

Fuente : Diario Oficial de la Federación

Fecha de Publicación: 08 de Marzo de 1995

NOM-015-ZOO-1994

NORMA OFICIAL MEXICANA, ANALISIS DE ARSENICO, EN HIGADO, MUSCULO Y RIÑON DE BOVINOS, EQUINOS, PORCINOS, OVINOS Y AVES POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, por conducto de la Dirección General Jurídica, con fundamento en los artículos 1o., 3o., 4o. fracción III, 12, 13, 21, 22, 31 y 32 de la Ley Federal de Sanidad Animal; 38 fracción II, 40, 41, 43 y 47 fracción IV de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 35 fracción IV de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 10 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, y

CONSIDERANDO

Que el análisis de arsénico, en hígado, músculo y riñón de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves por espectrometría de absorción atómica se establece con el fin de asegurar a los consumidores, el suministro de alimentos que no rebasen los límites máximos permisibles de este tipo de productos.

Que el consumo de alimentos contaminados de origen animal, implica diversos riesgos para la salud que dependen de la presencia de los residuos nocivos.

Que entre los beneficios que reporta el hecho de aplicar las pruebas que permiten la detección de este tipo de residuos, se encuentra el de participar con mayor confianza en el comercio internacional de alimentos, contando de esta forma con las bases suficientes para certificar la inocuidad de los productos alimenticios cárnicos, tanto importados como exportados.

Que para conseguir los propósitos enunciados, he tenido a bien expedir la NOM-015-ZOO-1994 ANALISIS DE ARSENICO, EN HIGADO, MUSCULO Y RIÑON DE BOVINOS, EQUINOS, PORCINOS, OVINOS Y AVES POR ESPECTROMETRIA DE ABSORCION ATOMICA.

INDICE

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
2. REFERENCIAS
3. DEFINICIONES
4. SIMBOLOS Y ABREVIATURAS
5. FUNDAMENTO
6. EQUIPO
7. REACTIVOS, SOLUCIONES Y MATERIALES
8. ESTANDARES
9. PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION
10. PROCEDIMIENTO DE CUANTIFICACION
11. RESULTADOS
12. SANCIONES
13. CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES
14. BIBLIOGRAFIA
15. DISPOSICIONES TRANSITORIAS

1. Objetivo y campo de aplicación

1.1. Objetivo

Esta Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer el método de prueba para la determinación de residuos de arsénico en hígado, músculo y riñón de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves.

1.2. Campo de aplicación

Esta Norma es aplicable para todos los laboratorios de análisis de residuos tóxicos en tejidos alimenticios primarios de origen animal, que hayan sido aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

1.3. La vigilancia de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, así como a los gobiernos de los estados, en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales, de conformidad con los acuerdos de coordinación respectivos.

1.4. La aplicación de las disposiciones previstas en esta Norma, compete a la Dirección General de Salud Animal, así como a las delegaciones estatales de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales.

2. Referencias

Para la correcta aplicación de esta Norma debe consultarse la siguiente Norma Oficial Mexicana:

NOM-003-ZOO-1994 Criterios para la Operación de Laboratorios de Pruebas Aprobados en Materia Zoosanitaria.

NOM-004-ZOO-1993 Control de Residuos Tóxicos en Carne, Grasa, Hígado y Riñón de Bovinos, Equinos, Porcinos y Ovinos.

NOM-008-SCFI-1993 Norma Oficial Mexicana. Sistema General de Unidades de Medida.

3. Definiciones

Para efectos de esta Norma, se entiende por:

3.1. Blanco de calibración del instrumento.- Es la solución del ácido usado como diluyente para ajustar a cero el aparato.

3.2. Blanco de reactivos.- Es la solución que contienen todos los reactivos usados en los mismos volúmenes y concentraciones, que en el procesamiento de la muestra. Este blanco debe seguir todos los pasos indicados en la técnica; ayuda a detectar trazas de contaminación provenientes del material o reactivos usados.

3.3. Espectroscopia.- Área de la física y la química dedicada al estudio de la generación, medición e interpretación de los espectros de energía que resultan de la emisión o absorción de energía radiante.

3.4. Espectrometría.- Es una rama de la espectroscopia relacionada con la medición de espectros.

3.5. Espectrometría de absorción atómica.- Es una rama del análisis instrumental, en el que un elemento es atomizado en forma tal que permita la observación, selección y medida de su espectro de absorción.

3.6. Espectrometría de absorción atómica por flama.- Es el método por el cual el elemento se determina mediante un espectrofotómetro de absorción atómica, usado en conjunto con un sistema de nebulización, un atomizador y una fuente de energía radiante o luminosa.

La fuente de atomización, es un quemador que utiliza diferentes mezclas de gases, siendo las más frecuentes el aire-acetileno y el óxido nitroso-acetileno.

3.6. Espectrometría de absorción atómica por generación de hidruros.- Las muestras reaccionan en un dispositivo externo con un agente reductor, generalmente borohidruro. Los productos gaseosos de reacción, hidruros volátiles, son arrastrados a una celda de muestreo que se encuentra en el paso óptico del espectrofotómetro de absorción atómica. La celda se calienta para disociar el hidruro gaseoso en átomos libres; la absorción atómica crece y cae a medida que se crean los átomos y escapan de la celda de absorción. Se mide el máximo de absorción o altura del pico.

3.7. Muestra fortificada.- Es un tejido blanco que ha sido adicionado de una concentración conocida del analito.

3.8. Recuperación (R).- Es el porcentaje del elemento o compuesto de interés (analito), obtenido en la muestra fortificada (MF) calculado en función de la cantidad real adicionada (CA).

$$R = \frac{MF \times 100}{CA}$$

3.9. Tejido blanco.- Es una muestra de tejido previamente analizada que no contiene al analito o que puede contenerlo en cantidades menores al límite máximo de residuos.

4. Símbolos y abreviaturas

As	arsénico
cm	centímetro
g	gramo
G.R.	grado reactivo
h	hora
l	litro
mg	miligramo
µg	microgramo
ml	mililitro
mm	milímetro
min	minuto

N	normal
ppb	partes por billón
ppm	partes por millón
%	porciento
°	grado
°C	grados centígrados

5. Fundamento

El arsénico es extraído de los tejidos por calcinación a una temperatura elevada en una mufla. La matriz de la muestra es primero incinerada en la mufla, usando nitrato de magnesio como un ayuda cenizas. Un segundo tratamiento de calor es aplicado para remover cualquier cantidad de materia orgánica residual. Las cenizas se disuelven en solución ácida. El arsénico es convertido a su hidruro volátil con borohidruro de sodio. El hidruro es purgado continuamente con argón dentro de un atomizador apropiado de un espectrofotómetro de absorción atómica y convertido en átomos en su fase gaseosa.

6. Equipo

6.1. Aparatos

- Picadora de alimentos
- Licuadora
- Estufa con entrada de aire seco, capaz de mantener una temperatura de $95 \pm 5^\circ\text{C}$.
- Platina de calentamiento capaz de mantener una temperatura de $120 \pm 10^\circ\text{C}$
- Válvula de control que reemplaza al nebulizador con tubo capilar de 6 mm. Anexo 1.
- Adaptador para conexión con ángulo de 90° con llave reductora estándar unión interna reductora estándar. Anexo 2.

6.2. Instrumentos

- Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con corrector de fondo y quemador con entrada de aire, acetileno y argón.
- Sistema de generación de hidruros con reservorio para el reductante, frascos de reacción, celda de cuarzo o equivalente
- Balanza granataria con sensibilidad de 0.01g.

7. Reactivos soluciones y materiales

7.1. Reactivos

- Nitrato de magnesio hexahidratado G.R.
- Acido nítrico G.R. al 65%
- Acido clorhídrico G.R. al 37%
- Ioduro de potasio G.R.
- Borato tetrahidruro de sodio en lentejas 98% de pureza.
- Hidróxido de sodio G.R.
- Agua destilada desionizada
- Acetileno grado absorción atómica
- Argón purificado

7.2. Soluciones

- Solución de nitrato de magnesio hexahidratado al 6.67% p/v. Disolver 133.4 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada desionizada y diluir a 2000 ml.
- Solución de nitrato de magnesio hexahidratado al 50% p/v.- Disolver 500 g de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ en agua destilada y diluir a 1000 ml.
- Acido nítrico al 50%.- Diluir 50 ml de HNO_3 G.R. con 50 ml de agua destilada desionizada.
- Acido clorhídrico 4.5 N.- Diluir 372 ml de HCl concentrado a 1000 ml con agua destilada desionizada.
- Solución de ioduro de potasio al 15% p/v.- En un matraz aforado de bajo actinio de 100 ml colocar 15 g de KI disolver y aforar con agua destilada desionizada. Preparar una hora antes de usar.
- Solución de hidróxido de sodio al 1.0% p/v.- Disolver 1.0g de NaOH en 100 ml de agua destilada desionizada.
- Solución de borohidruro de sodio al 3% p/v.- Disolver 3.0g de NaBH_4 en 100 ml de solución de NaOH al 1.0% y filtrar en papel filtro wathman # 2.

7.3. Materiales

- Lámparas de cátodo hueco para arsénico.

- Crisoles de 50 ml Vycor brand, porcelana, cuarzo o platino.
- Cuchillo o escapelo con bisturí
- Matraces Erlenmeyer de 125 ml con tapón esmerilado, junta 24/40.
- Tubo de tygon de 3/8 x 1/4 de pulgada de diámetro interno de longitud suficiente para unir el matraz Erlenmeyer generador de hidruros con la válvula de control conectada al quemador.
- Matraces volumétricos de bajo actinio de 100 ml.
- Matraces volumétricos de 2000, 1000, 100, 50 y 10 ml.
- Pipetas volumétricas de 20, 10, 5, 4, 3, 2 y 1 ml.
- Espátulas acanaladas de acero inoxidable.
- Varilla de teflón o polipropileno.
- Papel filtro wathman # 2

El material de vidrio no deberá ser sujeto a un lavado rutinario con jabón o detergente, los cuales son fácilmente fuente de contaminación con fósforo. Si se lavan, el material debe enjuagarse con agua regia y después con agua destilada desionizada tres veces antes de usar.

8. Estándares

8.1. Estándares patrón

Utilizar soluciones estándares de referencia o patrón certificadas para absorción atómica de arsénico. La concentración de las soluciones estándares comerciales es típicamente de 1000 µg/ml.

8.1.1. Solución estándar de arsénico inorgánico de 1000 µg/ml.

8.1.2. Solución estándar de arsénico orgánico como ácido arsenílico de 1000 µg/ml. Disolver 0.2897g de ácido arsenílico al 100% de pureza con agua destilada desionizada y diluir a 100 ml.

8.2. Estándares intermedios

8.2.1. Solución de arsénico de 100 µg/ml. Diluir 10 ml de la solución patrón de arsénico inorgánico u orgánico a 100 ml con HCl 4.5 N.

Debido a que la forma de arsénico usada para el crecimiento de los animales y de las aves es orgánico, se prefiere el uso de la solución estándar de arsénico orgánico.

8.3. Estándares de calibración

Diluir 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 10 ml de la solución de arsénico de 100 µg/ml a 100 ml con HCl 4.5 N, para dar estándares de 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8 y 10 µg/ml, respectivamente.

8.4. Estándar para fortificar las muestras.

Usar 1.0 ml del estándar de 4 µg/ml y fortificar 5 g de tejido.

9. Procedimiento de extracción

9.1. Preparación de la muestra

9.1.1. Músculo.- Quitar tanto como sea posible la grasa con el cuchillo o el bisturí. Pasar el tejido muscular rápidamente 3 veces a través de una picadora de alimentos. Mezclar completamente después de cada picado.

9.1.2. Hígado o riñón.- Quitar tanto como sea posible el tejido conectivo con el cuchillo o el bisturí. Colocarlo en una licuadora y licuar hasta que el tejido esté homogeneizado. No moler por periodos mayores de un minuto, ya que puede sobrecalentarse el tejido. Dejar enfriar entre cada molienda.

Congelar las muestras si no van a ser analizadas inmediatamente después de recibidas. Es conveniente usar bolsas de plástico lisas para congelar las muestras en porciones de 2 cm de espesor.

9.2. Digestión por vía seca (calcinación)

9.2.1. Pesar 5.0 g de la muestra molida en un crisol de 50 ml. Adicionar 3 ml de solución de nitrato de magnesio al 50% y mezclar completamente.

9.2.2. Extender la mezcla en una capa uniforme cerca de los lados del crisol. Secar en una estufa ajustada a 90 - 95°C hasta que la muestra esté completamente seca, aproximadamente 6 h o toda la noche.

9.2.3. Poner la muestra en una mufla fría a menos de 80°C y elevar lentamente la temperatura hasta 150°C en una proporción de 2-4°C/min. Mantener a 150°C hasta que cesen los humos.

9.2.4. Incrementar gradual y lentamente la temperatura a 500-550°C para evitar que la muestra se incinere bruscamente y haya pérdida del analito. Mantener esa temperatura por 8 a 16 h o toda la noche.

9.2.5. Apagar la mufla, remover el crisol y dejar enfriar a temperatura ambiente.

Si se utilizan crisoles de porcelana, enfriar dentro de la mufla para evitar la fractura del crisol.

9.2.6. Humedecer las cenizas con 2 ml de ácido nítrico al 50% para remover cualquier residuo de carbón. Debido a la alta concentración de la solución de nitrato de magnesio usada, el residuo es mínimo, por lo que es suficiente

humedecer completamente con HNO_3 al 50% y remover el exceso de ácido en una platina que se calienta lentamente, hasta llegar a 120°C para eliminar el carbón. En caso contrario, colocar la muestra en una mufla fría y elevar la temperatura $500 - 550^\circ\text{C}$ manteniéndola por una hora.

9.2.7. Transferir las cenizas del crisol a un matraz Erlenmeyer de 125 ml usando cuatro porciones de 10 ml c/u de HCl 4.5 N.

9.2.8. Agregar 2 ml de solución de ioduro de potasio al 15% y mezclar bien. Dejar reposar 20 min antes de leer en el espectrofotómetro de absorción atómica.

9.2.9. Correr simultáneamente un blanco de reactivos, tejido blanco y muestra fortificada por cada serie de digestión.

9.3. Preparación de la curva estándar

9.3.1. Preparar 20 matraces Erlenmeyer de 125 ml y pipetear 40 ml de HCl 4.5 N en cada uno.

9.3.2. Medir por duplicado en cada matraz, las siguientes concentraciones de arsénico 0, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 y $10.0 \mu\text{g}$ de los estándares de calibración.

9.3.3. Adicionar 2 ml de solución de KI al 15%, mezclar bien y dejar reposar por 20 min antes de leer.

9.3.4. Continuar con el procedimiento de cuantificación indicado en el punto 10.1. de esta Norma.

Para el procedimiento de cuantificación utilizando el sistema de generación de hidruros con reservorio para el reductante, frascos de reacción, celda de cuarzo o equivalente, el procedimiento de extracción es igual desde el punto 9.1. hasta el 9.2.6. de esta Norma y después continuar de la siguiente manera:

9.3.4.1. Transferencia de la muestra

Transferir las cenizas del crisol a un frasco de reacción, usando una porción de 10 ml de ácido clorhídrico 4.5 N. Enjuagar el crisol con 5 ml de agua destilada y transferirla al frasco de reacción.

A esta solución adicionar 1 ml de solución de Ioduro de potasio al 15% y mezclar bien, dejar reposar 15 min antes de su análisis.

9.3.4.2. Preparación de la curva de estándares

Dentro de cada frasco de reacción, pipetear 10 ml de ácido clorhídrico 4.5. N

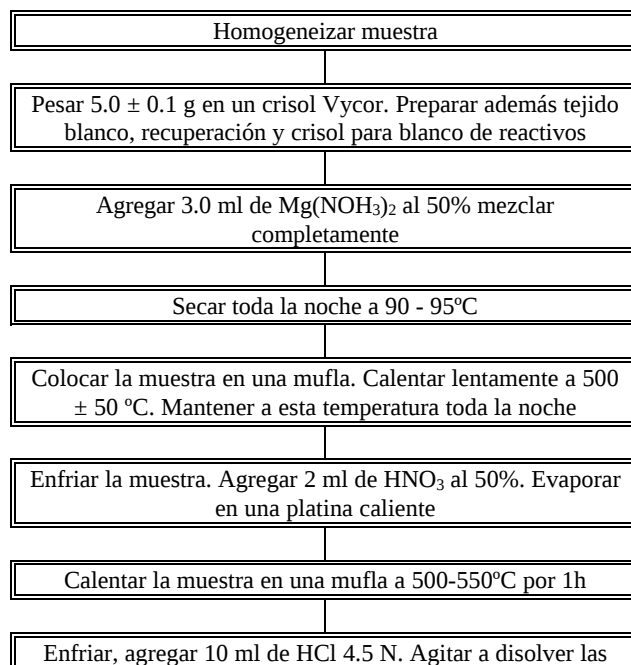
Adicionar por duplicado: 0.0, 1.0, 3.0, 5.0, 7.0 y $10.0 \mu\text{g}$ de arsénico de los estándares de calibración.

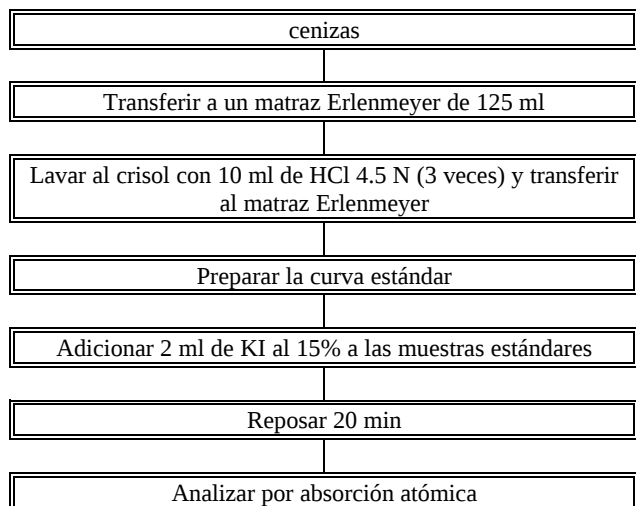
Agregar 2 ml de ioduro de potasio y mezclar bien. Dejar reposar 15 min antes de su análisis.

9.3.4.3. Continuar con el procedimiento de cuantificación indicado en el punto 10.2. de esta Norma.

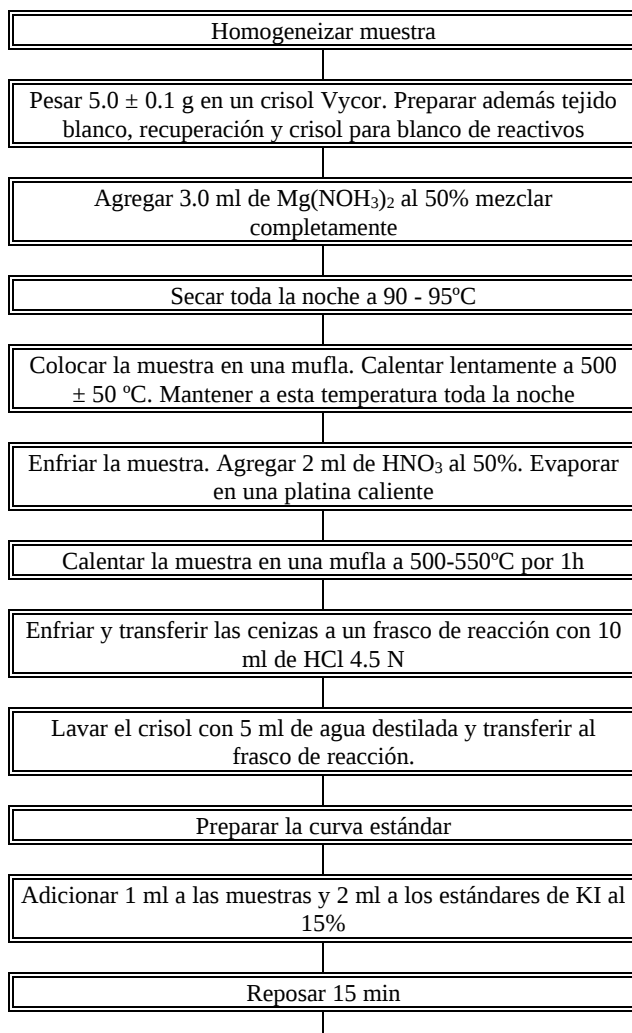
9.4. Resumen del método

9.4.1. El método para cuantificar por espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros, usando la válvula de reemplazo del nebulizador, se resume de la siguiente manera:





9.4.2. El método para cuantificar por espectrofotometría de absorción atómica, usando el sistema de generación de hidruros con reservorio para el reductante, frascos de reacción y celda de cuarzo o equivalente, queda resumido de la siguiente manera:



Analizar por absorción atómica

10. Procedimiento de cuantificación

10.1. Espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros, usando la válvula de reemplazo del nebulizador y el adaptador para conexión.

Determinación. Es necesario comprobar que se tiene una calibración inicial y periódica aceptable.

10.1.1. Encender el equipo de absorción atómica según el manual de operación. Insertar la lámpara de cátodo hueco y dar un periodo de calentamiento de 20 min.

10.1.2. Optimizar la intensidad de la señal, ajustando la posición de la lámpara, la longitud de onda, la altura del quemador, la aspiración y la posición de la cabeza del quemador.

Fijar la longitud de onda para arsénico en 193.7 nm y ajustar el flujo de los gases argón e hidrógeno a una proporción de 60 ml/min para argón y 24 ml/min para hidrógeno o los mejores flujos determinados experimentalmente.

10.1.3. Encender la flama, ajustar el instrumento a 0 de absorbancia con el blanco de calibración de HCl 4.5 N.

10.1.4. Optimizar con un estándar de arsénico la respuesta del equipo al analito, por lo general 10 ml de una solución de 5µg/ml da una observancia de 0.2.

10.1.5. Introducir los estándares de calibración del analito empezando con la concentración mayor y continuando en orden descendente. Adicionar en el adaptador 2 lentejas de borohidruro de sodio y dejarlo caer dentro de la muestra. Registrar la absorbancia o graficar los picos de cada uno.

10.1.6. Elaborar una curva de calibración, graficando la absorbancia o altura del pico en función de la concentración.

La curva deberá ser lineal arriba de 4 µg con un poco de curvatura a niveles altos.

10.1.7. Introducir el blanco de reactivo, el tejido blanco, la muestra fortificada, así como las muestras a analizar y registrar los valores de absorbancia.

10.1.8. Se deben analizar al menos un blanco de reactivos y muestras fortificadas por cada grupo de muestras. Los valores obtenidos para los blancos de reactivo ponen de manifiesto la calidad de los reactivos usados. Calcular para la muestra fortificada el porcentaje de recuperación de acuerdo a:

$$R = \frac{MF - TB}{CA} \times 100$$

Donde:

R= % de recuperación

MF= Concentración de la muestra fortificada

TB= Concentración del tejido blanco

CA= Concentración del analito añadido a la muestra

10.2. Espectrofotometría de absorción atómica por generación de hidruros, usando el sistema de hidruros MHS-10.

10.2.1. Siguiendo las instrucciones del fabricante. Montar el generador de hidruros al espectrofotómetro de absorción atómica; alinear la posición de la celda de cuarzo y optimizar la intensidad de la señal, ajustando la posición de la lámpara y la longitud de onda.

Antes de adicionar el yoduro de potasio al 15% a las muestras y estándares, encender la flama y dejar calentar 20 min la celda de cuarzo.

10.2.2. Calentar las lámparas de arsénico y deuterio por lo menos 15 min antes de iniciar el análisis.

10.2.3. Llenar el reservorio del reductante del MHS-10 con la solución de borohidruro de sodio al 3%.

10.2.4. Abrir la válvula del cilindro de argón y dejar estabilizar el flujo por lo menos durante 1 min.

10.2.5. Llevar a 0 de absorbancia con el blanco de calibración.

10.2.6. Introducir los estándares de calibración de menor a mayor concentración. Registrar la absorbancia o graficar los picos de cada uno.

10.2.7. Continuar con el blanco de reactivos, el tejido blanco, la muestra fortificada, así como las muestras a analizar y registrar los valores de absorbancia o la altura de los picos.

10.2.8. Elaborar una curva de calibración, graficando la absorbancia o altura del pico en función de la concentración.

La curva deberá ser lineal arriba de 4 µg con un poco de curvatura a niveles altos.

10.2.9. Se deben analizar al menos un blanco de reactivos y muestra fortificada por cada grupo de muestras. Los valores obtenidos para los blancos de reactivo ponen de manifiesto la calidad de los reactivos usados. Calcular para la muestra fortificada el porcentaje de recuperación de acuerdo a:

$$R = \frac{MF - TB}{CA} \times 100$$

Donde:

R= % de recuperación

MF= Concentración de la muestra fortificada

TB= Concentración del tejido blanco

CA= Concentración del analito añadido a la muestra

11. Resultados

11.1. Cálculos

11.1.1. Construir la curva de calibración, graficando absorbancia o altura del pico, en función de la concentración. Ajustar la curva mediante la ecuación de la recta: $Y = mx + b$

11.1.2. Interpolan los valores de absorbancia o altura del pico de la muestra analizada en la curva de calibración y obtener la concentración del elemento en la muestra, utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{ppm}(\mu\text{g}) = \frac{\mu\text{g de la curva estándar}}{\text{analizadas} \quad \text{peso de la muestra en g}}$$

$$\text{ppm}(\mu\text{g}) = \frac{\text{ppm analizadas} \times 100}{\text{corregidos} \quad \% \text{ recuperación}}$$

11.2. Informe de resultados

Estos se reportarán en ppm o ppb del elemento encontrado.

12. Sanciones

El incumplimiento a las disposiciones contenidas en la presente Norma, será sancionado conforme a lo establecido en la Ley Federal de Sanidad Animal y la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

13. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma Oficial Mexicana no es equivalente con ninguna norma internacional.

14. Bibliografía

Análisis de Arsénico en carne por Espectrofotometría de absorción atómica. Manual de Procedimientos del laboratorio de residuos tóxicos y contaminantes. Revisión 1992. Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal SARH.

Analytical Methods for Atomic Absorption Spectrophotometry, 1982. Perkin-Elmer, Corp. U.S.A.

Arsenic Analysis in Meat and Meat Products by Atomic Absorption Spectrophotometry. 5.009 Chemistry Laboratory Guidebook. June 1987- Revision. Food Safety and Inspection Service Science. United States Department of Agriculture.

Arsenic and Tin Chemistry Laboratory Guidebook July 1991- Revision Food Safety and Inspection Service Science. United States Department of Agriculture.

E.F. Dalton and A.J. Malanoski: 1971 Atomic Absorption Newsletter Vol. 10 No. 4

H.L. Kahn and J.E. Schallis 1968. Atomic Absorption Newsletter 7.5

15. Disposiciones transitorias

Esta Norma entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el Diario Oficial de la Federación.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 28 de febrero de 1995.- El Director General Jurídico, Roberto Zavala Echavarría. Rúbrica.