

NMX-Y-334-SCFI-2004

**PRODUCTOS PARA USO AGROPECUARIO - INGREDIENTES
DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA ANIMALES - VITAMINA
B6 (PIRIDOXINA) - ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE
PRUEBA**

**PRODUCTS FOR AGRICULTURAL USE - BALANCED FEED
INGREDIENTS FOR ANIMALS - VITAMIN B6 (PIRIDOXIN) -
SPECIFICATIONS AND TEST METHOD**

PREFACIO

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

- BASF MEXICANA, 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 MÉXICO, S.A. DE C.V.

- ROCHE VITAMINAS MÉXICO, S.A. DE C.V.

NMX-Y-334-SCFI-2004



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

PRODUCTOS PARA USO AGROPECUARIO - INGREDIENTES DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA ANIMALES - VITAMINA B6 (PIRIDOXINA) - ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA

PRODUCTS FOR AGRICULTURAL USE - BALANCED FEED INGREDIENTS FOR ANIMALS - VITAMIN B6 (PIRIDOXIN) - SPECIFICATIONS AND TEST METHOD

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana establece las especificaciones y métodos de prueba que debe cumplir la vitamina B6 (piridoxina), para ser utilizada como ingrediente en alimentos balanceados para animales que se comercializa en territorio nacional.

2 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de esta norma, 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 éstos, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de enero de 1995, con modificaciones el 3 de junio de 1998 y 27 de enero de 2004. |
| NMX-Y-111-SCFI-2001 | Alimentos para animales - Muestreo de alimentos balanceados e ingredientes mayores para animales. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 18 de julio de 2001. |

3 DEFINICIÓN

Se encuentra en tres formas: piridoxol (piridoxina), piridoxal y piridoxamina. La piridoxina es la forma predominante en plantas, mientras que el piridoxal y la piridoxamina generalmente son formas vitamínicas encontradas en productos y subproductos de origen animal.

4 CLASIFICACIÓN

La vitamina B6 (piridoxina) se clasifica dentro del grupo de las vitaminas hidrosolubles y se puede identificar como:

- a) Clorhidrato de piridoxina
- b) Clorhidrato de piridoxol
- c) Vitamina B6 clorhidrato
- d) Vitamina B6

5 ESPECIFICACIONES

Las especificaciones que debe cumplir la vitamina B6 (piridoxina) en los productos comerciales se establecen a continuación:

TABLA 1.- Especificaciones

Especificaciones	Características
Contenido activo	Min. 98 % como clorhidrato de piridoxina
Olor	Característico del producto
Color	Blanco sin aglomerados
Aspecto o presentación	Polvo fino o granular
Solubilidad	Soluble en agua Poco soluble en alcohol Insoluble en éter, cloroformo y acetona
Pérdida por secado a 100 -105°C/4h	Máximo 0,5 %
Tamaño de partícula / granulometría	Máx. 0,5 % sobre malla # 20 Mín. 40 % a través de malla # 100 Máx. 25 % a través de malla # 270 Mín. 90 % < 0,5 mm

6 MUESTREO

El muestreo se debe basar en lo dispuesto en la norma oficial mexicana NOM-012-ZOO (ver 2 Referencias).

Asimismo, también se puede basar en lo establecido en la norma mexicana NMX-Y-111-SCFI (ver 2 Referencias).

7 MÉTODOS DE PRUEBA

Para la comprobación de las especificaciones que se establecen en esta norma, se deben aplicar los siguientes métodos, mismos que son alternativos:

7.1 Determinación de contenido de piridoxina en materia prima por HPLC

7.1.1 Alcance

El método es aplicable para determinación de piridoxina en materiales empleados para la elaboración de premezclas para nutrición animal.

7.1.2 Principio

La solución de la vitamina es sometida al HPLC en una columna C-18 con detector a 280 nm por comparación con una solución estándar tratada similarmente.

7.1.3 Tiempo requerido

Asignar 2,0 h para preparar las extracciones de muestra y estándar. Asignar 2,0 h para el HPLC para una muestra por duplicado. Tiempo total 4,0 h.

Asignar 1,5 h para cada muestra adicional por duplicado.

7.1.4 Reactivos y materiales

- Sal de sodio del ácido 1-heptanosulfónico grado HPLC;
- EDTA grado p.a.;
- Trietilamina grado p.a.;

- Ácido acético glacial grado p.a.;
- Metanol grado HPLC;
- Piridoxina clorhidrato estándar de referencia;
- Agua grado HPLC y desionizada;
- Matraces volumétricos de 100 ml y 2 000 ml;
- Pipetas volumétricas de 5 ml, 10 ml, 20 ml y 50 ml;
- Probeta de 250 ml;
- Embudo de vidrio;
- Papel encerado;
- Viales para HPLC;
- Kit de clarificación de solventes para HPLC;
- Kit de filtración de muestras para HPLC, y
- Jeringa de 50 ó 100 microlitros.

7.1.5 Instrumentos y equipos

- Balanza analítica con precisión de 0,1 mg;
- Sistema HPLC con detector UV-VIS o Arreglo de diodos a 280 nm Columna HPLC Waters Resolve C-18 de 5 micras; 3,9 mm x 300 mm o equivalente;
- Baño ultrasónico;
- Bomba de vacío, y
- Potenciómetro.

7.1.6 Seguridad

La trietilamina es flamable: manejar lejos de fuentes de calor, usar solamente en espacios ventilados bajo campana de extracción. Evitar contacto con la piel y los ojos. El ácido acético glacial puede causar severas quemaduras y es flamable, usar solamente en espacios ventilados con campana de extracción, usar guantes y gafas de seguridad. El metanol es flamable y tóxico. No inhalar vapores y evitar contacto con la piel.

7.1.7 Condiciones HPLC

Detector:	UV-VIS o Arreglo de Diodos a 280 nm
Velocidad de flujo:	1,0 ml/min
Volumen de inyección:	50 microlitros
Número de inyecciones:	4
Tiempo de corrida:	6 min
Tipo de integración:	Valle a Valle

7.1.8 Descripción de la actividad

Preparación de la fase móvil.

- 1 A un matraz volumétrico de 2 000 ml adicionar 2,20 g de la sal de sodio del ácido1-heptano sulfónico, 0,1 g de EDTA y 1 200 ml de agua grado HPLC.
- 2 Pipetear 20 ml de trietilamina en la solución anterior.
- 3 Adicionar 90 ml de ácido acético glacial para ajustar a un pH de 3,60 + 0,05 (medidos con pipetas volumétricas de 50 ml y 20 ml).
- 4 Adicionar 250 ml de metanol grado HPLC, medidos con probeta y aforar con agua grado HPLC.
- 5 Filtrar la solución para HPLC y degasificar.

7.1.9 Preparación del estándar (preparar por duplicado)

- 1 En un papel encerado pesar analíticamente 0,15 g de estándar de referencia.
- 2 Transferir cuantitativamente a través de un embudo a un matraz volumétrico ámbar de 100 ml con 100 ml de fase móvil, medidos con pipeta volumétrica.
- 3 Sonificar por 15 min en baño ultrasónico.
- 4 Tomar 5 ml con pipeta volumétrica de la solución anterior y depositar en un matraz volumétrico de 100 ml color ámbar, aforar con fase móvil y mezclar.
- 5 Filtrar para HPLC la solución y depositar en un vial, inyectar 2 veces en el sistema HPLC.

7.1.10 Preparación de la muestra (preparar por duplicado)

- 1 En un papel encerado pesar analíticamente 0,15 de muestra homogénea.

- 2 Transferir cuantitativamente a través de un embudo a un matraz volumétrico ámbar de 100 ml con 100 ml de fase móvil, medidos con pipeta volumétrica.
 - 3 Sonificar por 15 min en baño ultrasónico.
 - 4 Tomar 5 ml con pipeta volumétrica de la solución anterior y depositar en un matraz volumétrico de 100 ml color ámbar, aforar con fase móvil y mezclar.
 - 5 Filtrar para HPLC la solución y depositar en un vial, inyectar 2 veces en el sistema HPLC.
- 7.1.11 Cálculos

$$\text{Contenido de piridoxina \%} = \frac{[\text{Aa}] * [\text{P}]}{[\text{As}]}$$

donde:

- Aa es el área del pico de la muestra entre el peso en gramos de la muestra;
As es el área del pico del estándar entre el peso en gramos del estándar, y
P es el contenido de piridoxina en el estándar en %.

7.2 Determinación de vitamina B6 por titulación potenciométrica

7.2.1 Equipo

- Potenciómetro (electrodo combinado de vidrio);
- 1 Vaso de precipitado de 100 ml, y
- 2 Pipetas graduadas de 100 ml.

7.2.2 Reactivos

- Ácido acético 100 % (p/p);
- Solución de acetato de mercurio (II): Disolver 60 g de acetato de mercurio (II) en 1 L de ácido acético 100 % (p/p) (solución saturada), y
- Ácido perclórico 0,1 N

7.2.3 Procedimiento

Disolver aproximadamente 200 mg de sustancia (pesado con exactitud) en una mezcla de 30 ml de ácido acético 100 % (p/p) y 10 ml de solución de acetato de mercurio (II) y titular potenciométricamente (electrodo combinado de vidrio) con ácido perclórico 0,1N (c = 0,1 mol/L).

7.2.4 Calcular el contenido de la sustancia seca.

1 ml de ácido perclórico 0,1 N (c = 0,1 mol/L) corresponde a 20,564 mg de clorhidrato de piridoxina.

8 ESTABILIDAD

La que garantice el fabricante en la etiqueta.

9 MARCADO, ETIQUETADO, ENVASE, EMPAQUE Y EMBALAJE

El producto objeto de la aplicación de esta norma debe cumplir con lo establecido den la norma oficial mexicana NOM-012-ZOO (ver 2 Referencias).

10 ALMACENAMIENTO

Debe ser en lugares frescos, secos y protegidos de la luz.

11 BIBLIOGRAFÍA

NOM-008-SCFI-2002 Sistema general de unidades de medida, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de noviembre de 2002.

BASF Corporation. Standar Technical Instructions. Método No.6425.

12 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.**