

NORMA Oficial Mexicana NOM-014-ZOO-1994, Determinación de cloranfenicol en músculo de bovinos, equinos, porcinos y aves, por cromatografía de gases.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural.

La Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, por conducto de la Dirección General Jurídica, con fundamento en los artículos 1o., 3o., 4o. fracción III, 12, 13, 21, 22, 31 y 32 de la Ley Federal de Sanidad Animal; 38 fracción II, 40, 41, 43 y 47 fracción IV de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización; 35 fracción IV de la Ley Orgánica de la Administración Pública Federal; 10 fracción V del Reglamento Interior de la Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos, y

CONSIDERANDO

Que la determinación de cloranfenicol en músculo de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves, por cromatografía de gases, se establece con el fin de asegurar a los consumidores el suministro de alimentos que no rebasen los límites máximos permisibles de este tipo de productos.

Que el consumo de alimentos contaminados de origen animal implica diversos riesgos para la salud que dependen de la presencia de los residuos nocivos.

Que entre los beneficios que reporta el hecho de aplicar las pruebas que permiten la detección de este tipo de residuos, se encuentra el de participar con mayor confianza en el comercio internacional de alimentos, contando de esta forma con las bases suficientes para certificar la inocuidad de los productos alimenticios cárnicos, tanto importados como exportados.

Que para conseguir los propósitos enunciados, he tenido a bien expedir la NOM-014-ZOO-1994 DETERMINACION DE CLORANFENICOL EN MUSCULO DE BOVINOS, EQUINOS, PORCINOS, OVINOS Y AVES, POR CROMATOLOGRAFIA DE GASES.

INDICE

1. **OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN**
2. **REFERENCIAS**
3. **DEFINICIONES**
4. **SIMBOLOS Y ABREVIATURAS**
5. **FUNDAMENTO**
6. **EQUIPO**
7. **REACTIVOS, SOLUCIONES Y MATERIALES**
8. **ESTANDARES**
9. **PROCEDIMIENTO DE EXTRACCION**
10. **PROCEDIMIENTO DE CUANTIFICACION**
11. **INFORME DE RESULTADOS**
12. **SANCIONES**
13. **CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES**
14. **BIBLIOGRAFIA**

15. DISPOSICIONES TRANSITORIAS**1. Objetivo y campo de aplicación****1.1. Objetivo.**

Esta Norma es de observancia obligatoria en todo el territorio nacional y tiene por objeto establecer los métodos de prueba para la cuantificación de residuos de cloranfenicol en músculo de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves.

1.2. Campo de aplicación.

Esta Norma se aplica a los laboratorios de análisis de residuos tóxicos en tejidos alimenticios primarios de origen animal que hayan sido aprobados por la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural.

1.3. La vigilancia de esta Norma corresponde a la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, así como a los gobiernos de los estados, en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales, de conformidad con los acuerdos de coordinación respectivos.

1.4. La aplicación de las disposiciones previstas en esta Norma compete a la Dirección General de Salud Animal, así como a las delegaciones estatales de la Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, en el ámbito de sus respectivas atribuciones y circunscripciones territoriales.

2. Referencias

Para la correcta aplicación de esta Norma deben consultarse las siguientes normas oficiales mexicanas: NOM-003-ZOO-1994 Criterios para la operación de laboratorios de pruebas aprobados en materia zoosanitaria.

NOM-004-ZOO-1993 Control de residuos tóxicos en carne, grasa, hígado y riñón de bovinos, equinos, porcinos y ovinos.

NOM-008-SCFI-1993 Norma Oficial Mexicana. Sistema General de Unidades de Medida.

3. Definiciones

Para efectos de esta Norma, se entiende por:

3.1. Coeficiente de correlación: Es la relación nominal, teórica o de una unidad evidente, entre una variable y otra que hace mínima a la suma de los cuadrados de las desviaciones de la primera con respecto a su proporcionalidad con la segunda.

Con proporcionalidad exacta, el coeficiente es 1, si no existe ninguna relación es cero. La proporcionalidad inversa completa proporciona un valor de -1.

3.2. Cromatografía de gases: Es una técnica analítica que permite la separación física de dos o más compuestos, basada en la diferente distribución en dos fases, una de las cuales es estacionaria sólida o líquida y la otra móvil, en fase gaseosa.

3.3. Espectrometría de masas: Es una técnica analítica que, mediante alto vacío, permite la fragmentación de una muestra en fase vapor, así como la separación y detección de los iones formados de acuerdo con su masa y su carga.

3.4. Muestra fortificada: Es un tejido blanco que ha sido adicionado de una concentración conocida del analito.

3.5. Recuperación (R): Es el porcentaje del elemento o compuesto de interés (analito) obtenido en la muestra fortificada (MF), calculado en función de la cantidad real adicionada (C.A.).

$$R = \frac{MF}{CA} \times 100$$

3.6. Tejido blanco: Es una muestra de tejido, previamente analizada, que no contiene al analito o puede contenerlo en cantidades menores al límite máximo de residuos.

4. Símbolos y abreviaturas

amu	unidades de masa atómica (por sus siglas en inglés)
CE	captura de electrones
CG	cromatografía de gases
cm	centímetro
EM	espectrometría de masas
eV	electrón volt
g	gramo
G.A.R.	grado análisis de residuos
G.R.	grado reactivo
HPLC	cromatografía de líquidos alta resolución (por sus siglas en inglés)
l	litro
M	molar
m	metro
mg	miligramo
μA	microampere
m/z	relación masa-carga
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro
ng	nanogramo
ppm	partes por millón
ppb	partes por billón
rpm	revoluciones por minuto
s	segundo
sol.	solución
μg	microgramos
μl	microlitros
μm	micrómetros
%	por ciento

5. Fundamento

La cuantificación de residuos de cloranfenicol, se realiza por cromatografía de gases con detector de captura de electrones, el meta-cloranfenicol es usado como estándar interno; después de adicionarlo, la muestra es incubada con beta-glucoronidasa para convertir cualquier monoglucorónido de cloranfenicol a cloranfenicol libre. El cloranfenicol es extraído del músculo con acetato de etilo, el cual se concentra a aproximadamente un ml. Se adiciona entonces una solución de cloruro de sodio al 4% y el resto del acetato de etilo es evaporado con nitrógeno. La solución salina se aplica a una columna C18 para limpieza en fase sólida y el cartucho se acondiciona con una mezcla de metanol-agua 20:80; el cloranfenicol se eluye con acetonitrilo. El eluato es evaporado a sequedad y silanizado. El cloranfenicol se cuantifica por cromatografía de gases con detector de captura de electrones usando una columna capilar DB-1. La confirmación se lleva a cabo por cromatografía de gases - espectrometría de masas, usando una columna capilar OV-1 y una ionización química de ion negativo.

6. Equipo

6.1. Aparatos.

- Picadora de alimentos.
- Aparato múltiple de vacío.
- Evaporador de nitrógeno.
- Centrífuga de 5000 rpm.

- Agitador vórtex.
- Homogeneizador de tejidos eléctrico.
- Incubadora capaz de regular la temperatura a 37°C.
- Módulo con bloques de calentamiento en seco capaz de regular la temperatura entre temperatura ambiente y 100°C.
- Potenciómetro con precisión de 0.1 unidades de pH.
- Balanza granataria.
- Balanza analítica.

6.2. Instrumentos.

6.2.1. Cromatógrafo de gases con inyector capilar, operado en la modalidad sin división de flujo, con detector de captura de electrones Ni-63 o equivalente.

6.2.2. Cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas extranuclear, cuadrupolar, con entrada capilar, inyección sin división de flujo, con ionización química de ion negativo.

7. Reactivos, soluciones y materiales

7.1. Reactivos.

- Metanol HPLC o G.A.R.
- Acetato de etilo HPLC o G.A.R.
- Hexano HPLC o G.A.R.
- Cloroformo HPLC o G.A.R.
- Acetonitrilo HPLC o G.A.R.
- Ciclohexano grado pesticida.
- Sylon HTP o equivalente.
- Hexametildisilazano G.R.
- Clorotrimetilsilano G.R.
- Piridina G.R.
- Fosfato monobásico de potasio G.R.
- Fosfato dibásico de sodio G.R.
- Cloruro de sodio G.R.
- Beta-glucoronidasa tipo A-1x.
- Perfluorotributilamina (PFTBA).
- Agua de alta pureza, resistencia específica de 18 megaohm/cm.
- Agua destilada.

7.2. Soluciones.

- Fosfato monobásico de potasio 0.1 M.- Pesar 13.61 g de KH_2PO_4 , disolver y diluir a 1000 ml con agua destilada.
- Fosfato dibásico de sodio 0.1 M.- Pesar 14.20 g de Na_2HPO_4 , disolver y diluir a 1000 ml con agua destilada.
- Solución reguladora de fosfatos.- Mezclar las soluciones de los fosfatos 0.1 M hasta alcanzar un pH de 6.8 \pm 0.1.
- Solución de beta-glucoronidasa.- Diluir con solución reguladora de fosfatos de pH 6.8 \pm 0.1, una cantidad adecuada de beta-glucoronidasa, para alcanzar una concentración de 4000 unidades por mililitro.
- Solución equivalente del Sylon HTP.- Mezclar hexametildisilazano, clorotrimetilsilano y piridina, en las siguientes proporciones 3:1:9.
- Solución de cloruro de sodio al 4%.- Pesar 4.0 g de NaCl, disolver y diluir a 100 ml con agua destilada.

7.3. Materiales.

- Helio alta pureza.
- Argón/metano 95/5 alta pureza.
- Isobutano o metano.
- Cuchillo o escalpelo con bisturí.
- Espátulas.
- Pipetas serológicas desechables de 10 ml.
- Pipetas volumétricas de 10, 5, 4, 2 y 1 ml.

- Micropipeta de 50 a 200 μ l.
- Matraces volumétricos de 1000 y 100 ml.
- Gradilla para tubos de ensayo.
- Tubos de centrifuga de vidrio de 50 ml con tapas de rosca recubiertas de teflón
- Microjeringas de 10 μ l.
- Frascos cónicos para automuestreador de 1 ml o viales de 2 ml con insertos de 100 μ l.
- Tubos de cultivo de borosilicato de 10 ml de 13 x 10 mm.
- Pipetas Pasteur.
- Columnas C18 para limpieza en fase sólida de 3 ml de 500 mg o cartuchos similares C18.
- Tubos de centrifuga desechables de borosilicato de 15 ml con tapa fenólica de rosca o equivalente.
- Frascos ámbar.
- Cronómetro.
- Columna para cromatografía de gases DB-1 de 30 m de longitud 0.254 mm de diámetro interno, con una película de 0.25 μ m de espesor o equivalente.
- Columna para cromatografía de gases OV-1 de 25 m de longitud 0.20 mm de diámetro interno, de sílica fundida unida a metil silicona con un espesor de película de 0.33 μ m.

8. Estándares

Los estándares de referencia usados son:

Cloranfenicol de 99% de pureza mínimo y metacloranfenicol.

8.1. Soluciones patrón 500 μ g/ml.

Pesar 50 mg de los estándares de cloranfenicol y metacloranfenicol, ponerlos en matraces volumétricos separados de 100 ml, disolver y llevar a volumen con metanol.

8.2. Soluciones intermedias 50 μ g/ml.

Poner 10 ml de la solución patrón en un matraz volumétrico de 100 ml y diluir al volumen con metanol.

8.3. Soluciones de trabajo 100 ng/ml.

Transferir 200 μ l de la solución anterior a un matraz volumétrico de 100 ml y llevar a volumen con metanol.

Todos los estándares deberán guardarse en frascos ámbar a -4°C . Las soluciones patrón y las intermedias tienen una vida de anaquel de 6 meses y los estándares de trabajo de 1 mes.

9. Procedimiento de extracción

9.1. Preparación de las muestras.

9.1.1. Quitar, tanto como sea posible, la grasa del músculo y el tejido conectivo del hígado y el riñón, utilizando el cuchillo o el bisturí.

9.2. Extracción.

9.2.1. Pesar 10 0.1 g de tejido molido y homogeneizado en un tubo de centrifuga de 50 ml.

9.2.2. De igual forma, preparar con cada serie de muestras un tejido blanco y tres muestras para recuperación.

9.2.3. Adicionar a todas las muestras 100 μ l de metacloranfenicol estándar interno de la solución de 100 ng/ml para tener 1 ppb.

9.2.4. Fortificar las 3 muestras de recuperación con 50, 100 y 200 μ l del estándar de trabajo, para tener, respectivamente, 0.5, 1.0 y 2.0 ppb.

9.2.5. Agregar a todas las muestras 15 ml de la solución reguladora de fosfatos de pH 6.8 0.1 y 200 μ l de la solución de beta-glucuronidasa (800 unidades).

9.2.6. Mezclar en un homogeneizador de tejidos por 30 a 60 s a temperatura ambiente.

9.2.7. Incubar todos los tubos a 37°C durante 90 min. Después de la incubación, poner las muestras en refrigeración toda la noche.

9.2.8. Equilibrar los tubos a temperatura ambiente.

9.2.9. Agregar 15 ml de acetato de etilo a cada tubo.

9.2.10. Mezclar en agitador vórtex por 30 s para extraer el cloranfenicol.

9.2.11. Centrifugar a 2,000 rpm durante 2 min para separar las fases.

9.2.12. Remover la capa superior de acetato de etilo con una pipeta desechable y transferir a un tubo de centrifuga limpio de 50 ml.

9.2.13. Repetir la extracción de las muestras, conforme al procedimiento establecido en los puntos 9.2.9. al 9.2.12. de esta Norma y combinar los extractos.

9.2.14. Reducir el volumen del acetato de etilo a 1 ml en evaporador de nitrógeno, con un flujo bajo de nitrógeno, usando un baño seco de temperatura constante a 60°C.

9.2.15. Adicionar 4 ml de la sol. acuosa de NaCl al 4% a todos los tubos y agitar en vórtex durante 5 a 10 seg.

9.2.16. Continuar la evaporación del acetato de etilo en el evaporador de nitrógeno hasta eliminar el acetato de etilo, dejando sólo un pequeño residuo aceitoso.

9.2.17. Agregar 5 ml de hexano a los 4 ml de la capa acuosa de NaCl al 4%. Agitar en vórtex por 10 seg. Centrifugar a 2,000 rpm por 1 min. Remover la capa superior y descartar.

9.2.18. Agregar nuevamente 5 ml de hexano a los 4 ml de la capa acuosa de NaCl al 4%. Agitar en vórtex por 10 seg. Centrifugar a 2,000 rpm por 1 min. Remover la capa superior y descartar.

El procedimiento establecido en los siguientes pasos del 9.2.19. al 9.2.22., deberán realizarse inmediatamente uno tras otro y no permitir que seque el adsorbente.

9.2.19. Preparar una columna C18 para cada muestra, blanco y muestras fortificadas, lavando cada columna secuencialmente con 5 ml de metanol, 5 ml de cloroformo, 5 ml de metanol y 10 ml de agua destilada. Descartar los lavados.

9.2.20. Cargar el extracto acuoso completo dentro de la columna C18 usando una pipeta Pasteur desechable. Descartar el eluato.

9.2.21. Lavar el tubo de la muestra mezclando en vórtex dos veces con 1 ml de agua destilada y agregar los lavados a la columna C18. Descartar el eluato.

9.2.22. Lavar cada columna C18 con 1 ml de agua destilada seguido por 2 ml de una mezcla de metanol: agua 20:80. Dejar eluir completamente el último lavado a través de la columna. Descartar los lavados.

9.2.23. Eluir el cloranfenicol de la columna C18 con dos porciones de acetonitrilo de 1.5 ml cada una, colectando el eluato en un tubo de cultivo limpio de 10 ml.

9.2.24. Evaporar el eluato de acetonitrilo a aproximadamente 0.5 ml, NO A SEQUEDAD, en un evaporador de nitrógeno, usando un baño seco de temperatura constante a 60°C con un flujo bajo de nitrógeno.

9.2.25. Transferir a un frasco cónico de 1 ml. Lavar el tubo de 10 ml adicionando 0.5 ml de acetonitrilo, mezclando en vórtex 5 seg. y agregando al frasco de 1 ml. Evaporar a sequedad suavemente con nitrógeno en un calentador seco a 60°C.

PRECAUCION: Evitar la presencia de humedad en los siguientes pasos.

9.2.26. Al residuo seco, agregar 200 µl de Sylon HTP o equivalente.

9.2.27. Tapar y agitar en vórtex 5 seg. Reaccionar a 60-70°C en un baño seco de temperatura constante por 15 min.

9.2.28. Evaporar el exceso de reactivos en el módulo con bloques de calentamiento en seco a 60°C con flujo bajo de nitrógeno, a aproximadamente 10 µl.

PRECAUCION: Un tiempo excesivo de secado puede resultar en pérdida del analito.

9.2.29. Reconstituir el residuo en 100 µl de una mezcla de ciclohexano:hexano 60:40, agitar en vórtex 5 seg.

9.2.30. Inyectar un volumen adecuado en microlitros del material derivatizado en cromatógrafo de gases, para determinación cuantitativa o en cromatógrafo de gases-espectrómetro de masas para confirmación.

9.3. Resumen del método.

El método anteriormente descrito se resume de la siguiente manera:

Pesar 10.0 ± 0.1 g de tejido muscular.

Pesar además tejido blanco y muestra de recuperación. Agregar a todos el estándar interno

Fortificar las muestras de recuperación a 0.5, 1.0 y 2.0 ppb de cloranfenicol

Adicionar 15 ml de sol. reguladora de fosfatos y 800 unidades de enzima, mezclar e incubar a 37°C, 90 min. Refrigerar toda la noche

Agregar 15 ml de acetato de etilo. Mezclar. Centrifugar a 2000 rpm. Transferir el acetato de etilo a un tubo de 50 ml repetir extracción y combinar los extractos. Evaporar a 1 ml a 60°C

Agregar 4 ml de NaCl al 4%. Mezclar y evaporar el sobrante del acetato de etilo

○
A la capa acuosa de NaCl al 4% adicionar 5 ml de hexano, mezclar, centrifugar a 2000 rpm. Remover la capa superior y descartar. Repetir este paso.

○
Aplicar los 4 ml de NaCl al 4% a una columna acondicionada C18. Lavar con 1 ml de agua. Lavar con 2 ml de metanol: agua 20:80. Descartar los lavados. Eluir con 2 x 1.5 ml de acetonitrilo. Evaporar el acetonitrilo a 0.5 ml.

○
Al residuo, adicionar 200 µl de Sylon HTP. Reaccionar 15 min a 60°C. Evaporar el reactivo en exceso

○
Reconstituir en 100 µl de ciclohexano: hexano 60:40. Inyectar en GC/EC o EC/MS

10. Procedimiento de cuantificación

10.1. Por cromatografía de gases con detector de captura de electrones.

Las siguientes condiciones son para un cromatógrafo de gases Hewlett - Packard modelo 5880 y deberán considerarse como un ejemplo solamente. El analista deberá optimizar estos parámetros para el instrumento que est usando.

10.1.1. Gas acarreador: Helio a una velocidad lineal de 29 cm/seg.

10.1.2. Gas de compensación: Argón/metano 95/5 con un flujo de 50 ml/min.

10.1.3. Temperatura inicial de la columna: 80°C.

10.1.4. Programación de temperatura: Programar a 30°C/min hasta 260°C, mantenerla durante 10 minutos o hasta que el isómero meta y el cloranfenicol hayan eluido. Programar nuevamente a 30°C/min hasta 300°C.

10.1.5. Temperatura final de la columna: 300°C por 5 min para asegurar que toda la muestra ha sido eluida.

10.1.6. Temperatura del inyector: 280°C

10.1.7. Temperatura del detector: 350°C

10.1.8. Sensibilidad: Atenuación 2/8

10.1.9. Tiempo de retención esperado: Metacloranfenicol de 9.5 a 10.5 min.
Cloranfenicol de 10 a 11 min.

10.1.10. Respuesta esperada: 50% de la escala completa para 2 µl del volumen final de extracción, que equivale a 0.2 ng de cloranfenicol.
Inyectar el blanco, las recuperaciones y las muestras.

10.2. Cálculos

10.2.1. Medir la altura del pico o área del pico, para cada compuesto en las muestras fortificadas de 0.5, 1.0 y 2.0 ppb, que han sido trabajadas de acuerdo al procedimiento y calcular la relación de altura o área del pico.

Relación de = altura o área del pico de cloranfenicol
altura o área altura o área del pico de metacloranfenicol
del pico.

10.2.2. Con las relaciones de altura o picos y sus correspondientes concentraciones en ppb, calcular la regresión lineal de la curva de calibración por el método de mínimos cuadrados.

$y = mx + b$

Donde:

y = Relación de altura o área del pico

x = Concentración de cloranfenicol en ppb

m = Pendiente

b = Intercepto

El coeficiente de correlación deberá ser mayor o igual a 0.9945.

10.2.3. Usando la pendiente de regresión y el intercepto, calcular la concentración del cloranfenicol (x) para cada muestra, con la relación de altura o área de pico obtenida.

10.3. Cuantificación por cromatografía de gases-espectrometría de masas.

10.3.1. Condiciones y parámetros para CG.

Las siguientes instrucciones son para el instrumento descrito en el punto 6.2.2. de esta Norma y se presentan como un ejemplo. El analista deberá optimizar los parámetros para el instrumento que est usando.

- Columna: OV-1 capilar de sílica fundida de 25 m de longitud.
- Temperatura del inyector: 230 °C
- Programación de temperatura: Iniciar a 150°C e incrementar hasta 300°C a una velocidad de 20°C/min. Mantener esta temperatura durante 10 min.
- Temperatura de la línea de transferencia: 300°C.
- Velocidad lineal en la columna: 29 cm/s
- Modo de operación del inyector: Sin división de flujo

10.3.2. Condiciones para EM

- Detección: Ionización química por ion negativo mejorado.
- Gas de ionización: Isobutano o metano.
- Presión de la fuente: 1.0 x 10⁻⁵ T
- Temperatura de la fuente: 260°C
- Modo de operación: Monitoreo selectivo de ion negativo.
- Tiempo de búsqueda del ion: 10 milisegundos
- Estándar de calibración: PFTBA; maximizar sobre el ion 452.
- Amplitud de barrido: 0.2 amu.
- Señal esperada/ruido de la menor intensidad del ion: 10/1.
- Voltaje del filamento: 300 eV.
- Corriente del filamento: 1000 µA.

10.3.3. Determinación

- Inyectar de 2 a 5 µl del estándar externo y analizar los resultados para verificar que el sistema está funcionando adecuadamente; en caso contrario, hacer los ajustes necesarios en los parámetros de operación o en la concentración del estándar e inyectar nuevamente para observar la resolución.
- Inyectar de 2 a 5 µl de cada una de las muestras para confirmación, la recuperación (estándar de 0.5 ppb) y el tejido blanco. El análisis confirmatorio se requiere en todas las muestras que salgan positivas por el método cuantitativo CG/CE.

10.3.4. Criterio para confirmación

- Especificación del tiempo de retención. Comparar el tiempo de retención de la muestra, con el tiempo de retención del tejido fortificado. Estos deberán estar en un 5%.

El siguiente es un ejemplo de tiempos de retención aceptables.

Compuesto Tiempo de retención esperado (min)

Metacloranfenicol 8.2 0.5

Cloranfenicol 9.0 0.5

- Los iones 468, 466, 322 y 304 deben estar presentes. En muestras con niveles altos de cloranfenicol, se pueden monitorear los iones m/z 358 y 360.

- Calcular por lo menos las siguientes tres relaciones para el estándar, fortificación y estándar, 466/468, 322/466 y 304/466. Para una confirmación exitosa entre 0.25 y 1.0 ppb, cualquiera de las relaciones de iones anteriores para la muestra deberá estar en un 20% de la relación para el tejido fortificado. En muestras con niveles altos de cloranfenicol, calcular también las relaciones 358/466 y 358/360.

La relación de iones del estándar fortificado deberá igualar la relación de iones de la muestra en un 20%. En las condiciones citadas, se espera lo siguiente:

$$466/468 = 1.43$$

$$322/466 = 0.49$$

$$304/466 = 0.57$$

Las relaciones dependen de la temperatura de la fuente.

11. Informe de resultados

Estos se reportarán en ppb.

12. Sanciones

El incumplimiento a las disposiciones contenidas en la presente Norma será sancionado, conforme a lo establecido en la Ley Federal de Sanidad Animal y la Ley Federal sobre Metrología y Normalización.

13. Concordancia con normas internacionales

Esta Norma Oficial Mexicana no es equivalente con ninguna norma internacional.

14. Bibliografía

Análisis de cloranfenicol Manual de Procedimientos del Laboratorio de Residuos Tóxicos y Contaminantes. Revisión 1992. Centro Nacional de Servicios de Constatación en Salud Animal SARH.

Determination and confirmation of chloramphenicol in veal calf muscle. Chemistry Laboratory Guidebook. July 1991-Revision. Food Safety and Inspection Service, Science USDA.

Rowland, W.F. La práctica de la cromatografía de gases. Hewlett-Packard Co. 2a. Edición (1a. en español) E.U.A.1977.

15. Disposiciones transitorias

Esta Norma entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el **Diario Oficial de la Federación**.

Sufragio Efectivo. No Reelección.

México, D.F., a 1o. de marzo de 1995.- El Director General Jurídico, **Roberto Zavala Echavarría**.- Rúbrica.