

NMX-Y-344-SCFI-2007

**PRODUCTOS PARA USO AGROPECUARIO – INGREDIENTES
DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA ANIMALES –
DETERMINACIÓN DE VITAMINA B6 EN PREMEZCLAS –
ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA**

**PRODUCTS FOR AGRICULTURAL USE – BALANCED FEED
INGREDIENTS FOR ANIMALS – VITAMIN B6 IN PREMIX –
SPECIFICATIONS AND TEST METHODS**

PREFACIO

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

- CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE TRANSFORMACIÓN

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

- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE ALIMENTOS PARA ANIMALES

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

- SECRETARÍA DE ECONOMÍA.
Dirección General de Normas.



SECRETARÍA DE
ECONOMÍA

**PRODUCTOS PARA USO AGROPECUARIO – INGREDIENTES
DE ALIMENTOS BALANCEADOS PARA ANIMALES –
DETERMINACIÓN DE VITAMINA B6 EN PREMEZCLAS –
ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA**

**PRODUCTS FOR AGRICULTURAL USE – BALANCED FEED
INGREDIENTS FOR ANIMALS – VITAMIN B6 IN PREMIX –
SPECIFICATIONS AND TEST METHODS**

1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN

Esta norma mexicana establece las características y métodos de análisis de la Vitamina B6 en Premezclas Vitamínicas y que puedan o no contener minerales, para ser utilizada como ingrediente en alimentos balanceados para animales que se comercializa en territorio nacional.

2 REFERENCIAS

Para la correcta interpretación de esta norma, debe consultarse 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 y modificada el 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

Coenzima en el metabolismo de los carbohidratos, grasas y proteínas. Participa en síntesis de proteínas, crecimiento y mejor productividad.

4 CLASIFICACIÓN

La Vitamina B6 pertenece al grupo del complejo vitamínico B, las vitaminas que integran este complejo se utilizan para formar coenzimas que son pequeñas moléculas orgánicas que se asocian a moléculas enzimáticas mayores, ayudando a estas últimas a que las reacciones químicas se desarrollen con mayor eficiencia.

5 FORMA QUÍMICA

El término Vitamina B6 engloba tres compuestos con actividad vitamínica que se caracteriza por tener una estructura común: 3-hidroxi-2-metilpiridina.

Las tres formas corresponden a derivados del alcohol (piridoxol o piridoxina), aldehído (piridoxal) y amina (piridoxamina).

La vitamina B6 es bastante estable a ácidos, álcalis y calor, pero es sensible a la exposición a la luz.

6 ESPECIFICACIONES

Las especificaciones que debe cumplir la Vitamina B6 en los productos comerciales para la elaboración de las premezclas vitamínicas para consumo animal se establecen a continuación:

Nombre	Concentración mínima
Clorhidrato de piridoxina	98,0 %

8.1.4 Condiciones de trabajo

Columna:	acero inoxidable, 300 x 3.9 mm licrocart		
Fase estacionaria:	µbondapac c18		
Fase móvil:	mezclar 99 % de buffer de kh_2po_4 0,1 m y 1% de Acetonitrilo. Ajustar el ph a 4,23 con acido fosfórico, filtrar a través de mebrana 0,45 µm y desgasificar durante 5 min en baño ultrasónico.		
Velocidad de flujo:	1,2 ml/min.		
Temperatura:	ambiente.		
Volumen de inyección:	20 mcl.		
Detección:	fluorescencia	Emisión	389 nm
	Excitación	295 nm	
Tiempo de retención:	5 min.		

8.1.5 Solución estándar

Disolver 10 mg de clorhidrato de piridoxina a 100 ml en solución de extracción tomar 1 ml y llevarlos a 200 ml con solución de extracción. Concentración final aproximada 0,5 µg/ml.

8.1.6 Procedimiento

Pesar muestra previamente calculada adicionar solución de extracción y agitar mecánicamente durante 15 min, enseguida sonicar por 15 min, aforar con solución de extracción y realizar las diluciones necesarias.
Inyectar al sistema HPLC.

8.1.7 Cálculos

Los cálculos de área o altura de los picos de vit B6 se suman juntos y se comparan con el pico del estándar de vit B6 considerando el peso de la muestra y la dilución del extracto.

8.2 Determinación de vitamina B6 en premezclas por HPLC

8.2.1 Alcance

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

8.2.2 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

8.2.3 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
- Piridoxina Clorhidrato estándar de referencia
- Agua grado HPLC o desionizada
- Matraz volumétrico transparente de 2000 ml
- Matraz volumétrico de 100 ml 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

8.2.4 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 C-18 de 5 micras, 3.9 x 300 mm o equivalente
- Baño ultrasónico
- Bomba de vacío
- Potenciómetro

8.2.5 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.

8.2.6 Condiciones HPLC

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

8.2.7 Descripción de la actividad

8.2.7.1 Preparación de la fase móvil

- A un matraz volumétrico de 2 000 ml adicionar 2,20 g de la sal de sodio del ácido 1-heptano sulfónico, 0.1 g de EDTA y 1 200 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 ± 0,05 (Medidos con pipetas volumétricas; 50 ml y 20 ml).
- Adicionar 250 ml de metanol grado HPLC, y aforar con agua grado HPLC.
- Filtrar la solución y degasificar.

8.2.7.2 Preparación del estándar

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

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

donde:

P es el % de piridoxina en el estándar, y
200 es el factor para peso de la muestra.

NOTA.- No pesar menos de 0,04 g.

- 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 10 min.
- Tomar 5 ml con pipeta volumétrica de la solución anterior y depositar en un matraz volumétrico de 250 ml color ámbar, aforar con la fase móvil.
- Filtrar la solución y depositar en un vial, inyectar 2 veces en el sistema HPLC.

8.2.7.3 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 minutos más.
- Centrifugar la solución durante 2 min 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

8.2.7.4 Cálculos

$$\text{Contenido de piridoxina en g / Kg} = \frac{Aa}{Wa} \times \frac{Ws}{As} \times \frac{P}{100} \times 1,000 \times \frac{5}{250}$$

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 Piridoxina en el estándar.
1,000	es lo que resulta de convertir el factor de cálculo mg/Kg→g/Kg.
5/250	son factores de dilución.

9 MARCADO, ETIQUETADO. ENVASE, EMPAQUE Y EMBALAJE

Debe cumplir con lo establecido en la norma oficial mexicana NOM-012-ZOO (ver 2 Referencias). Es recomendable envasar la premezcla en empaque con barrera a la luz y a la humedad.

10 ALMACENAMIENTO

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

11 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**.

12 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.

NMX-Z-013/1-1977 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.

Información de los industriales.

13 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

Con fundamento en los artículos 19 y 46 del Reglamento Interior de la Secretaría de Economía, en ausencia del Director General de Normas, firma el Director de Normalización

RODOLFO CARLOS CONSUEGRA GAMÓN

OMF/DLR.