

NMX-Y-112-SCFI-2002

**ALIMENTOS PARA ANIMALES - PANTOTENATO DE CALCIO
EMPLEADO EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL -
ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA (CANCELA A
LA NMX-Y-112-1976)**

**ANIMAL FEED - CALCIUM PANTOTHENATE USED IN ANIMAL
FEED - SPECIFICATIONS Y TEST METHODS**

PREFACIO

En la elaboración de la presente norma mexicana participaron las siguientes empresas e instituciones:

- ASOCIACIÓN DE FABRICANTES DE ALIMENTOS PECUARIOS BALANCEADOS, A.C.
- BASF MEXICANA, S.A. DE C.V.
- BECCO INDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE TRANSFORMACIÓN
Sección 49, Fabricantes de Alimentos Balanceados para Animales.
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE ALIMENTOS
PARA ANIMALES
- DEGUSSA HULS MÉXICO, S.A.
- HELM DE MÉXICO, S.A.
- MALTA TEXO DE MÉXICO, S.A. DE C.V.
- NUTEK, S.A. DE C.V.
- ROCHE VITAMINAS MÉXICO, S.A.
- VIMIFOS, S.A. DE C.V.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

Número del capítulo		Página
1	Objetivo y campo de aplicación	1
2	Referencias	1
3	Definiciones	2
4	Clasificación	2
5	Especificaciones	2
6	Muestreo	2
7	Métodos de prueba	3
8	Marcado y etiquetado	12
9	Bibliografía	12
10	Concordancia con normas internacionales	12



**ALIMENTOS PARA ANIMALES - PANTOTENATO DE CALCIO
EMPLEADO EN LA ALIMENTACIÓN ANIMAL -
ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA (CANCELA A
LA NMX-Y-112-1976)**

**ANIMAL FEED - CALCIUM PANTOTHENATE USED IN ANIMAL
FEED - SPECIFICATIONS Y TEST METHODS**

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana establece las características del pantotenato de calcio, en sus dos formas isoméricas, D y DL pantotenato de calcio. El pantotenato de calcio se emplea en la elaboración de alimentos balanceados para animales como complemento alimenticio en la dieta.

2 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de esta norma mexicana se deben consultar la siguiente norma oficial mexicana y norma mexicana vigentes o las que las sustituyan:

NOM-012-ZOO-1993 Especificaciones para la regulación de productos químicos, farmacéuticos, biológicos y alimenticios para uso en animales o consumo por estos, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de enero de 1995.

NMX-Y-113-1975 Valoración de pantotenato de calcio. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de agosto de 1975.

3 DEFINICIONES

Para los propósitos de esta norma se establece la siguiente definición:

3.1 Pantotenato de calcio

Es el producto constituido principalmente por elementos químicos carbono, hidrógeno, nitrógeno, calcio y oxígeno cuya fórmula es $C_{18}H_{32}CaN_2O_{10}$, con peso molecular de 476,54. Este compuesto presenta isomería óptica.

4 CLASIFICACIÓN

El pantotenato de calcio debido a su isomería óptica comprende dos grados de calidad:

Grado A	Dextrógiro (D)	Es la sal de calcio del isómero dextrorrotatorio del ácido pantoténico.
Grado B	Racémico (DL)	Es la mezcla de las sales de calcio de los isómeros dextrorrotatorios y levorrotatorios del ácido pantoténico.

5 ESPECIFICACIONES

5.1 Del producto

El producto objeto de la aplicación de esta norma debe cumplir con las especificaciones indicadas en la tabla 1.

6 MUESTREO

El muestreo se debe llevar a cabo de acuerdo a lo indicado en la norma oficial mexicana NOM-012-ZOO (véase 2 Referencias).

El inciso 7.3 de la norma oficial mexicana NOM-012-ZOO indica "Asumiendo que para considerar que la muestra es representativa se puede contemplar el MUESTREO ALEATORIO empleando la raíz cuadrada del número de envases por lote de fabricación", por lo que respecta a la cantidad de muestra, indica que "La cantidad de muestra debe ser suficiente para efectuar 2 análisis completos".

TABLA 1.- Especificaciones

Especificaciones	Grado A Dextrógiro	Grado B Racémico	Método de prueba
Aspecto y presentación	Polvo fino cristalino color blanco	Polvo fino cristalino color blanco	
Olor	Característico del producto	Característico del producto	
Pérdida por secado	5 % máximo	5 % máximo	véase 7.1
Actividad como pantotenato de calcio dextrógiro, % mínimo en base seca	98 %	42,5 %	véase 7.3
Metales pesados, máximo ppm	20 ppm	20 ppm	véase 7.2
Tamaño de partícula	mín. 95 % < 0,5 mm	Mín. 95% < 0,5 mm	véase 7.4

7 MÉTODOS DE PRUEBA

Para verificar las especificaciones que se establecen en esta norma deben aplicarse los métodos de prueba siguientes:

Los reactivos que se mencionan en esta norma deben ser reactivos analíticos a menos que se indique otra cosa. Cuando se hable de agua se debe entender agua destilada.

7.1 Determinación de pérdida por secado del pantotenato de calcio

7.1.1 Fundamento

Una cantidad pesada se seca durante determinado tiempo en la estufa, se enfría y se vuelve a pesar. La diferencia de peso es la humedad contenida en el producto (véase inciso 7.1.3.).

7.1.2 Aparatos y equipo

- Balanza analítica;
- Caja de aluminio con tapa de 3 cm de diámetro por 5 cm de alto;
- Desecador con cloruro de calcio;
- Estufa, y
- Equipo común de laboratorio.

7.1.3 Procedimiento

7.1.3.1 Colocar la caja con la tapa en la estufa a 105°C para secarla durante una hora como mínimo. Sacarla de la estufa, colocarla en un desecador, enfriar y pesar hasta peso constante.

7.1.3.2 Pesar por diferencia alrededor de 2,5 g de muestra en la caja de aluminio.

7.1.3.3 Colocar la tapa en la parte inferior del recipiente y ponerla en la estufa a 105°C y durante 3 h tener peso constante. Sacar la caja, colocarle la tapa e introducir la caja en un desecador hasta que tome la temperatura ambiente.

7.1.3.4 Sacar la caja de aluminio del desecador y pesar.

7.1.4 Cálculos

$$\text{Porcentaje de humedad} = \frac{\text{Peso de la muestra seca} \times 100}{\text{Peso de la muestra original}}$$

7.1.5 Precisión

La diferencia máxima permisible entre determinaciones efectuadas por duplicado no debe ser mayor de 0,14 %. En caso contrario se recomienda una nueva determinación.

7.2 Determinación de metales pesados por absorción atómica

7.2.1 Fundamento

El método es aplicable para determinar metales pesados a través de plomo en vitaminas puras, premezclas vitamínicas, minerales, alimentos terminados y vehículos con contenido de 0,002 5 g/kg a 0,500 g/kg ó 2,5 ppm a 500 ppm.

7.2.2 Principio

La muestra se digiere en ácido nítrico diluido 1:1, con calentamiento se diluye con agua grado alta pureza leyéndose posteriormente en el espectrofotómetro de absorción atómica contra una curva de calibración para plomo leída previamente en las mismas condiciones que la muestra.

7.2.3 Tiempo requerido

Asignar 1,0 h para preparar las soluciones de estándares muestra y 2,0 h para leer las absorbancias en el espectrofotómetro de absorción atómica. Tiempo total: 3,0 h. Asignar 1,0 h para cada muestra adicional por duplicado.

7.2.4 Reactivos y materiales

- Vasos de precipitado de 150 ml;
- Pipeta volumétrica de 1 ml, 2 ml, 5 ml, 10 ml, 20 ml, 25 ml y 30 ml;
- Pipetas serológicas o pipetas dispensette con puntas;
- Matraces volumétricos de 100 ml y 1 000 ml;
- Embudos de vidrio;
- Vidrios de reloj;
- Papel filtro Watman No. 4 y 40;
- Ácido nítrico diluido 1:1;
- Agua grado espectroscopía (de alta pureza), y
- Estándar de referencia de plomo de concentración 1 000 microgramos/ml.

7.2.5 Instrumentos y equipo

- Espectrofotómetro de absorción atómica;
- Balanza analítica con precisión 0,1 mg;
- Parrilla de calentamiento;
- Campana de extracción, y
- Lámpara de plomo.

7.2.6 Seguridad

El ácido nítrico puede causar quemaduras. Preparar las muestras en la campana de extracción. Usar guantes y gafas de seguridad. Evitar el contacto con la piel y los ojos.

7.2.7 Condiciones

Corriente de la lámpara 5,0 mA
Tipo de flama Aire – Acetileno (oxidante)

Longitud de onda	Slit Width	Rango de trabajo óptimo	Sensitividad
Nm	Nm	ppm	ppm (µg/ml)
217,0	1,0	2,5 - 20	0,06
283,3	0,5	7,0 - 50	0,16
261,4	0,5	100 - 460	2,5

7.2.8 Procedimiento

7.2.8.1 Preparación de las curvas de calibración

- Para preparar una curva con concentraciones **2,5 ppm, 10 ppm y 20 ppm.**

Estándar de **2,5 ppm**: medir exactamente 20 ml del estándar de referencia con pipeta serológica en un matraz volumétrico de 1 000 aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

Estándar de **10 ppm**: medir exactamente 1,0 ml del estándar de referencia con pipeta volumétrica en un matraz volumétrico de 1 000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

Estándar de **20 ppm**: medir exactamente 2,0 ml. del estándar de referencia con pipeta volumétrica de 1 000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

- Para preparar una curva con concentraciones de **7,0 ppm, 25 ppm y 50 ppm.**

Estándar de **7,0 ppm**: medir exactamente 0,70 ml. del estándar de referencia con pipeta serológica en un matraz volumétrico de 1 000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

Estándar de **25 ppm**: medir exactamente 2,5 ml del estándar de referencia con pipeta serológica en un matraz volumétrico de 1 000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

Estándar de **50 ppm**: medir exactamente 5,0 ml del estándar de referencia con pipeta volumétrica en un matraz volumétrico del 1 000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

- 7.2.8.2 Para preparar una curva con concentraciones de **100 ppm, 300 ppm y 500 ppm.**

Estándar de **100 ppm**: medir exactamente 10 ml del estándar de referencia con pipeta volumétrica en un matraz volumétrico de 1 000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

Estándar de **300 ppm**: medir exactamente 30 ml del estándar de referencia con pipeta volumétrica en un matraz volumétrico de 1 000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

Estándar de **500 ppm**: medir exactamente 50 ml. del estándar de referencia con pipeta volumétrica en un matraz volumétrico de 1000, aforar con agua grado espectroscopía. Identificar un frasco color ámbar y pasar el contenido del matraz al frasco.

NOTA.- Mantener bien cerrados y en refrigeración los estándares cuando no se utilicen.

7.2.9 Preparación de la muestra (realizar por duplicado).

Pesar una cantidad de muestra de acuerdo a la tabla 2, con precisión de 0,1 mg y disolver en 25 ml de ácido nítrico diluido 1:1.

Poner en calentamiento hasta ebullición (en parrilla de calentamiento) por 30 min, tapar con vidrio de reloj.

Retirar de la parrilla de calentamiento y dejar enfriar a temperatura ambiente.

Lavar cuantitativamente el vidrio de reloj con agua grado espectroscopía.

Aforar con agua grado espectroscopía y leer en espectro de absorción atómica.

7.2.10 Cálculos

7.2.10.1 En forma manual

Se determinan las concentraciones sobre la curva de calibración realizada con las lecturas efectuadas considerando el peso de muestra.

7.2.10.2 En forma automática

Se liga el método de análisis de plomo.

Se introducen los datos de la muestra en el menú indicado del método como son el número de lote, identificación de la muestra, peso en gramos de la muestra y dilución en ml de la muestra.

Para obtener un resultado directamente en %, ppm y/o g/kg, ir al menú de tabla de correcciones del método e introducir peso y volumen nominal (considerados como peso y volumen de corrección).

TABLA 2.- Contenido esperado

Contenido esperado mg/kg (ppm)	Peso muestra	Dilución
2,5 – 20	5,0 g.	100 ml
7,0 – 50	4,0 g.	100 ml
50,0 – 100,0	3,5 g.	100 ml
100,0 – 200,0	2,5 g.	100 ml
200,0 – 300,0	2,0 g.	100 ml
300,0 – 400,0	1,5 g.	100 ml
400,0 – 500,0	1,0 g.	100 ml

7.3 Determinación de contenido de D-Pantotenato de calcio

7.3.1 Fundamento

La muestra se separa en una fase C-18 con una solución 0,1 M de $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ de pH 3,0, la cual contiene de 2 % - 5 % de acetonitrilo. La detección se efectúa en el rango UV a 200 nm. Se requieren 3 h para una muestra por duplicado. Asignar 45 min por cada muestra adicional.

7.3.2 Reactivos y materiales

- Matraces volumétricos de 100 y 1 000 ml;
- Loop para HPLC de 20 microlitros;
- Kit de clarificación de solventes acuosos;
- Kit de filtración de muestras acuosas;
- Viales;
- Embudos de vidrio;
- Papel encerado;
- Agua grado HPLC;
- Fosfato de sodio monohidratado ($\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$);
- Ácido fosfórico;
- D-Pantotenato de calcio estándar primario o secundario, y
- Jeringa de 50 microlitros.

7.3.3 Instrumentos y equipo

- Balanza analítica con precisión 0,1 mg;
- Sistema HPLC;
- Baño ultrasónico, y
- Bomba de vacío.

7.3.4 Condiciones HPLC

Fase estacionaria: Pecosphere C-18 25 cm x 4 mm o equivalente.

Fase móvil: Solución buffer de fosfatos 0,1 M pH 3,0 filtrado y degasificado. Se mezclan 6,9 g de $\text{NaH}_2\text{PO}_4\text{H}_2\text{O}$ con agua HPLC en un matraz volumétrico de 1 000 ml y se afora. Con la solución anterior preparar una solución al 5 % con acetonitrilo en un matraz volumétrico de 1 000 ml y ajustar la solución a pH de 8,0 con ácido fosfórico. Aforar con buffer de fosfatos.

(Se requieren aproximadamente 0,6 ml de ácido fosfórico para 1 L de solución).

Flujo: 1,0 ml/min

Detector: UV-VIS a 200 nm

Volúmen de inyección: 20 microlitros

Tiempo de corrida: 10 min

7.3.5 Preparación del estándar

Pesar con precisión de 0,1 mg una cantidad entre 39 mg - 41 mg del estándar sobre un papel encerado.

Transferir a través de un embudo a un matraz volumétrico del 100 ml con la solución de fosfatos 0,1 M y aforar.

Filtrar para HPLC la solución y depositar en un vial.
Inyectar 20 microlitros en el sistema HPLC y calibrar.

7.3.6 Preparación de la muestra (realizar por duplicado)

Pesar con precisión de 0,1 mg una cantidad entre 39 mg - 41 mg de la muestra sobre un papel encerado.

Transferir a través de un embudo a un matraz volumétrico de 100 ml con la solución de fosfatos 0,1 M y aforar.

Filtrar para HPLC la solución y depositar en un vial.

Injectar 20 microlitros en el sistema HPLC y calibrar.

7.3.7 Cálculos

En forma manual:

$$\% \text{ Contenido D-Pantotenato Ca} = (A_2) (C) / (RF) (W_2)$$

$$RF = A_1/W_1$$

donde:

A₁ es el área del pico del estándar;
W₁ es el peso del estándar en mg;
RF es el factor de respuesta o calibración;
A₂ es el área del pico de la muestra;
C es la concentración del estándar en %;
W₂ es el peso de la muestra en mg, y
s.a. es la cantidad de muestra (sample amount).

NOTA.- Al terminar los análisis lavar la columna por lo menos durante 1 h con agua HPLC y después en condiciones de almacenamiento Me-OH/H₂O 60/40.

7.4 Determinación de granulometría, tamaño y número de partículas a polvos granulares.

7.4.1 Fundamento

La muestra se pasa por cribas de diferentes aberturas de mallas separándose por tamaño de partícula.

7.4.2 Tiempo requerido

15 min para cada determinación.

7.4.3 Reactivos y materiales

Cribas ASTM de las siguientes aberturas:

No. malla (ASTM)	Abertura (mm)	No. malla (ASTM)	Abertura (mm)
10	1,68	50	0,29
12	1,41	60	0,25
14	1,19	80	0,17
18	1,00	100	0,15
20	0,84	150	0,10
30	0,59	200	0,075
35	0,50	250	0,061
40	0,42	325	0,043

- Espátula de acero inoxidable, y
- Brocha.

7.4.4 Instrumentos y equipo

- Balanza analítica de precisión de 0,1 g, y
- Agitador de tamices mecánico (Tyler R-24).

7.4.5 Procedimiento

Pesar cada una de las cribas y la base.

Colocarlas en orden de abertura, de manera que la más abierta quede arriba y la más cerrada quede abajo y colocarle su tapa y la base al juego de cribas.

Pesar 100 g de muestra y depositarla en el conjunto de cribas seleccionadas.

Poner en agitación en el agitador de tamices durante 10 min.

Pesar cada una de las cribas y registrar su peso.

Recolectar los residuos de las cribas con ayuda de una brocha para incorporarlos.

7.4.6 Cálculos

$$\% \text{ Residuo} = P_2 - P_1$$

donde:

- P_1 es el peso de la criba vacía, y
 P_2 es el peso de la criba con residuo.

Si se dispone de poca muestra puede emplearse en la determinación 20 g ó 50 g de muestra y hacer la conversión a porcentaje.

8 MARCADO Y ETIQUETADO

El producto objeto de la aplicación de esta norma debe cumplir con lo dispuesto en la norma oficial mexicana NOM-012-ZOO (véase 2 Referencias).

9 BIBLIOGRAFÍA

NMX-Y-112-1976 Pantotenato de calcio empleado en la alimentación animal.
Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la
Federación el 4 de octubre de 1976.

The Pharmacopeia of the United States of America, Edición XXIII.

Método No. 1527, Dr. H. Steverle, BASF AG.

10 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta norma mexicana no es equivalente a ninguna norma internacional por no existir referencia alguna al momento de su elaboración.

México D.F., a

**MIGUEL AGUILAR ROMO.
DIRECTOR GENERAL.**

AVA/AFO/DLR/MRG.