

01-09-95 NORMA Oficial Mexicana NOM-010-ZOO-1994, Determinación de cobre, plomo y cadmio en hígado, músculo y riñón de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves, por espectrometría de absorción atómica.

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

La Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, 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; 26 y 35 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 la determinación de cobre, plomo y cadmio, en hígado, músculo y riñón de las especies bovina, ovina, equina, porcina y aviar, se establece con el fin de asegurar a los consumidores el suministro de alimentos que no rebasen los límites máximos permisibles de residuos de estos metales.

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 los residuos de metales pesados presentes en los alimentos son de naturaleza química por contaminación ambiental.

Que para conseguir los propósitos enunciados, he tenido a bien expedir la NORMA OFICIAL MEXICANA NOM-010-ZOO-1994, DETERMINACION DE COBRE, PLOMO Y CADMIO 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 el territorio nacional y tiene por objeto establecer el método de prueba para la cuantificación de residuos de cobre, plomo y cadmio en hígado, músculo y riñón de bovinos, ovinos, equinos, porcinos y aves. El método es aplicable en todas las especies.

1.2. Campo de aplicación

Esta Norma se aplica a los laboratorios de análisis de residuos tóxicos en tejidos alimenticios primarios de origen animal, aprobados por la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.

1.3. La vigilancia de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, así como a los gobiernos de los estados, en el ámbito de su respectiva competencia 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 y Recursos Hidráulicos, en el ámbito de su respectiva competencia y circunscripciones territoriales.

2. Referencias

Para la correcta aplicación de esta Norma deben consultarse las siguientes normas oficiales mexicanas:

NOM-003-ZOO-1994 Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoonosanitaria.

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 contiene todos los reactivos usados en los mismos volúmenes y concentraciones, que son utilizados 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. Coeficiente de variación (CV): Es la relación de la desviación estándar (s) de una serie de datos, con su valor promedio expresado como un porcentaje, bajo la fórmula siguiente:

$$CV = \frac{s}{\text{promedio}} \times 100$$

3.4. Espectrometría: Es una rama de la espectroscopía relacionada con la medición de espectros.

3.5. Espectrometría de absorción atómica: Es una rama del análisis instrumental, en el cual 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, las más frecuentes son aire-acetileno y óxido nitroso-acetileno.

3.7. Espectroscopía: Es un 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.

3.8. Límite de detección del método: Es la cantidad más baja de un residuo individual o un componente de la muestra, que puede ser reproducido dentro de límites estadísticos aceptables, cuando la muestra es sometida a un estudio interlaboratorio.

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

3.10. Recuperación (R): Es el porcentaje del elemento o compuesto de interés denominado analito, que se obtiene en la muestra fortificada (MF), calculado en función de la cantidad real adicionada (CA), expresada en la siguiente fórmula:

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

3.11. Tejido blanco: Es una muestra de tejido previamente analizada, que no contiene al analito o que puede contenerlo en cantidades menores al LMR.

4. Símbolos y abreviaturas

Cd cadmio

Cu cobre

CV coeficiente de variación

g gramo

G.R. grado reactivo

kg	kilogramo
l	litro
LMR	límite máximo de residuos
M	molar
mg	miligramo
µg	microgramo
ml	mililitro
min	minuto
N	normal
Pb	plomo
ppb	partes por billón
ppm	partes por millón
R.A.	reactivo analítico
Sol.	solución
%	por ciento
°C	grados centígrados

5. Fundamento

Los metales son extraídos del tejido por calcinación a una temperatura elevada en una mufla. La matriz de la muestra es destruida totalmente por tratamiento a alta temperatura. Las cenizas resultantes son disueltas en solución ácida, previo al análisis por absorción atómica.

El método de absorción atómica se basa en la medida de la absorción producida por un medio compuesto por átomos del elemento a determinar, en un haz de radiación de longitud de onda apropiada, procedente de una fuente de emisión de intensidad constante. La absorción es directamente proporcional a la concentración de los átomos del elemento presente en la muestra.

6. Equipo

6.1. Aparatos

- Licuadora.
- Estufa con entrada de aire seco, capaz de mantener una temperatura de $95 \pm 5^\circ\text{C}$.
- Mufla capaz, de mantener una temperatura de $550 \pm 10^\circ\text{C}$.
- Platina de calentamiento, capaz de mantener una temperatura de $120 \pm 10^\circ\text{C}$.

6.2. Instrumentos

- Espectrofotómetro de absorción atómica, equipado con corrector de fondo y con quemador de aire-acetileno.
- Balanza granataria con sensibilidad de 0.01 g.

7. Reactivos, soluciones y materiales

7.1. Reactivos

Acido nítrico G.R.

Acido clorhídrico (HCl) G.R. al 37%

Agua destilada deionizada

Nitrato de magnesio hexahidratado $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ grado reactivo

Aire comprimido seco y limpio

Acetileno grado absorción atómica

7.2. Soluciones

Acido nítrico al 50%. - Diluir 500 ml de ácido nítrico a 1000 ml con agua destilada deionizada.

Acido clorhídrico 1 N. - Diluir 83.0 ml de ácido clorhídrico concentrado a 1000 ml con agua destilada deionizada.

Solución de nitrato de magnesio hexahidratado al 6.67% p/v. - Disolver 66.7 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en 1000 ml de agua destilada deionizada.

Solución de nitrato de magnesio hexahidratado al 3.33% p/v. - Disolver 33.3 g de $Mg(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ en 1000 ml de HCl 1 N.

7.3. Materiales

- Lámparas de cátodo hueco, individuales o para multielementos, de Cu, Pb y Cd
- Cuchillo o escalpelo con hoja de bisturí.
- Crisoles de 40 o 50 ml, Vycor brand, porcelana, cuarzo o platino.
- Tubos de centrifuga, de 50 ml, de polietileno o polipropileno.
- Frascos de polipropileno o polietileno de 1000, 250 y 100 ml de capacidad, para guardar soluciones estándares.
- Matraces volumétricos de 2000, 1000, 200, 100, 50 y 10 ml.
- Dosificador de 5 y 10 ml.
- Varilla de teflón o polipropileno.
- Pipetas volumétricas de 10, 5, 3, 2 y 1 ml.

- Espátulas acanaladas de acero inoxidable.
- Papel filtro Whatman No. 2.
- Embudos de filtración de diferentes medidas.

Todo el material de vidrio utilizado deberá someterse a lavado, de acuerdo con las siguientes instrucciones:

Lavar con jabón, que deberá ser de preferencia neutro.

Enjuagar perfectamente con agua corriente.

Sumergir el material de vidrio o plástico en un recipiente de preferencia plástico, que contenga una solución de ácido nítrico grado RA al 30%.

Dejarlo tapado y reposando durante un lapso de 24 horas.

Quitar el exceso de ácido nítrico, enjuagando 5 o 6 veces con agua deionizada.

Dejar escurrir y secar.

Guardar en cuanto esté seco para evitar contaminación por partículas en el aire.

8. Estándares

8.1. Estándares patrón

Utilizar soluciones estándares de referencia o patrón certificadas, para absorción atómica, de cada uno de los elementos. La concentración de las soluciones estándares comerciales es típicamente de 1000 µg/ml.

8.2. Estándares de calibración

Hacer las diluciones apropiadas usando solución de nitrato de magnesio al 33.3%, para alcanzar las siguientes concentraciones de trabajo que a continuación se señalan, para ello es necesario comparar los nuevos estándares contra los viejos, después de la calibración del instrumento. Los nuevos estándares deberán estar en un + 10% de la concentración.

Estándar No. 1

Elemento	ml de solución patrón	ml de solución final (ml)	Volumen (µg/ml)	Concentración
Cu	5	1000	5	
Cd	1	1000	1	
Pb	1	1000	1	

Estándar No. 2

Elemento	ml de solución patrón	ml de solución final (ml)	Volumen (µg/ml)	Concentración
----------	-----------------------	---------------------------	-----------------	---------------

Cu	15	1000	15
Cd	3	1000	3
Pb	2	1000	2

Estándar No. 3

Elemento	ml de solución patrón	ml de solución final (ml)	Volumen (µg/ml)	Concentración
Cu	30	1000	30	
Cd	9	1000	9	
Pb	4	1000	4	

8.3. Soluciones para fortificar las muestras.

Se preparan a partir de las soluciones patrón de 1000 µg/ml, adicionando 1 ml de ácido nítrico redestilado o suprapuro por cada litro de solución.

Elemento	ml de solución patrón	ml de solución final (ml)	Volumen (µg/ml)	Concentración
Cu	4	200	20	
Cd	10	200	50	
Pb	10	200	50	

Usar 1 ml de las soluciones anteriores para fortificar 15 g de la muestra y obtener las siguientes concentraciones:

Elemento	ppm
Cu	1.33
Cd	3.33
Pb	3.33

Todos los estándares deberán conservarse a temperatura ambiente en frascos de polietileno o polipropileno, con tapas seguras y herméticas. Las soluciones patrón y de calibración son estables por dos años; los estándares para fortificar deben prepararse antes de usarse.

9. Procedimiento de extracción

9.1. Preparación de la muestra

9.1.1. Quitar, tanto como sea posible, la grasa del músculo y el tejido conectivo del hígado y el riñón, utilizando el cuchillo o el bisturí.

9.1.2. Colocar el tejido en una licuadora y licuar hasta que los cortes sean uniformes. En el caso del hígado, no moler por periodos mayores de un minuto, ya que puede sobrecalentarse el tejido.

9.2. Digestión por vía seca (calcinación)

9.2.1. Pesar 15.0 ± 0.1 g de muestra en un crisol Vycor de 40 o 50 ml. Adicionar 7.5 ml de solución de nitrato de magnesio al 6.67% p/v y mezclar completamente.

9.2.2. Secar la muestra en una estufa ajustada a $90-95^{\circ}\text{C}$, durante aproximadamente 6 horas. La muestra deberá estar completamente seca antes de calcinar.

9.2.3. Poner la muestra en una mufla fría a menos de 80°C y elevar lentamente la temperatura de $2-4^{\circ}\text{C}/\text{min}$ hasta 300°C y así mantener la temperatura hasta que cesen los humos.

9.2.4. Incrementar gradual y lentamente la temperatura a $500-550^{\circ}\text{C}$, para evitar que la muestra se incinere en forma brusca, lo cual provoca pérdidas del analito. Mantener esa temperatura durante 16 horas 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, el enfriamiento debe realizarse dentro de la mufla para evitar la fractura del crisol.

9.2.6. Generalmente se requiere un segundo paso de calcinación para remover algunos residuos de carbón, lo cual se logra mediante el siguiente procedimiento:

- Lavar las paredes del crisol con 2 ml de ácido nítrico al 50%;
- Colocar la muestra en una platina y llevar lentamente a 120°C para remover el exceso de ácido;
- Colocar la muestra en una mufla fría y elevar la temperatura a $500-550^{\circ}\text{C}$, manteniéndola por 1 hora, y
- Repetir este procedimiento hasta que quede libre de carbón residual.

9.2.7. Disolver las cenizas completamente en 5 ml de HCl 1 N, transferir la muestra disuelta a un tubo de polipropileno o propileno, enjuagar el crisol con dos alícuotas adicionales de 5 ml de HCl 1 N, transferir al mismo tubo, para obtener un volumen de 15 ml, tapar y mezclar bien.

9.2.8. Si existiera presencia de partículas o materia insoluble, filtrar en papel Whatman No. 2 antes de leer.

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

9.2.10. Leer en el espectrofotómetro de absorción atómica.

9.3. Resumen del método

El método anteriormente descrito se resume de la siguiente manera:

Pesar 15.0 ± 0.1 g en un crisol.

Preparar además blanco de reactivos, tejido blanco y recuperación

Adicionar 7.5 ml de sol. de $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2$ al 6.67% y mezclar

Colocar el crisol en una estufa a 90°- 95°C y secar toda la noche

Poner el crisol en una mufla fría y calentar lentamente de 2 a 4°C/min hasta 500-550°C. Mantener esta temperatura toda la noche

Enfriar la muestra a temperatura ambiente. Humedecer las cenizas con ácido nítrico al 50% y calentar lentamente hasta 120°C sobre una platina, para eliminar el ácido

Colocar la muestra en una mufla fría y calentar a 500-550°C. Mantener a esta temperatura durante 1 hora

Enfriar la muestra. Disolver las cenizas en 15.0 ml de HCl 1 N.

Mezclar completamente

Realizar el análisis instrumental por absorción atómica

10. Procedimiento de cuantificación

Espectrofotometría de absorción atómica.

10.1. Ajustar el equipo de acuerdo a las indicaciones del manual de operación del fabricante. Insertar la lámpara de cátodo hueco del elemento a determinar y optimizar la intensidad de la señal ajustando la posición de la lámpara, así como la longitud de onda, la altura del quemador, la aspiración y la posición de la cabeza del quemador.

10.2. Se inicia la configuración operacional del instrumento, así como del sistema de captura de datos, permitiendo un periodo no menor a 20 min para el calentamiento de las lámparas de cátodo hueco.

10.3. Calibración. Se debe verificar la sensibilidad del instrumento con las soluciones estándares de cada elemento, preparadas en las concentraciones marcadas en el manual de operación. Las lecturas deberán caer en el rango de absorbancia establecido. En caso contrario, revisar altura del quemador, ajustar flujo del nebulizador y la proporción de aire-acetileno, hasta encontrar la máxima respuesta.

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

10.3.1. Ajustar el instrumento a cero con el blanco de calibración. Introducir los estándares de calibración del analito de menor a mayor concentración y registrar al menos tres réplicas de la absorbancia de cada uno.

10.3.2. Elaborar una curva de calibración leyendo o registrando los tres estándares del elemento y graficando absorbancia o altura del pico, en función de la concentración, ya sea en forma manual o por computadora, y ajustar la curva mediante la ecuación de la recta: $y = mx + b$.

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.

10.4. Determinación

10.4.1. Introducir el blanco de reactivos, el tejido blanco, la muestra fortificada, así como las muestras a analizar y registrar los valores de absorbancia. Se debe analizar al menos un blanco de reactivos y muestra fortificada con cada grupo de muestras. Los valores obtenidos ponen de manifiesto la calidad de los reactivos usados y el grado de contaminación del laboratorio. Calcular la exactitud como el por ciento de recuperación, con la siguiente fórmula:

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

CA

Donde:

R = % recuperación

MF= Concentración de la muestra fortificada

TB= Concentración del tejido blanco

CA= Concentración de analito añadido a la muestra

11. Resultados

11.1. Cálculos

En la curva de calibración obtenida en el punto 10.3.2., interpolar los valores de absorbancia o altura del pico de la muestra analizada y calcular la concentración del elemento en la muestra, utilizando las siguientes fórmulas:

$$\text{ppm}(\mu\text{g/g}) = \frac{A \times B}{C}$$

analizadas

$$\text{ppm}(\mu\text{g/g}) = \frac{\text{ppm analizadas} \times 100}{R}$$

reales promedio de 5R

Donde:

A= Concentración de la muestra en $\mu\text{g/ml}$ obtenida de la curva

B= Volumen final al que se llevó la muestra (ml)

C= Peso de la muestra en g

R= Recuperaciones

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.

13. Concordancia con normas internacionales

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

14. Bibliografía

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

Determinación de elementos traza en el tejido animal 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.

Norma ISO 6561 (E) 1983. Fruits, Vegetables and derived products. Determination of Cadmium content. Flameless Atomic Absorption Spectrometric Method. International Organization for Standardization.

Norma ISO 6633 1984. Fruit, Vegetables and derived products. Determination of lead content Flameless Atomic Absorption Spectrometric Method. International Organization for Standardization.

Official Methods of Analysis 1990. Association of Official Analytical Chemist 15 th Edition U.S.A. Volume I Chapter 9 p. 237 a 273.

Trace Metal Analysis. Chemistry Laboratory Guidebook. July 1991- Revision Food Safety and Inspection Service. Science. United States Department of Agriculture.

15. Disposiciones transitorias

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

México, D.F., a 16 de diciembre de 1994.- El Director General Jurídico, Guillermo Colín Sánchez.- Rúbrica.