



NORMA MEXICANA

NMX-Y-324-SCFI-2011

**ALIMENTOS PARA ANIMALES - DETERMINACIÓN DE
TIOGLUCÓSIDOS EN PASTAS DE NABO Y CANOLA -
MÉTODO DE PRUEBA
(CANCELA A LA NMX-Y-324-SCFI-2001)**

**ANIMAL FEED - DETERMINATION OF THIOGLUCOSIDES IN
RAPESEED AND CANOLA MEALS - TEST METHOD**



PREFACIO

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

- AGRIBRANDS PURINA MÉXICO, S.A. DE C.V.
- ASOCIACION AMERICANA DE SOYA
- ASOCIACION NACIONAL DE INDUSTRIALES DE ACEITES Y MANTECAS COMESTIBLES, A.C.
- CAMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE ACEITES, GRASAS Y JABONES
- CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE TRANSFORMACIÓN Sección 49, Fabricantes de Alimentos Balanceados para Animales.
- CENTRO DE CONTROL AGROINDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE ALIMENTOS PARA ANIMALES
- CONSEJO NACIONAL DE INDUSTRIALES DE ACEITES Y MANTECAS COMESTIBLES, A.C.
- FLAGASA, S.A.
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES, AGRICOLAS Y PECUARIAS
- INSTITUTO NACIONAL DEL CONSUMIDOR
- LABORATORIO DE CONSTATAION AGROINDUSTRIAL, S.A. DE C.V.
- MALTA TEXO DE MÉXICO, S.A. DE C.V.
- NUTEK, S.A. DE C.V.
- PILGRIMS PRIDE, S. DE R. L. DE C.V.



- PREMEZCLAS Y VITAMINAS TEPA, S.A. DE C.V.
- SPENCER LABORATORIOS, S.A. DE C.V.
- UNION NACIONAL DE AVICULTORES
- VITAMINAS Y MINERALES COMPLEMENTARIOS, S.A. DE C.V.



ÍNDICE DEL CONTENIDO

Número del capítulo		Página
1	OBJETIVO	1
2	CAMPO DE APLICACIÓN	2
3	FUNDAMENTO	2
4	REACTIVOS, MATERIAL Y EQUIPO	2
5	PROCEDIMIENTO	3
6	EXPRESION DE RESULTADOS	5
7	VIGENCIA	5
8	BIBLIOGRAFIA	5
9	CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES	6



NORMA MEXICANA

NMX-Y-324-SCFI-2011

ALIMENTOS PARA ANIMALES - DETERMINACIÓN DE TIOGLUCÓSIDOS EN PASTAS DE NABO Y CANOLA - MÉTODO DE PRUEBA (CANCELA A LA NMX-Y-324-SCFI-2001)

ANIMAL FEED - DETERMINATION OF THIOGLUCOSIDES IN RAPESEED AND CANOLA MEALS - TEST METHOD

1 OBJETIVO

Esta Norma Mexicana tiene como objetivo establecer el método de prueba para la determinación cuantitativa del contenido total de tioglucósidos presentes en pastas de semilla del género *Brassica spp.*, que se comercializan en el territorio nacional, para control de calidad con propósitos comerciales, técnicos y legales.

2 CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana es aplicable a pasta de canola (*Brassica napus*) y pasta de nabo (*Brassica rapa*), utilizadas en la elaboración de alimentos balanceados para animales.

3 FUNDAMENTO

Tioglucoídos o glucosinolatos, son compuestos que al ser hidrolizados producen glucosa, isotiocianato y sulfato ácido de potasio. La enzima responsable de esta hidrólisis, la glucohidrolasa de tioglucoído o mirosinasa, se encuentra en semillas del género *Brassica spp.*

Para su determinación, se prepara por un lado un extracto que contenga tioglucoisidasa activa y por otro lado se prepara un extracto problema al cual se le ha desactivado su enzima propia. Posteriormente, al poner en contacto el extracto enzimático activo con el extracto problema, se incuba y cuantifica la acidez producida por el sulfato ácido de potasio con una solución valorada de hidróxido de sodio.

4 REACTIVOS, MATERIAL y EQUIPO

4.1 Reactivos

- Hidróxido de sodio;
- Semilla de mostaza blanca;
- Ácido clorhídrico 0,1 N;
- Solución I: hidróxido de sodio 0,1 N preparar 100 ml, y
- Solución II: diluir 100 ml de la solución I con 300 ml de agua destilada para obtener una solución de hidróxido de sodio 0,025 N.

NOTA: Ambas soluciones deben estar normalizadas.

4.2 Material

- Embudo (plástico o vidrio);
- Probeta graduada de 250 ml;
- Un agitador de vidrio;
- Una bureta de 50 ml;
- Dos matraces Erlenmeyer de 250 ml;
- Dos vasos de precipitado de 250 ml;
- Tres vasos de precipitado de 100 ml;
- Un mortero, y
- Papel whatman número 1.

4.3 Equipo

- Una incubadora a 35 °C;
- Baño de agua;
- Potenciómetro con electrodo para pH;
- Estufa de incubación;
- Licuadora, y
- Agitador magnético.

5 PROCEDIMIENTO

5.1 Preparación del extracto enzimático activo

Pesar 25 g de semilla de mostaza blanca (como fuente de mirosinasa) y triturarla en mortero. Vaciar la semilla molida a la licuadora y añadir 200 ml de agua destilada, moler durante un minuto (altas revoluciones y mayor tiempo provocan exceso de espuma), filtrar a través de papel whatman número 1 y recolectar 150 ml del extracto en una probeta graduada de 250 ml; si hay excesiva espuma, recolectar un volumen aparente de 160 ml tomando como referencia el borde superior de la espuma. Vaciar el filtrado a un matraz Erlenmeyer de 250 ml e incubar dos horas a 35 °C, "véase 5.2.2". Transcurrido este tiempo se vacía el extracto enzimático activo a un vaso de precipitado de 250 ml.

Se neutraliza la acidez hasta alcanzar un pH de 6 con la solución I (usar parrilla con agitador magnético y un potenciómetro).

La adición de la solución I debe hacerse con un goteo intermitente; cuando la aguja indique pH 5 detenerla un minuto hasta que la solución se estabilice y continuar la adición lentamente gota a gota hasta obtener un pH 6.

5.2 Preparación de la muestra

5.2.1 Muestra

Nabo, colza, canola o alimento para animales que contenga cualquiera de estas semillas.

5.2.2 Treinta minutos antes de que se terminen las dos horas de incubación del extracto enzimático activo, pesar 10 g de muestra del problema y molerla en mortero. Vaciar la semilla molida a la licuadora y añadir 200 ml de agua destilada. Moler durante un minuto a la más baja velocidad. Filtrar a través de papel whatman número 1 y recolectar 160 ml del extracto.

Transferir el extracto a un matraz Erlenmeyer de 250 ml y llevarlo a ebullición durante cinco minutos, agitando frecuentemente con el agitador de vidrio para romper la capa de espuma. Enfriar en baño de agua. Al terminar la neutralización del extracto enzimático activo "véase 5.1", tomar 150 ml del extracto de la muestra (si la evaporación fue excesiva restituir volumen con agua destilada) y transferirlos a un vaso de precipitados de 250 ml.

Neutralizar la acidez hasta pH 6 procediendo de igual forma que con el extracto enzimático activo teniendo precaución al adicionar la solución I, ya que en este caso, la acidez a neutralizar debe ser mucho menor. Inclusive puede suceder, dependiendo de la naturaleza de la muestra, que el pH sea ligeramente mayor de 6 para lo cual debe ser necesario acidificar con solución de ácido clorhídrico 0,1 N.

5.2.3 Incubación y titulación

Verter tres porciones de 50 ml del extracto de la muestra neutralizada a pH 6 en tres vasos de precipitado de 100 ml, adicionar 20 ml del extracto enzimático en cada uno y someterlos a incubación durante dos horas a 35 °C.

Al término del período de incubación, colocar los tres vasos en baño de agua fría y esperar 10 min. Titular la acidez producida con la solución II utilizando el agitador magnético y el potenciómetro interrumpiendo la titulación a pH 6.

6 EXPRESIÓN DE RESULTADOS

Se asume que el peso molecular de los tioglucósidos es de 400 g/mol y que cada mol se hidroliza para dar un equivalente de sulfato ácido de potasio. El porcentaje de tioglucósidos en la muestra se calcula de acuerdo a la siguiente fórmula.

$$\% \text{ Tioglucósidos} = \frac{V \text{ NaOH} \times N \times 0,4 \times 100}{\text{Peso de la muestra en la alícuota}}$$

Dónde:

V: es el volumen gastado de solución II en la titulación de la muestra;

N: es la normalidad de la solución II, y

Peso de la muestra en la alícuota: es igual a $\frac{10 \text{ g}}{200} \times 50 = 2,5 \text{ g}$

7 VIGENCIA

La presente norma mexicana entrará en vigor 60 días naturales después de la publicación de su declaratoria de vigencia en el **Diario Oficial de la Federación**.

8 BIBLIOGRAFÍA

NOM-008-SCFI-2002 Sistema General de Unidades de Medidas. Publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de noviembre del 2002.

NMX-Z-013-1977 Guía para la redacción, estructuración y presentación de las normas mexicanas. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de octubre de 1977.



Bell, J.M. and Jeffers, H.F., Variability in the chemical composition of rapeseed meal, Canadian Journal of Animal Science 56: (2) 269-273, 1976.

Croft, A.G., The determination of total glucosinolates in rapeseed meal by titration of enzyme-liberated acid and the identification of individual glucosinolates, Journal of the Science of Food and Agriculture 30: (4) 417-423, 1979.

9 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES

Esta norma mexicana no coincide con ninguna norma internacional por no existir norma internacional sobre el tema tratado.

México, D.F., a 10 de mayo de 2012

**CHRISTIAN TURÉGANO ROLDÁN
DIRECTOR GENERAL DE NORMAS Y SECRETARIADO TÉCNICO DE
LA COMISIÓN NACIONAL DE NORMALIZACIÓN**