los reactivos en los mismos volúmenes y concentraciones usados en el procesamiento de la muestra. Este blanco debe seguir los mismos pasos de digestión y preparación de la muestra.

3.3 Blanco de reactivos fortificado, a la solución que se prepara a partir de una alícuota del blanco de reactivos, añadiendo una alícuota de la solución patrón concentrada "solución madre", para dar una concentración final que produzca una absorbancia aceptable en el intervalo lineal para el analito de interés. El blanco de reactivos fortificado debe seguir los mismos pasos de digestión y preparación de la muestra.

3.4 Espectrofotometría, a la rama de la espectrometría relacionada con la medición de espectros fotométricos.

3.5 Espectrofotometría de absorción atómica, a la rama de la espectrometría en la cual un elemento es atomizado a su estado basal que permita la medición de su espectro de absorción.

3.6 Espectrofotometría de absorción atómica por flama, al método que utiliza una flama a alta temperatura (aire acetileno y óxido nitroso) como fuente de energía para disociar la muestra en sus átomos en su estado basal.

3.7 Espectrofotometría de absorción atómica por horno de grafito, al método que emplea un horno de inducción eléctrica como fuente de energía para la disociación de la muestra en átomos en su estado basal.

3.8 Espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros, al método en el cual la muestra es tratada químicamente con un agente reductor (borohidruro de sodio), para convertir al analito en un hidruro volátil. El hidruro es disociado en una celda caliente para producir átomos en su estado basal.

3.9 Espectrofotometría de absorción atómica por vapor frío, al método en el cual la muestra se hace reaccionar con un reductor fuerte (cloruro estanoso o borohidruro de sodio) para convertir al mercurio presente a su forma elemental.

3.10 Humedad, a la pérdida en peso por evaporación que sufre el producto al someterlo a las condiciones prescritas.

3.11 Método de adición de estándar interno, al método que implica la adición de estándares a la muestra para compensar desviaciones por efectos de matriz.

3.12 Método de prueba, al procedimiento técnico utilizado para la determinación de una o varias características de un producto, proceso o servicio.

3.13 Muestra de control de calidad, a la muestra externa al laboratorio, que contiene una alícuota de concentración conocida del metal de interés, cuyos valores de absorbancia deben estar comprendidos en el intervalo lineal del método.

3.14 Muestra fortificada, a la muestra a la cual se le adiciona una alícuota de concentración conocida del metal, de tal forma que la solución resultante tenga una absorbancia en el intervalo lineal.

3.15 Peso constante, al peso de un material que después de haber sido sometido a tratamiento de secado no varíe en más de 0,0005 g entre al menos dos pesadas.

3.16 Producto heterogéneo, a aquel cuya consistencia o diferentes fases hacen que la distribución de sus componentes no sea homogénea, tales como sopas de lata, frijoles refritos, moles, etc.

3.17 Sólidos totales, al residuo que se obtiene al evaporar el agua contenida en un producto.

4. Símbolos y abreviaturas

Cuando en esta Norma se haga referencia a los siguientes símbolos y abreviaturas se entiende por:

As	Arsénico
Cd	Cadmio
cm	Centímetro
Cu	Cobre
Cr	Cromo
EAA	espectrofotometría de absorción atómica
Sn	Estaño
°C	grados Celsius
g	Gramo
Fe	Hierro
kg	Kilogramo
lb	Libra
LDI	límite de detección del instrumento
LDM	límite de detección del método
L	Litro
Hg	Mercurio
µg	Microgramo
µmho	Micromho
mg	Miligramo
mL	Mililitro
mm	Milímetro
M	Molar
MCC	muestra de control de calidad
nm	Nanómetro

Ni	Níquel
N	Normal
p/p	peso a peso
p/v	peso a volumen
Ag	Plata
Pb	Plomo
%	por ciento
RA	reactivo analítico
seg	Segundo
Se	Selenio
v/v	volumen a volumen
Zn	Zinc

5. Determinación de humedad y sólidos totales

5.1 Principio del método

La muestra se calienta a $100 \pm 2^\circ\text{C}$ durante un periodo de 2 a 4 horas, la pérdida de peso se reporta como humedad. De acuerdo con la naturaleza de la muestra, ésta se pesa directamente sobre la cápsula o se distribuye sobre una cama de gasa o arena lo cual incrementa la superficie de contacto y la circulación del aire, favoreciéndose así la evaporación durante el tratamiento térmico.

5.2 Equipo

5.2.1. Baño María o placa de calentamiento con control de temperatura.

5.2.2. Balanza analítica con sensibilidad de $\pm 0,1$ mg.

5.2.3. Estufa con control de temperatura para mantener en un intervalo de $100 \pm 2^\circ\text{C}$.

5.3 Materiales

5.3.1. Desecador con desecante activo.

5.3.2. Cápsulas de níquel, aluminio o vidrio sin tapa o con tapa que embone bien, de dimensiones adecuadas al tamaño de la muestra, con base cóncava o plana según se requiera.

5.3.3. Varillas de vidrio de aproximadamente 4 mm de diámetro.

5.3.4. Pinzas para crisol.

5.3.5. Gasa.

5.3.6. Material común de laboratorio.

5.4 Reactivos

Todos los reactivos deben ser grado analítico a menos que se indique otra especificación y por agua se entiende agua destilada.

5.4.1. Sílica gel con indicador de humedad u otro desecante equivalente.

5.4.2. Arena de mar purificada con ácido clorhídrico al 50% en ebullición y lavado con agua hasta eliminación de cloruros o comercialmente purificada.

5.5 Preparación de la muestra

Homogeneizar la muestra antes de tomarla, si es necesario colocar el envase original en baño María a no más de 40°C para incorporar los componentes que hayan podido separarse (por ejemplo grasas y fibras).

5.6 Procedimiento

5.6.1 Preparación de las cápsulas.

5.6.1.1 Cuando la muestra se pesa directamente, las cápsulas deben ponerse a peso constante.

5.6.1.2 En caso de que se requiera, colocar en las cápsulas un máximo de 30 g de arena dependiendo de las características de la muestra, o bien, un pedazo de gasa recortada al tamaño del fondo de éstas, y cuando sea necesario una varilla de vidrio de longitud apropiada para reposar oblicuamente en la cápsula sin que se impida el tapado de ésta.

5.6.1.3 Poner a peso constante secando en la estufa, las cápsulas entreabiertas durante un mínimo de 2 horas a $100 \pm 2^\circ\text{C}$, taparlas e introducir en un desecador. Dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar con precisión de 0,1 mg (M1).

5.6.1.4 Para cada muestra preparar las cápsulas por duplicado.

5.6.2 Procedimiento con la muestra

5.6.2.1 Pesar hasta 10 g de la muestra en la cápsula preparada, tapar y pesar con precisión de 0,1 mg (M2). Para que se cumpla el grado de precisión, utilizar una cantidad de muestra superior a 1 g y en los productos heterogéneos utilizar de 3 a 5 veces más de la cantidad mínima propuesta.

5.6.2.2 Si es el caso, después de pesar, mezclar bien la muestra con la arena o colocarla sobre la gasa. Si es necesario, añadir unos cuantos mililitros de agua destilada, lo cual facilita una mezcla uniforme.

5.6.2.3 Si la muestra lo requiere, evaporar a sequedad y sin tapa, por medio de un baño María a ebullición o placa de calentamiento a un máximo de 100°C . Durante la evaporación, el contenido de la cápsula debe removerse de vez en cuando al principio y más a menudo al final. Evitar las pérdidas de producto.

5.6.2.4 Introducir las cápsulas en la estufa con la muestra previamente evaporada. Colocar las tapas de manera que al final del tiempo de secado puedan taparse rápidamente. Cerrar la estufa y secar entre 2 a 4 horas a $100^\circ \pm 2^\circ\text{C}$ hasta alcanzar el peso constante. Abrir la estufa, tapar las cápsulas y colocarlas en el desecador. Dejar enfriar hasta temperatura ambiente y pesar con precisión de 0,1 mg (M3).

5.7 Expresión de resultados

Cálculos

5.7.1 Porcentaje de humedad

$$\% \text{ de humedad} = \frac{M2 - M3}{M2 - M1} \times 100$$

En donde:

M1 = Peso de la cápsula con o sin arena o gasa (g)

M2 = Peso de la cápsula con o sin arena o gasa más muestra húmeda (g)

M3 = Peso de la cápsula con o sin arena o gasa más muestra seca (g)

5.7.2 Porcentaje de sólidos totales

$$\% \text{ sólidos totales} = 100 - \% \text{ humedad}$$

Nota: Indicar el valor medio de la determinación por duplicado y con dos decimales como cifras significativas.

5.8 Informe de la prueba

% de humedad
% sólidos totales

6. Determinación de arsénico, cadmio, cobre, cromo, estaño, hierro, mercurio, níquel, plata, plomo, selenio y zinc

6.1 Principio del método

La propiedad que tienen los elementos en su estado atómico basal de absorber radiación electromagnética emitida por una fuente constituida por el mismo elemento de tal manera que al hacer pasar un haz de luz monocromática de una frecuencia específica pueda ser absorbido por el analito que se encuentra presente. La cantidad de radiación absorbida es proporcional a la concentración de los átomos de acuerdo a la Ley de Lambert-Beer.

6.2 Equipo

6.1.1 Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con:

6.1.1.1 Sistema de atomización por flama directa.

6.1.1.2 Horno de grafito.

6.1.1.3 Sistema generador de hidruros y vapor frío.

6.1.1.4 Sistema de corrector de fondo (Deuterio, Zeeman o Smith-Hieftje).

6.1.1.5 Automuestreador, aspiración o inyección manual.

6.1.1.6 Sistema de lectura directa, digital o analógica, registrador o sistema de datos apropiado para el control del instrumento.

6.1.2 Fuente de radiofrecuencia en caso de usar lámparas de descarga sin electrodos.

6.1.3 Horno de digestión por microondas.

6.1.4 Balanza analítica con sensibilidad de 0,1 mg.

6.1.5 Mufia.

6.1.6 Parrilla de calentamiento con control de temperatura.

6.1.7 Autoclave que alcance las 15 lb de presión u horno de calentamiento.

6.3 Materiales

6.3.1 Lámparas de cátodo hueco o de descarga sin electrodos para determinar Ag, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Se, Sn y Zn.

6.3.2 Tubos de grafito pirolizados.

6.3.3 Vasos para digestión de teflón. Enjuagar con acetona, lavar con agua desionizada, y mantener los vasos cubiertos con una solución de ácido nítrico 1 M por al menos 30 minutos. Enjuagar con agua desionizada y secar.

6.3.4 Matraces volumétricos de 10, 25, 50, 100, 250 y 1000 mL.

6.3.5 Matraces apropiados para el generador de hidruros.

6.3.6 Recipientes y tapas de plástico.

6.3.7 Micropipeta o dosificador.

6.3.8 Matraces Kjeldahl.

6.3.9 Sistema de reflujo con refrigerante.

6.3.10 Bombas Parr (opcionales).

6.3.11 Crisoles o cápsulas adecuados.

6.3.12 Material común de laboratorio.

Lavar todo el material de vidrio y plástico primero con agua y detergente. En seguida enjuagar con agua de la llave y después con agua destilada. Sumergir en un recipiente que contenga una solución de ácido nítrico al 30%. Tapar y dejar en reposo por un lapso de 24 horas. Quitar el exceso de ácido nítrico con varios enjuagues (5 o 6 veces) de agua desionizada. Dejar escurrir y secar.

6.4 Reactivos

Todos los reactivos deben ser grado suprapuro o su equivalente a menos que se indique otra especificación y por agua se entiende agua desionizada o tridestilada.

6.4.1 Soluciones patrón de referencia certificadas de Ag, As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Se, Sn y Zn a una concentración de 1000 mg/L.

- 6.4.2** Acido nítrico concentrado, 65% p/p (HNO_3).
- 6.4.3** Peróxido de hidrógeno al 30% p/p (H_2O_2).
- 6.4.4** Acido sulfúrico concentrado, 96% p/p (H_2SO_4).
- 6.4.5** Acido clorhídrico concentrado, 37% p/p (HCl).
- 6.4.6** Fosfato monobásico de amonio RA ($(\text{NH}_4)\text{H}_2\text{PO}_4$).
- 6.4.7** Nitrato de magnesio hexahidratado RA ($\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$).
- 6.4.8** Borohidruro de sodio RA (NaBH_4).
- 6.4.9** Cloruro de potasio RA (KCl).
- 6.4.10** Permanganato de potasio RA (KMnO_4).
- 6.4.11** Cloruro estanoso (SnCl_2).
- 6.4.12** Yoduro de potasio (KI).
- 6.4.13** Modificador de matriz.

Pesar 10 g de fosfato monobásico de amonio y 0,5 g de nitrato de magnesio en un matraz volumétrico de 200 mL, disolver y llevar al volumen con agua.

- 6.4.14** Solución de nitrato de magnesio al 7% p/v.

Pesar 7 g de nitrato de magnesio y mezclar con 100 mL de ácido clorhídrico 1 N.

- 6.4.15** Acido clorhídrico 1 N.

Medir 8,3 mL de HCl y llevar a 100 mL con agua.

- 6.4.16.** Solución de ácido nítrico al 50% v/v.

Diluir 50 mL de HNO_3 concentrado en 50 mL de agua.

- 6.4.17** Solución de nitrato de magnesio al 50% p/v.

Pesar 50 g de nitrato de magnesio y mezclar con 100 mL de ácido clorhídrico 1 N.

- 6.4.18** Solución de ácido clorhídrico 0,5 N.

Diluir 4,15 mL de HCl y llevar a 100 mL con agua.

- 6.4.19** Solución de cloruro de potasio de 10 mg de K/mL.

Pesar 1,91 g de KCl y llevar a un volumen de 100 mL con agua.

- 6.4.20** Solución de permanganato de potasio al 5 % p/v.

Pesar 5 g de KMnO_4 y mezclar con 100 mL de agua.

- 6.4.21** Solución reductora.

Preparar de acuerdo con el manual de operación del equipo.

- 6.4.22** Solución de ácido nítrico al 2% v/v.

Agregar lentamente 2 mL de ácido nítrico concentrado a 100 mL de agua.

- 6.4.23** Aire comprimido seco y limpio.

- 6.4.24** Acetileno grado absorción atómica.

- 6.4.25** Oxido nitroso grado absorción atómica.

- 6.4.26** Argón grado absorción atómica.

- 6.4.27** Nitrógeno grado absorción atómica.

- 6.5** Preparación de la muestra.

- 6.5.1** Digestión por microondas para la determinación de As, Cd, Cr, Cu, Fe, Hg, Ni, Pb, Sn y Zn.

- 6.5.1.1** Pesar en un vaso de digestión como máximo 0,5 g de muestras secas y de 5 a 10 g de muestras líquidas.

6.5.1.2 Adicionar 5 mL de ácido nítrico concentrado y 2 mL de peróxido de hidrógeno al 30%. Tapar los vasos y colocarlos en el horno de microondas.

6.5.1.3 Fijar el programa de calentamiento del horno de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

6.5.1.4 Sacar los vasos del horno y dejar enfriar a temperatura ambiente. Transferir la solución digerida a un matraz volumétrico adecuado y llevar al volumen con agua.

6.5.2. Muestras de hielo y agua.

Fundir las muestras de hielo. Las muestras pueden analizarse directamente sin digestión. Previo a dicho análisis, adicionar 1 mL de ácido nítrico concentrado por cada 100 mL de muestra.

6.5.3 Digestión por vía húmeda para la determinación de Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb y Zn.

6.5.3.1 Pesar como máximo 40 g de jugo o bebida, 20 g de alimentos que contengan de 50 al 75% de agua y 10 g de alimentos sólidos o semisólidos. Limitar el contenido de grasa o aceite a un máximo de 4 g y el total de materia orgánica a 5 g.

6.5.3.2 Añadir 10 mL de ácido nítrico concentrado y dejar reposar toda la noche o iniciar directamente la digestión, dependiendo del comportamiento de la muestra.

6.5.3.3 Digerir en un sistema Kjeldahl o en un sistema de reflujo refrigerante e iniciar el calentamiento gradualmente para evitar pérdidas de muestra.

6.5.3.4 Digerir la muestra durante 3 horas o más tiempo si es necesario (algunas muestras requieren la adición de mayor cantidad de ácido nítrico) hasta que la solución sea traslúcida. Si esto no sucede, adicionar peróxido de hidrógeno gota a gota con agitación continua hasta lograr una solución traslúcida.

6.5.3.5 Enfriar, filtrar y llevar a un volumen conocido con agua.

6.5.4 Digestión por vía seca para la determinación de Cu, Fe, Cr, Ni y Zn.

6.5.4.1 Pesar en un crisol o cápsula como máximo 40 g de jugo o bebida, 20 g de alimentos que contengan del 50 al 75% de agua y 10 g de alimentos sólidos o semisólidos. Limitar el contenido de grasa o aceite a un máximo de 4 g y el total de materia orgánica a 5 g.

6.5.4.2 Añadir 10 mL de ácido nítrico concentrado y dejar reposar toda la noche o iniciar directamente la digestión dependiendo del comportamiento de la muestra. En productos con alta concentración de proteínas adicionar una solución de nitrato de magnesio al 7% p/v y mezclar completamente. Llevar a sequedad aproximadamente durante 6 horas en estufa a una temperatura de 90-95°C.

6.5.4.3 Colocar la muestra en mufla y elevar la temperatura lentamente de 2 a 4°C por minuto hasta 350°C. Mantener la temperatura hasta que cesen los humos.

6.5.4.4 Elevar gradualmente la temperatura hasta 500 a 550°C para evitar que la muestra se incinere y mantener esta temperatura durante 16 horas o toda la noche.

6.5.4.5 Un segundo paso de calcinación puede ser requerido para remover algunos residuos, para ello lavar las paredes del crisol con 2 mL de ácido nítrico al 50%. Colocar la muestra en una parrilla de calentamiento a 120°C para remover el exceso de ácido y hasta la eliminación de vapores. Colocar la muestra en mufla fría y elevar la temperatura gradualmente hasta 500 a 550°C, manteniéndola por el tiempo necesario. Repetir este procedimiento cuantas veces sea necesario hasta que la muestra quede libre de carbón remanente.

6.5.4.6 Disolver las cenizas completamente en ácido clorhídrico 1 N. Transferir la muestra disuelta a un matraz volumétrico adecuado, enjuagando el crisol con dos porciones de 5 mL de ácido clorhídrico 1 N. Adicionar los enjuagues al matraz y llevar al volumen con agua.

6.5.5 Digestión por vía húmeda para la determinación de Sn.

6.5.5.1 Pesar en un matraz Erlenmeyer como máximo 40 g de jugo o bebida, 20 g de alimentos que contengan del 50 al 75% de agua y 10 g de alimentos sólidos o semisólidos. Limitar el contenido de grasa o aceite a un máximo de 4 g y el total de materia orgánica a 5 g.

6.5.5.2 Adicionar 30 mL de ácido nítrico concentrado y calentar suavemente por 15 minutos en campana, evitando una excesiva producción de espuma. No adicionar ácido nítrico si no se lleva a cabo la digestión total el mismo día.

6.5.5.3 Calentar a ebullición suavemente hasta obtener un remanente de 3 a 6 mL o hasta que la muestra comience a secarse en el fondo del matraz. Evitar que la muestra se calcine.

6.5.5.4 Retirar del calor y adicionar 25 mL de ácido clorhídrico concentrado, calentar suavemente durante 15 minutos, para que se libere la mayoría de ácido clorhídrico. Aumentar la temperatura gradualmente hasta ebullición.

6.5.5.5 Evaporar hasta obtener un volumen de 10 a 15 mL.

6.5.5.6 Adicionar 40 mL de agua, agitar y pasar a un matraz volumétrico de 100 mL. Enjuagar con 10 mL de agua.

6.5.5.7 Agregar 1 mL de solución de cloruro de potasio y enfriar a temperatura ambiente. Llevar al volumen con agua. Mezclar y filtrar a través de papel filtro Whatman número 2 o equivalente, recibiendo el filtrado en recipientes de polipropileno.

6.5.6 Digestión por vía húmeda para la determinación de Hg.

6.5.6.1 Pesar una cantidad apropiada de muestra en un matraz de digestión y adicionar perlas de ebullición. Conectar el matraz al sistema de reflujo y agregar poco a poco la cantidad necesaria de ácido nítrico concentrado. Calentar durante media hora o hasta que no se observen cambios en la digestión.

6.5.6.2 Dejar enfriar y agregar una mezcla de ácido nítrico-ácido sulfúrico (1+1).

6.5.6.3 Calentar y agregar ácido nítrico gota a gota por las paredes del recipiente hasta que la coloración oscura de la solución desaparezca. Enfriar.

6.5.6.4 Si existe grasa o cera filtrar la solución, recibiendo el filtrado en un matraz volumétrico apropiado y llevar al volumen con agua.

6.5.7 Digestión por vía húmeda para la determinación de As.

6.5.7.1 Pesar una cantidad apropiada de muestra en un matraz de digestión o matraz Erlenmeyer con tapón de rosca, adicionar la cantidad apropiada de ácido nítrico, cerrar el recipiente y calentar en autoclave a 15 lb por 30 minutos, en horno a 150°C durante 2 horas o si se utiliza bomba Parr en parrilla a un máximo de 300°C durante 30 minutos.

6.5.7.2 En caso de que la digestión no sea completa adicionar peróxido de hidrógeno y repetir la digestión.

6.5.7.3 Enfriar en campana de extracción. Filtrar en caso de que exista grasa o cera y transferir el contenido a un matraz volumétrico apropiado. Enjuagar el matraz de digestión o Erlenmeyer con agua y adicionar al matraz volumétrico. Llevar al volumen con agua.

6.5.8 Digestión por vía seca para la determinación de As.

6.5.8.1 Pesar una cantidad apropiada de muestra en un crisol o cápsula. Añadir un volumen adecuado de nitrato de magnesio al 50% p/v.

6.5.8.2 Homogeneizar con una varilla limpia extendiendo la mezcla en el crisol o cápsula.

6.5.8.3 Colocar la muestra en la mufla aumentando gradualmente la temperatura hasta 300°C por 2 horas. Posteriormente aumentar hasta 500°C por 16 horas o durante toda la noche.

6.5.8.4 Enfriar a temperatura ambiente y humedecer las cenizas con ácido nítrico al 50% v/v. Calentar en parrilla hasta la eliminación de la mayor parte del ácido.

6.5.8.5 Llevar los crisoles o cápsulas a una mufla elevando gradualmente la temperatura a 500°C y manteniendo ésta durante 30 minutos hasta evaporación total.

6.5.8.6 Transferir las cenizas a un matraz volumétrico adecuado usando una porción de 10 mL de ácido clorhídrico 0,5 N.

6.5.8.7 Enjuagar con agua y transferir al matraz volumétrico, añadir 1 mL de solución de yoduro de potasio al 15%. Dejar reposar durante 15 minutos y llevar al volumen con agua.

Nota: Para el caso de bebidas alcohólicas, después de adicionar el ácido permitir la reacción por 15 minutos o más dependiendo del comportamiento de la muestra antes de comenzar la digestión.

6.6 Procedimiento

6.6.1 Determinación de Cd, Cr, Cu, Fe, Ni, Pb, Sn y Zn. EAA por flama directa.

6.6.1.1 Preparación de las curvas patrón.

Preparar un blanco y al menos 3 diluciones de la solución patrón para cada metal, en el intervalo lineal de trabajo utilizar ácido nítrico al 2% para hacer las diluciones.

Nota: Las soluciones patrón de Sn deben contener 1 mL de solución de cloruro de potasio por cada 100 mL.

6.6.1.2 Determinación.

6.6.1.2.1 Dejar estabilizar el equipo y fijar las condiciones para cada metal de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Utilizar como guía el siguiente cuadro:

Elemento	Longitud de onda (nm)	Mezcla de gases
Cd	228,8	Aire/acetileno
Cr	357,9	Aire/acetileno
Cu	324,7	Aire/acetileno
Fe	248,3	Aire/acetileno
Ni	232,0	Aire/acetileno
Pb	217,3 o 283,3	Aire/acetileno
Sn	235,5	Oxido nitroso/acetileno
Zn	213,8	Aire/acetileno

6.6.1.2.2 Ajustar el instrumento a 0 de absorbancia con el blanco de calibración. Aspirar las soluciones patrón de calibración del analito de menor a mayor concentración y registrar al menos dos réplicas de la absorbancia de cada uno.

6.6.1.2.3 Elaborar una curva de calibración, graficando la absorbancia en función de la concentración de cada metal. Ajustar la curva por medio de mínimos cuadrados (regresión lineal).

6.6.1.2.4 Lo anterior puede llevarse a cabo en equipos que se programan directamente, en los cuales sólo es necesario introducir los estándares y marcar su concentración teórica.

6.6.1.2.5 Aspirar las muestras preparadas en 6.5.1, 6.5.3, 6.5.4 o 6.5.5 y registrar la absorbancia de cada una ellas. Calcular la concentración de cada metal a partir de la curva de calibración correspondiente. Se debe analizar al menos un blanco de reactivos con cada lote de muestras.

6.6.1.2.6 Asegurarse de que las concentraciones de las muestras caen dentro del intervalo de calibración de la curva patrón. De no ser así, efectuar la dilución correspondiente y volver a analizar.

Nota: Esta metodología no aplica para la determinación de Cd y Pb cuando las muestras son digeridas por horno de microondas.

6.6.2 Determinación de Cd y Pb. EAA por horno de grafito.

6.6.2.1 Preparación de las curvas patrón.

6.6.2.1.1 Preparar un blanco y al menos 3 diluciones de la solución patrón para cada metal, en el intervalo lineal de trabajo. Utilizar ácido nítrico al 2% para hacer las diluciones.

6.6.2.1.2 Si es necesario agregar la cantidad apropiada de modificador de matriz a cada solución.

6.6.2.2 Determinación.

6.6.2.2.1 Montar y alinear el horno de grafito y fijar las condiciones adecuadas para cada metal de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Utilizar como guía una longitud de onda de 217,3 o 283,3 nm para Pb y de 228,8 nm para Cd.

6.6.2.2.2 Seleccionar el programa de temperaturas de secado, quemado y atomización del horno de grafito de acuerdo con las instrucciones del manual del equipo.

6.6.2.2.3 Ajustar el instrumento a 0 de absorbancia con el blanco de calibración. Inyectar un volumen adecuado (el cual debe ser el mismo para cada solución patrón) de menor a mayor concentración y registrar al menos dos réplicas de la absorbancia de cada uno. Seguir con lo establecido en 6.6.1.2.3 y 6.6.1.2.4.

6.6.2.2.4 De ser necesario agregar a la solución digerida en 6.5.1 o 6.5.3, el modificador de matriz en la misma cantidad utilizada en las soluciones patrón.

6.6.2.2.5 Inyectar un volumen de la muestra. Utilizar el mismo volumen que las soluciones patrón.

6.6.2.2.6 Registrar la absorbancia de cada una ellas. Calcular la concentración de cada metal a partir de la curva de calibración correspondiente. Analizar un blanco de reactivos y una muestra fortificada con cada lote de muestras.

6.6.2.2.7 Asegurarse de que las concentraciones de las muestras caen dentro del intervalo de calibración de la curva patrón. De no ser así, efectuar la dilución correspondiente y volver a analizar.

6.6.3 Determinación de As y Se. EAA por generador de hidruros.

6.6.3.1 Preparación de la curva patrón.

6.6.3.1.1 Preparar un blanco y al menos 3 soluciones patrón en el intervalo lineal de trabajo.

6.6.3.1.2 Antes de aforar adicionar la solución reductora de acuerdo con el manual del fabricante. Dejar reposar ≥ 30 minutos y llevar al volumen con agua.

6.6.3.2 Determinación.

6.6.3.2.1 Conectar el generador de hidruros al espectrofotómetro y ajustar la longitud de onda, la celda, el flujo de gases y tiempos de purga de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

6.6.3.2.2 Ajustar a 0 de absorbancia con el blanco de calibración y optimizar la respuesta del instrumento con la solución patrón establecida en el manual de operación del equipo.

6.6.3.2.3 Llevar a cabo la reacción para la formación de hidruros con cada una de las soluciones patrón de menor a mayor concentración y registrar al menos dos réplicas de la absorbancia de cada uno.

6.6.3.2.4 Elaborar una curva de calibración, graficando la absorbancia en función de la concentración de As. Ajustar la curva por medio de mínimos cuadrados (regresión lineal).

6.6.3.2.5 Lo anterior puede llevarse a cabo en equipos que se programan directamente, en los cuales sólo es necesario introducir los estándares y marcar su concentración teórica.

6.6.3.2.6 Analizar las muestras digeridas en 6.5.1, 6.5.7 o 6.5.8 o la preparada en 6.5.2 de la misma forma que las soluciones patrón. Analizar un blanco de reactivos con cada lote de muestras.

6.6.3.2.7 Asegurarse de que las concentraciones de las muestras caen dentro del intervalo de calibración de la curva patrón. De no ser así, repetir la determinación con una alícuota más pequeña.

6.6.4 Determinación de Hg. EAA por vapor frío.

6.6.4.1 Preparación de la curva de calibración.

6.6.4.1.1 Preparar un blanco y al menos 3 soluciones patrón en el intervalo lineal de trabajo. Utilizar ácido nítrico al 2% para hacer las diluciones.

6.6.4.1.2 Agregar de 2 a 3 gotas de permanganato de potasio al 5% p/v y leer en el equipo.

6.6.4.2 Determinación.

6.6.4.2.1 Ajustar la longitud de onda, la celda, el flujo del gas y tiempos de purga de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

6.6.4.2.2 Continuar con lo establecido en los numerales 6.6.3.2.2 a 6.6.3.2.5.

6.6.4.2.3 Transferir una alícuota apropiada de la muestra digerida en 6.5.1 o 6.5.6 en un matraz de digestión. Ajustar a un volumen de 100 mL y airear de la misma forma que las soluciones patrón. Analizar un blanco de reactivos con cada lote de muestras.

6.6.4.2.4 Asegurarse de que las concentraciones de las muestras caen dentro del intervalo de calibración de la curva patrón. De no ser así, repetir la determinación con una alícuota más pequeña.

6.6.5 Determinación de Ag, As, Cd, Ni, Pb y Se en agua y hielo. EEA por horno de grafito.

6.6.5.1 Preparación de las curvas patrón.

Preparar un blanco y al menos 3 diluciones de la solución patrón en el intervalo lineal de trabajo. Utilizar ácido nítrico al 2% para efectuar las diluciones.

6.6.5.2 Determinación.

6.6.5.2.1 Montar y alinear el horno de grafito y fijar las condiciones adecuadas para cada metal de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Utilizar como guía las siguientes longitudes de onda:

Elemento	Longitud de onda (nm)
Ag	328,1
As	193,7
Cd	228,8
Ni	232,0
Pb	217,3 o 283,3
Se	196,0

6.6.5.2.2 Proceder como en 6.6.2.2.2 a 6.6.2.2.7 utilizando la muestra preparada en 6.5.2.

6.6.6 Método de las adiciones estándar.

Este método aplica en caso de existir interferencias de matriz (lo cual se manifiesta por una recuperación del analito fuera del intervalo de 85-115%).

6.6.6.1 Adicionar volúmenes iguales de la muestra digerida en matraces volumétricos adecuados. Agregar al menos 3 diferentes cantidades de solución patrón del metal de interés y diluir al volumen con agua. Alternativamente se pueden tomar 3 alícuotas de la solución patrón y llevar al volumen con la muestra. De preferencia utilizar las concentraciones de las soluciones patrón del intervalo lineal de trabajo. Preparar un blanco de muestra.

6.6.6.2 Efectuar la determinación del metal. Graficar la absorbancia en función de la concentración.

6.6.6.3 Interceptar la línea de calibración con el eje de las "x" (eje de las concentraciones). El valor de la intersección en términos absolutos, es la concentración del analito en la muestra original.

6.6.6.4 Los criterios que se siguen son:

- Si no existe interferencia en la muestra, la gráfica obtenida por el método de las adiciones será paralela a la obtenida con las soluciones patrón en medio acuoso.
- En cambio, si existe interferencia, la pendiente de la gráfica obtenida por el método de las adiciones será diferente.

6.6.7 Verificación del desempeño del instrumento.

6.6.7.1 Sensibilidad.

Para verificar la sensibilidad del equipo leer mínimo 5 veces un estándar del analito de interés a la concentración recomendada por el fabricante. El valor de absorbancia debe ser aproximadamente de 0,2 unidades por absorción directa.

6.6.7.2. Repetibilidad o precisión.

Analizar el estándar de verificación de la sensibilidad del instrumento recomendado por el fabricante para el analito de interés. Leer un mínimo de cinco veces y calcular el por ciento de desviación estándar (% RSD) el cual debe ser menor a 5%.

6.6.7.3 Límite de detección.

Analizar ≥ 20 blancos de reactivos para cada metal y calcular la desviación estándar (s) de las mediciones. Calcular el LDI como sigue:

$$LDI = 3 \cdot s$$

6.6.7.4 Exactitud.

Después de la calibración del equipo, analizar una muestra de control de calidad. Si las mediciones varían en $\pm 10\%$ o más, con respecto al valor establecido para la MCC, el análisis debe interrumpirse y buscar la posible causa. Recalibrar el instrumento y verificar con la nueva calibración.

6.6.7.5 Para verificar que el instrumento no presenta deriva, por cada 10 muestras o menos analizar un blanco fortificado o la MCC cuya concentración para el analito de interés debe estar en el intervalo lineal de trabajo. Si el valor verdadero del analito difiere $\pm 10\%$, el instrumento debe recalibrarse. En equipos que se pueden programar directamente, introducir el estándar de recalibración.

6.6.8 Verificación del desempeño del método.

6.6.8.1 Límite de detección (LDM) y cuantificación (LCM).

Analizar 10 veces la solución patrón de menor concentración del intervalo lineal de trabajo. Analizar a su vez 10 veces el blanco de reactivos. Obtener las lecturas corregidas y calcular la media y la desviación estándar de éstas.

Aplicar las siguientes ecuaciones:

$$\text{LDM} = \frac{3 \times \text{concentración de la solución patrón} \times \text{desviación estándar}}{\text{media}}$$

$$\text{LCM} = \frac{10 \times \text{concentración de la solución patrón} \times \text{desviación estándar}}{\text{media}}$$

6.6.8.2 Porcentaje de recuperación.

Fortificar una muestra por cada lote de muestras. La concentración añadida debe dar una lectura en el intervalo lineal de trabajo. Efectuar el método analítico completo y calcular el por ciento de recuperación del analito como sigue:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{\text{CM} - \text{C}}{\text{CA}} \times 100$$

Donde:

CM = Concentración de la muestra fortificada.

C = Concentración de la muestra.

CA = Concentración equivalente del metal añadido a la muestra.

Si la recuperación del analito está fuera del intervalo de 85 a 115% efectuar el análisis por el método de las adiciones estándar.

6.7 Expresión de resultados

6.7.1. Cálculos.

Para alimentos, bebidas alcohólicas y no alcohólicas y aditivos.

$$\text{mg metal/kg} = \frac{(A - B) \cdot V}{M}$$

Para agua y hielo

$$\mu\text{g metal/L} = (A - B)$$

A = concentración del metal en la muestra leído directamente del instrumento o de la curva de calibración.

B = concentración del metal en el blanco de reactivos del instrumento leído directamente del instrumento o de la curva de calibración.

V = volumen de la solución de la muestra digerida.

M = peso de la muestra.

Si la muestra ha sido diluida, el factor de dilución debe ser tomado en cuenta.

6.8 Informe de la prueba

mg metal/kg o L.

7. Concordancia con normas internacionales y mexicanas

Esta Norma Oficial Mexicana no es equivalente con normas internacionales o mexicanas.

8. Bibliografía

8.1 Secretaría de Comercio y Fomento Industrial. 1992. Ley Federal sobre Metrología y Normalización. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

8.2 Secretaría de Salud. 1991. Ley General de Salud. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F., y sus reformas de 1997.

8.3 Secretaría de Salud. 1999. Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios. **Diario Oficial de la Federación**. México, D.F.

8.4 AOAC. 1995. Official Methods of Analysis. Washington, D.C. U.S.A.

8.5 Comisión del Codex Alimentarius sobre aditivos y contaminantes. 2001. Determination by atomic absorption spectrophotometry after wet digestion in a microwave oven.

8.6 Determination of Mercury in Liver, Muscle, Kidney of Hair by Atomic Absorption Spectrophotometry. 1986. Chemistry Laboratory Guidebook, Science, USDA, FSIS.

8.7 FAO. 1986. Manual of Food Quality Control.

8.8 Marshall R. T. 1992. Standard Methods for the Examination of Dairy Products. PhD Editor. 16th ed. Method 15.10 C. USA. p. 490-492.

8.9 Norma ISO 2447 (E). 1974. Determination of Tin. International Organization for Standardization.

8.10 Norma ISO 6536/2 (E). 1984. Fruits, Vegetables and Derived Products. Determination of Zinc Content. Part 2. Atomic Absorption Spectrometric Method. International Organization for Standardization.

8.11 Norma ISO 6561 (E). 1983. Fruits, Vegetables and Derived Products. Determination of Cadmium Content. Flameless Atomic Absorption Method. International Organization for Standardization.

8.12 Norma ISO 6637 (E). 1984. Fruits, Vegetables and Derived Products. Determination of Mercury Content. Flameless Atomic Absorption Method. International Organization for Standardization.

8.13 Norma ISO/DIS 7952. (E). 1991. Fruits, Vegetables and Derived Products. Determination of Copper Content. Method by Flame Atomic Absorption. Draft International Standard.

8.14 Norma-Z-013/02. 1981. Guía para la Redacción, Estructuración y Presentación de las Normas Oficiales Mexicanas (Secretaría de Comercio y Fomento Industrial).

8.15 Reilly Conor. Metal Contamination of Food. 1991. Second Edition.

8.16 Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 18th Edition. 1992.

8.17 Swayer R., Kirk R.S. y Egan H. 1987. Manual de Análisis Químicos de Pearson. Cía. Editorial Cotinental. Primera Edición.

8.18 US. Food and Drug Administration. Kansas City District. 1999. International Total Diet Study Workshop.

9. Observancia de la Norma

La vigilancia del cumplimiento de la presente Norma corresponde a la Secretaría de Salud, a los gobiernos de las entidades federativas, en el ámbito de sus respectivas competencias, y a los organismos de tercera parte habilitados para tal efecto.

México, D.F., a 20 de diciembre de 2002.- El Presidente del Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario, **Ernesto Enríquez Rubio**.- Rúbrica.