

NMX-Y-343-SCFI-2008

**PRODUCTOS PARA USO AGROPECUARIO -
INGREDIENTES DE ALIMENTOS
BALANCEADOS PARA ANIMALES - VITAMINA
B1 (Tiamina) EN PREMEZCLAS -
ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA.**

**PRODUCTS FOR AGRICULTURAL USE -BALANCED
FEED INGREDIENTS FOR ANIMALS –
VITAMIN B1 (Thiamine) IN PREMIX**

PREFACIO

En la elaboración de esta Norma participaron los siguientes Organismos e Instituciones:

- BASF MEXICANA S.A. de C.V.

- CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE TRANSFORMACION.

- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE ALIMENTOS PARA ANIMALES

- DSM NUTRITIONAL PRODUCTS MEXICO S.A. de C.V.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

Número del Capítulo		Página
1	Objetivo y Campo de Aplicación	1
2	Referencias	1
3	Definición	2
4	Clasificación	2
5	Especificaciones	3
6	Muestreo	3
7	Métodos de prueba	3
8	Marcado, etiquetado, envase, empaque y embalaje	9
9	Almacenamiento	9
10	Vigencia	9
11	Concordancia con Normas Internacionales	10

**PRODUCTOS PARA USO AGROPECUARIO -
INGREDIENTES DE ALIMENTOS
BALANCEADOS PARA ANIMALES - VITAMINA
B1 (Tiamina) EN PREMEZCLAS -
ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA**

**PRODUCTS FOR AGRICULTURAL USE -BALANCED
FEED INGREDIENTS FOR ANIMALS –
VITAMIN B1 (Thiamine) IN PREMIX**

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana establece las características y métodos de análisis de la Vitamina B1 en Premezclas Vitamínicas y que puedan o no contener minerales, para ser utilizada como ingrediente en alimentos balanceados para animales.

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. (Contiene dos modificaciones 03/06/1998 y 27/01/2004), publicada en el Diario Oficial de la Federación el 17 de enero de 1995.

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

Es una de las vitaminas del complejo B, del grupo de vitaminas hidrosolubles que participa en muchas de las reacciones químicas del organismo.

Regulación del metabolismo de los carbohidratos en la forma de tiamina pirofosfato (cocarboxilasa); importante para la función normal del tejido neural y del miocardio; efecto protector en el tracto gastrointestinal; mantiene las condiciones normales de la peristalsis, absorción de grasa y actividad enzimática.

4 CLASIFICACIÓN

También llamada tiamina, aneurina, vitamina antineurítica y vitamina anti-beriberi.

La vitamina B1 pertenece al grupo de las vitaminas hidrosolubles.

FORMA QUÍMICA

La Vitamina B1 o también llamada Tiamina puede presentarse en cualquiera de sus dos formas químicas, mononitrato o clorhidrato. La tiamina está formada por una molécula de pirimidina y otra de tiazol unidas por un grupo metilo. La presencia de un grupo hidrófilo (OH) en un extremo hace que pueda formar uniones éster con el ácido fosfórico, dando lugar al mono, di o trifosfato de tiamina.

5 ESPECIFICACIONES

Las especificaciones que debe cumplir la Vitamina B1 en los productos comerciales para la elaboración de las premezclas vitamínicas para consumo animal se establecen a continuación:

Nombre	Concentración mínima
Tiamina Mononitrato	98%
Tiamina Cloridrato	98%

6 MUESTREO

Se establece de común acuerdo entre el fabricante y el comprador. A falta de este acuerdo se recomienda seguir las prescripciones indicadas en las normas vigentes (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 VITAMINA B1 EN PREMEZCLAS POR FLUORESCENCIA

7.1.1 ALCANCE

Este método es aplicable para la determinación de Vitamina B1 (Tiocromo).

7.1.2 FUNDAMENTO:

Extracción de la tiamina con ácido clorhídrico 0.01 N. Posterior a la oxidación con ferrocianuro de potasio a tiocromo, el cual se extrae con isobutanol. Medición de la fluorescencia del tiocromo y el blanco correspondientes.

7.1.3 REACTIVOS, MATERIALES E INSTRUMENTOS

7.1.3.1 EQUIPO

- Espectrofluorómetro Perkin Elmer Modelo 204A
- Cronometro
- Agitador Maxi Mix II Thermolyne

7.1.3.2 MATERIALES

- Matraz volumétrico de 50 ml
- Matraz volumétrico de 100 ml
- Matraz volumétrico de 200 ml

7.1.3.3 REACTIVOS

Hasta donde sea posible, todos los reactivos son de grado analítico.

Reactivos de oxidación:

Solución A: 30% de solución de hidróxido de potasio

Solución B: 5% de solución de Hexacianoferrato (III) de potasio

Preparación del reactivo de oxidación:

Mezclar 100 ml de la solución A y 6 ml de solución B

Isobutanol, libre de fluorescencia.

Etanol al 96%, libre de fluorescencia

7.1.3.4 PROCEDIMIENTO

7.1.3.4.1 Solución Estándar

Pesar aproximadamente 15 mg de mononitrato de tiamina y transferirlos a un matraz volumétrico de 200 ml, disolver y aforar con ácido clorhídrico 0,01 N. Tomar una alícuota de 10 ml y transferirla a un matraz volumétrico de 100 ml y aforar con ácido clorhídrico 0,01 N. Tomar una alícuota de 3 ml y transferirla a un matraz volumétrico de 50 ml.

7.1.3.4.2 Preparación de la muestra

Pesar 2 g de la muestra molida en un matraz volumétrico de 100 ml, se agregan aproximadamente 50 ml de HCl 0,01 N, y se agita mecánicamente durante 10 min. Centrifugar una parte de la suspensión, del sobrenadante tomar una alícuota de 20 ml, y aforar a 50 ml. Tomar 5 ml para efectuar la reacción del tiocromo.

7.1.3.4.3 Reacción del tiocromo

- Colocar en un tubo de centrifuga 5 ml de Solución Estándar, y en otro tubo colocar 5 ml de la Solución Problema.
- Adicionar 5 ml de Reactivo de oxidación.
- Agitar durante 90 segundos (cronometrados) en un vortex.
- Adicionar 10mL de isobutanol, y mezclar manualmente.
- Reposar durante 100 segundos.
- Agitar en un vortex durante 10 segundos (cronometrados).
- Centrifugar a 3500 rpm durante 1 min. Tomar 5 ml del sobrenadante y diluirlo con 2 ml de alcohol al 96°
- Agitar y leer en el fluorómetro con una longitud de emisión de 425 nm y 375 nm de extinción. Tanto la solución Estándar como el problema se comparan contra un blanco de reactivos.

7.1.3.4.4 CALCULOS Y RESULTADOS

$$X = \frac{E_{SA} \times A \times B \times f \times 1.03}{E_{ST} \times C}$$

Donde:

E_{SA}	es la emisión de la muestra;
A	es el peso del estándar;
B	1000;
F	es el factor de dilución;
1.03	es el factor de conversión de Mononitrato de tiamina a Clorhidrato de tiamina,
E_{ST}	es la emisión de la Solución Estándar y
C	es el peso de la muestra en gramos.

7.2 DETERMINACION DE VITAMINA B1 EN PREMEZCLAS POR HPLC

7.2.1 ALCANCE

El método es aplicable para determinación de Tiamina en premezclas vitamínicas.

7.2.2 PRINCIPIO

La premezcla se extrae con una solución que es también utilizada como fase móvil y el extracto es sometido al HPLC, por comparación con una solución estándar tratada similarmente

7.2.3 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
- Tiamina Mononitrato o Clorhidrato estándar de referencia
- Agua grado HPLC o desionizada
- Matraz volumétrico transparente de 2000 ml
- Matraz volumétrico de 100 y 250 ml color ámbar
- Pipetas volumétricas de 5, 20, 50 y 100 ml
- Probeta de 250 ml
- Embudo de vidrio
- Papel encerado
- Viales para HPLC
- Kit de clarificación de solventes para HPLC y kit de filtración de muestras para HPLC
- Jeringa de 50 o 100 microlitros

7.2.4 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 x 300 mm o equivalente
- Baño ultrasónico
- Bomba de vacío
- Potenciómetro

7.2.5 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.

7.2.6 CONDICIONES HPLC

- Detección de UV-VIS o Arreglo de Diodos a 280 nm
- Velocidad de flujo de 1,0 ml/min
- Volumen de inyección de 50 microlitros
- Tiempo de corrida de 20 min

7.2.7 DESCRIPCION DE LA ACTIVIDAD

7.2.7.1 PREPARACION DE LA FASE MOVIL

- A un matraz volumétrico de 2000 ml adicionar 2,20 g de la sal de sodio del ácido 1-heptano sulfónico, 0,1 g de EDTA y 1200 ml de agua grado HPLC.
- Adicionar 20 ml de trietilamina en la solución anterior.
- Adicionar 90 ml de ácido acético glacial para ajustar a un pH de $3,60 \pm 0,05$ (Medidos con pipetas volumétricas; 50 y 20 ml)
- Adicionar 250 ml de metanol grado HPLC, y aforar con agua grado HPLC
- Filtrar la solución y degasificar.

7.2.7.2 PREPARACION DEL ESTANDAR

- En un papel encerado, pesar analíticamente una cantidad de muestra homogénea de acuerdo a la siguiente formula:

$$\text{Peso del estándar en gramos} = \frac{\text{Nivel esperado de tiamina en mg/Kg}}{(200)P}$$

Donde:

- P es el % de tiamina en el estándar
200 es el factor para peso de la muestra

NOTA 1: No pesar menos de 0,04 gramos

- Transferir cuantitativamente a través de un embudo a un matraz volumétrico ámbar de 100 ml con fase móvil, aforar con la misma fase y sonificar por 15 min.
- Tomar 10 ml con pipeta volumétrica de la solución anterior y depositar en un matraz volumétrico de 500 ml color ámbar, aforar con la fase móvil.
- Filtrar la solución y depositar en un vial, inyectar 2 veces en el sistema HPLC.

7.2.7.3 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA (PREPARAR POR DUPLICADO)

- Pesar sobre un papel encerado 0.4 gramos de muestra con precisión 0,1 mg
- Transferir cuantitativamente a través de embudo a un matraz volumétrico ámbar de 100 ml con 100 ml de fase móvil, medidos con pipeta volumétrica.
- Sonificar en un baño ultrasónico a 40 °C -50 °C por 15 min, agitar invirtiendo cada matraz y sonificar por 15 min más.
- Centrifugar la solución durante 2 min a 1500 RPM o dejar reposar la muestra hasta que esté clara.
- Filtrar para HPLC la solución anterior y depositar en un vial.
- Inyectar dos veces en el sistema HPLC

7.2.7.4 CALCULOS

$$\text{Contenido de Menadiona en g/Kg} = \frac{Aa}{As} \times \frac{Ws}{Wa} \times \frac{P}{100} \times 1,000 \times \frac{10}{500}$$

Donde:

Aa	es el área del pico de la muestra
As	es el área del pico del estándar
Wa	es el peso de la muestra en gramos
Ws	es el peso del estándar en gramos
P	es el % de menadiona en el estándar
1,000	es el resultado de convertir el factor de cálculo mg/Kg a g/Kg.
10/500	son factores de dilución

8 MARCADO, ETIQUETADO. ENVASE, EMPAQUE Y EMBALAJE

Debe cumplir con la NOM-ZOO-012-1993 (Ver 2 Referencias). Es recomendable envasar la premezcla en empaque con barrera a la luz y a la humedad.

9 ALMACENAMIENTO

Almacenar en lugares frescos, secos y protegidos de la luz.

10 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**.

11 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

**DR. FRANCISCO RAMOS GÓMEZ
DIRECTOR GENERAL DE NORMAS**