

PUBLICADA EN EL DIARIO OFICIAL DE LA FEDERACIÓN EL 27 DE MARZO DE 1995

NORMA Oficial Mexicana NOM-017-ZOO-1994, Análisis de bencimidazoles en hígado y músculo de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves por cromatografía de líquidos alta resolución.

Al margen un sello con el Escudo Nacional, que dice: Estados Unidos Mexicanos.- Secretaría de Agricultura, Ganadería y 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 el análisis de bencimidazoles en hígado y músculo de bovinos, equinos, porcinos, ovinos y aves por cromatografía de líquidos alta resolución, 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-017-ZOO-1995, denominada ANALISIS DE BENCIMIDAZOLES EN HIGADO Y MUSCULO DE BOVINOS, EQUINOS, PORCINOS, OVINOS Y AVES POR CROMATOGRAFIA DE LIQUIDOS ALTA RESOLUCION.

INDICE

1. OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACION
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. 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 el método de prueba para la cuantificación de residuos de bencimidazoles en hígado y 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, 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 su respectiva competencia 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 su respectiva competencia 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 Zoonosanitaria.

NOM-004-ZOO-1994 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 líquidos alta resolución: 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, que es la fase líquida.

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

3.4. 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 (CA).

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

CA

3.5. 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

AUFS escala completa de unidades de absorción (por sus siglas en inglés)

CG cromatografía de gases

cm centímetro

g gramo

G.A.R. grado análisis de residuos

G.HPLC grado HPLC

G.P. grado pesticida

G.R. grado reactivo

G.UV	grado ultravioleta
HPLC	cromatografía de líquidos alta resolución (por sus siglas en inglés)
l	litro
M	molar
m	metro
mg	miligramo
min	minuto
ml	mililitro
mm	milímetro
mM	milimol
nm	nanómetro
N	normal
ppm	partes por millón
ppb	partes por billón
rpm	revoluciones por minuto
s	segundo
uv	ultra violeta
µg	microgramos
µl	microlitros
µ	micras
°C	grados Celsius o centígrados
%	por ciento

5. Fundamento

Este procedimiento se utiliza para la determinación de los residuos de bencimidazoles por cromatografía de líquidos alta resolución en fase reversa, con detector ultravioleta. Los residuos que pueden determinarse son: el tiabendazol y su metabolito el 5-hidroxitiabendazol, el metabolito albendazol 2-amino sulfona, el benomilo en su forma hidrolizada activa (carbendazim), el oxfendazol, el mebendazol, el cambendazol y el fenbendazol; siendo la sensibilidad del método de aproximadamente 25 ppb, sobre la base de una muestra de 10 g. El método aprovecha la naturaleza débilmente básica del núcleo de los bencimidazoles para lograr una extracción y limpieza efectiva. Una muestra de 10 g de tejido, se fortifica con el estándar interno, el 2-(n-butilmercapto) bencimidazol y se agita con sulfato de sodio granular, carbonato de potasio 4 M y acetato de etilo. La mezcla se centrifuga y el sobrenadante líquido se transfiere a otro tubo. El volumen se reduce y se transfiere cuantitativamente a un tubo más pequeño con acetato de etilo y se evapora a sequedad; el residuo se disuelve en hexano. La solución de hexano, es extraída con una solución de etanol-ácido clorhídrico 0.2 N y centrifugada; la capa de hexano se remueve y se descarta. Una alícuota de la fase acuosa se seca y el residuo seco se disuelve en la fase móvil para análisis por HPLC. Los bencimidazoles son separados y cuantificados por HPLC con detector UV a 298 nm, los tejidos de aves se examinan a 280 nm para carbendazim.

Para aquellas muestras donde los efectos de matriz, impiden el análisis satisfactorio por HPLC, se aplica una alícuota de la solución de etanol:HCl 0.2 N en una columna de extracción en fase sólida C2. Los bencimidazoles se eluyen con acetato de etilo; el eluato es evaporado y el residuo se disuelve en la fase móvil para inyección en la columna del HPLC.

6. Equipo

6.1. Aparatos.

- Licuadora.
- Agitador mecánico.

- Centrífuga de 5000 rpm.
- Evaporador de nitrógeno.
- Módulo con bloques de calentamiento en seco, capaz de regular la temperatura hasta 100°C.
- Potenciómetro con precisión de 0.1 unidades de pH.
- Mezclador vórtex.
- Dosificador ajustable de varias capacidades: de 1.0 a 5.0 ml, de 2.0 a 10.0 ml y de 10.0 a 50.0 ml.
- Balanza granataria.
- Balanza analítica.
- Bomba de vacío.

6.2. Instrumentos.

- Cromatógrafo de líquidos alta resolución con detector ultravioleta.

7. Reactivos, soluciones y materiales

7.1. Reactivos.

- Acetato de etilo, G.P.
- Etanol, G.R.
- Metanol, G.HPLC.
- Hexano, G.UV o G.HPLC.
- Acetona, G.R.
- Sulfoxido de dimetilo, grado siilación.
- Sulfato de sodio anhidro granular, G.R.
- Carbonato de potasio anhidro granular, G.R.
- Acido clorhídrico, G.R.
- Bicarbonato de potasio, G.R.
- Trietilamina, 99% de pureza.
- Hidróxido de amonio, G.R.
- Fosfato monobásico de amonio, G.R.
- Ioduro de butilo, 99% de pureza.
- 2-Mercaptobencimidazol, 98% de pureza.
- Agua, G.HPLC.

7.2. Soluciones.

- Carbonato de potasio 4 M.- Colocar dentro de un matraz volumétrico de 1000 ml, 552.84 g de K_2CO_3 , disolver y llevar al aforo con agua, G.HPLC.
- Solución de ácido clorhídrico 0.2 N.- Diluir 16.5 ml de HCl, G.R. a 1000 ml con agua, G.HPLC.
 - Solución de etanol-ácido clorhídrico 0.2 N.- Mezclar 66 ml de alcohol etílico G.R. con 33 ml de solución de HCl 0.2 N. Preparar cada dos semanas.
 - Solución de bicarbonato de potasio al 2%.- Pesar 2.0 g de $KHCO_3$, disolver y diluir a 100 ml con agua, G.HPLC.
 - Solución de hidróxido de amonio al 50%.- Mezclar 50 ml de NH_4OH con 50 ml de agua, G.HPLC.
 - Solución reguladora de fosfato monobásico de amonio 0.01 M pH de 7.0 a 7.5.- Disolver 1.15 g de $NH_4H_2PO_4$ en

aproximadamente 950 ml de agua destilada; ajustar a pH 7.5 con solución de NH_4OH al 50 % y llevar a un volumen final de 1000 ml. Preparar antes de usar y refrigerar.

- Mezcla de metanol-solución reguladora de fosfato monobásico de amonio, sin trietilamina, para usarse en la preparación de los estándares de trabajo y para reconstituir el residuo seco. Combinar 530 ml de metanol con 470 ml de solución reguladora de fosfato monobásico de amonio 0.01 M y pasar a través de un filtro de 0.45 μ antes de usar.
- Fase móvil para HPLC.- Solución de metanol: $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 53:47 que contiene 10 mM de trietilamina. Combinar 530 ml de metanol, 470 ml de solución reguladora de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.01 M y 1400 ml de trietilamina. Pasar a través de un filtro de 0.45 μ antes de usar.

7.3. Materiales.

- Columnas analíticas fase reversa C18, de 125, 150 o 250 x 4.6 mm, tamaño de partícula 5 μ .
- Columnas de extracción en fase sólida C2 de 200 mg y 3 ml de capacidad.
- Tubos de centrifuga de plástico de 50 ml, desechables.
- Tubos de centrifuga de vidrio de 15 ml, desechables.
- Tubos de vidrio con tapas recubiertas de teflón de 25 x 150 mm, de 50 ml de capacidad.
- Tubos de cultivo de vidrio de 50 ml, desechables.
- Matraces volumétricos de 1000, 200, 100 y 10 ml, clase A.
- Perilla
- Pipetas Pasteur.
- Pipetas serológicas de vidrio de 10 ml desechables.
- Pipetas volumétricas de 40, 5, 2, 1 y 0.5 ml, clase A.
- Jeringas de tuberculina de 1 ml.
- Jeringa hermética de 100 μl .
- Viales de 4 ml.
- Gradillas para tubo de ensayo.

8. Estándares

8.1. Los estándares de referencia usados son:

Cambendazol, tiabendazol, 5-hidroxitiabendazol, benomilo o carbendazim que es la forma activa del benomilo, el metabolito albendazol 2-aminosulfona, oxfendazol, mebendazol y fenbendazol.

8.1.1. Soluciones patrón de 1 mg/ml.

En matraces volumétricos separados de 10 ml, debidamente identificados, pesar 10 mg de los estándares de referencia, disolviendo y llevando a volumen con sulfóxido de dimetilo los siguientes: carbendazim, 2-aminosulfona albendazol, oxfendazol, mebendazol y fenbendazol. Los tres restantes, cambendazol, tiabendazol y 5-hidroxitiabendazol, se disuelven y aforan con metanol.

8.1.2. Solución intermedia estándar de 10 $\mu\text{g/ml}$ para todos los compuestos excepto el fenbendazol, el cual se prepara a 20 $\mu\text{g/ml}$.

En un matraz volumétrico de 100 ml, mezclar de 2 ml de la solución patrón de fenbendazol con alícuotas de 1 ml de cada una de las soluciones patrón restantes y diluir a volumen con metanol.

8.1.3. Soluciones de trabajo estándares de 0.5, 1.0 y 2.0 $\mu\text{g/ml}$ para 7 bencimidazoles y de 1.0, 2.0 y 4.0 $\mu\text{g/ml}$ para fenbendazol.

En 3 matraces volumétricos separados de 10 ml, colocar alícuotas de 0.5, 1.0 y 2.0 ml, respectivamente, de la solución intermedia estándar. Adicionar a cada matraz, volúmenes iguales de la solución reguladora de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 0.01 M y diluir al volumen con metanol-solución reguladora de $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$. Un ml de la solución de 1.0 $\mu\text{g/ml}$ en 10 g de tejido, es equivalente a 100 ppb excepto para fenbendazol que es de 200 ppb.

8.2. Como estándar interno, se utiliza el 2-(n-butilmercapto) bencimidazol, el cual se prepara de la siguiente manera:

8.2.1. Solución patrón del estándar interno de 200 $\mu\text{g/ml}$.

- Pesar 2.0 mg de 2-mercaptobencimidazol en un tubo de vidrio de 50 ml con tapón de rosca recubierto de teflón.

- Adicionar 10 ml de acetona, 200 µl de yoduro de n-butilo y 100 mg de carbonato de potasio al tubo.
- Mezclar bien el contenido en un vórtex, sellar el tubo y refluir a 90°C por 90 min en un módulo de calentamiento.
- Enfriar la solución bajo agua fría a temperatura ambiente.
- Transferir la solución a un tubo de ensayo de 50 ml.
- Lavar el tubo de reacción con 5 ml de acetona y agregarla al tubo de ensayo.
- Evaporar el contenido a sequedad a 40°C, con una corriente suave de nitrógeno.
- Adicionar 3 ml de metanol al tubo y mezclar para reconstituir el residuo.
- Transferir la solución a un matraz volumétrico de 10.0 ml.
- Lavar el tubo de ensayo, con dos porciones de 2 ml cada una de metanol y agregar ambos lavados al matraz volumétrico. Diluir a la marca con metanol.

8.2.2. Solución intermedia del estándar interno de 10 µg/ml.

- Transferir una alícuota de 5 ml de la solución patrón de 2-(n-butilmercapto) bencimidazol a un matraz volumétrico de 100 ml y diluir a la marca con metanol.

8.2.3. Solución de trabajo del estándar interno de 2 µg/ml.

- Transferir una alícuota de 40 ml de la solución intermedia a un matraz volumétrico de 200 ml. Diluir a la marca con la solución de metanol: NH₄H₂PO₄ 53:47, sin trietilamina.
- Comparar cada nuevo estándar sintetizado con el anterior para asegurar una reacción completa de síntesis.
- Conservar a -20°C protegida de la luz.

9. Procedimiento de extracción

9.1. Preparación de las muestras.

9.1.1. Con el cuchillo o el bisturí, quitar tanto como sea posible la grasa del músculo y el tejido conectivo del hígado. Licuar por separado hasta que los tejidos estén homogeneizados.

9.1.2. Congelar las muestras en bolsas de plástico lisas, en porciones de 2 cm de espesor.

9.2. Extracción.

9.2.1. Pesar 10 g de muestra licuada, dentro de un tubo de centrifuga de plástico de 50 ml, desechable. Pesar el tejido congelado y dejar descongelar antes de iniciar el análisis.

9.2.2. A cada una de las muestras, adicionar 1 ml de 2-(n-butilmercapto) bencimidazol como estándar interno a una concentración de 2.0 µg/ml en mezcla de metanol-solución reguladora de NH₄H₂PO₄, para tener 200 ppb.

9.2.3. Por cada serie de muestras preparar un tejido blanco y una muestra de recuperación. Adicionar a ambos el estándar interno a 200 ppb. Para estimar la concentración, fortificar la muestra de recuperación a 100 ppb para todos los analitos, excepto el fenbendazol el cual se agrega a 200 ppb.

Para el reanálisis de las muestras que resulten positivas, preparar por cada serie, un tejido blanco y tres de recuperación; adicionando a todas el estándar interno a 200 ppb. Fortificar las muestras de recuperación a tres concentraciones diferentes: 50, 100 y 200 ppb, excepto para el fenbendazol que será de 100, 200 y 400 ppb. Los datos serán usados para elaborar la curva estándar.

9.2.4. Adicionar a todos los tubos, 5 g de Na₂SO₄ anhidro, 1 ml de solución de K₂CO₃ y 30 ml de acetato de etilo, en el orden mencionado.

9.2.5. Tapar los tubos y romper cualquier capa de Na₂SO₄ agitando en vórtex durante 10 s; colocar en un agitador mecánico por 10 min a alta velocidad.

9.2.6. Centrifugar los tubos por 5 min a 2500 rpm.

9.2.7. Decantar el sobrenadante en otro tubo de centrifuga de plástico de 50 ml desechable, debidamente identificado. Cuidar de no pasar ningún sedimento, si esto sucediera, retirarlo con una pipeta Pasteur.

9.2.8. Reducir el volumen a aproximadamente 10 ml, en un evaporador de nitrógeno con un flujo bajo del gas, usando un baño de agua a 55 °C.

9.2.9. Transferir el líquido remanente de cada uno de los tubos de 50 ml, a tubos de centrifuga de vidrio de 15 ml desechables.

9.2.10. Lavar cada uno de los tubos de 50 ml con dos porciones de 2 ml de acetato de etilo y agregar ambos lavados a los tubos de 15 ml.

9.2.11. Evaporar a sequedad el contenido, a 55 °C, con una corriente suave de nitrógeno.

9.2.12. Adicionar 5 ml de hexano G.UV al residuo seco y mezclar bien por 20 s en un vórtex.

El procedimiento puede ser interrumpido en este punto.

9.2.13. Agregar 1 ml de solución de etanol:HCl 0.2 N y mezclar completamente en vórtex.

La solución etanol: ácido, prepararse cada dos semanas ya que las soluciones de más tiempo, tienden a convertir el fenbendazol a oxfendazol durante el análisis.

9.2.14. Centrifugar los tubos por 2 min a 1000 rpm para separar las fases.

9.2.15. Con una pipeta Pasteur conectada al vacío, remover y descartar la capa superior de hexano, evitando aspirar y agitar la fase de etanol-ácido o cualquier emulsión presente en la interfase.

9.2.16. Adicionar nuevamente 5 ml de hexano, G.UV al tubo y agitar en vórtex.

9.2.17. Centrifugar los tubos por 2 min a 1000 rpm para separar las fases.

9.2.18. Aspirar y descartar el hexano (capa superior) y cualquier emulsión presente.

9.2.19. Si se observara un precipitado, centrifugar 2 min a 2500 rpm.

9.2.20. Transferir 300 µl de la solución etanol: ácido del tubo a un vial de 4 ml.

9.2.21. Evaporar este volumen a sequedad, en un módulo de calentamiento a 35 - 40°C con flujo bajo de nitrógeno.

9.2.22. Adicionar 300 µl de la solución reguladora de metanol: fosfato de amonio 53:47 sin trietilamina, al vial y mezclar en vórtex para reconstituir el tejido.

9.2.23. Transferir el volumen, con una jeringa de tuberculina a un vial de automuestreador con inserto de bajo volumen para inyección al HPLC, filtrando en un acrodisco de 0.45 µ.

Si el cromatograma inicial de una muestra es inaceptable, debido a una pobre separación entre los picos por efectos de la matriz, se deberán realizar los siguientes pasos:

a) Preparar una columna C2 por cada muestra a analizar, lavando cada una secuencialmente con 6 ml de acetato de etilo G.P., 3 ml de etanol G.R. y 3 ml de agua G.HPLC, usando vacío y descartando los lavados. No permita que el empaque de la columna seque entre los lavados; tapar la salida de la columna C2 al final del lavado con agua, dejando una gota de agua arriba del empaque. La columna así acondicionada queda lista para usarse conforme a la indicación señalada en el inciso d) de este punto.

b) Transferir 300 µl de la solución de etanol ácido del paso 9.2.18 a un tubo de centrifuga de vidrio de 15 ml, desechable.

c) Adicionar 2 ml de la solución acuosa de bicarbonato de potasio al 2% y mezclar completamente en vórtex durante 2 min o más.

d) Aplicar el volumen completo del tubo a la columna acondicionada C2 y dejar pasar a través por gravedad.

e) Lavar dos veces la columna C2 con agua G.HPLC y secar el empaque con vacío suave, hasta que no haya agua intersticial visible.

f) Eluir los analitos adsorbidos de la columna C2 con 900 µl de acetato de etilo que se pasan por gravedad. El volumen final puede ser eluido de la columna aplicando presión positiva con una jeringa de plástico de 20 ml o con una perilla. Colectar el eluato en un vial de 4 ml.

g) Evaporar el eluato a sequedad en un módulo de calentamiento a 35 - 40°C bajo una corriente suave de nitrógeno.

h) Agregar 300 µl de la mezcla de metanol:solución reguladora de fosfato de amonio 53:47 sin trietilamina, al vial y mezclar en un vórtex para reconstituir el residuo.

i) Con una jeringa de tuberculina adaptada con un filtro de acrodisco de 0.45 µ, transferir el líquido a un vial del automuestreador, con inserto de bajo volumen (300 µl) para inyección al HPLC.

9.3. Resumen del método.

El método anteriormente descrito se resume de la siguiente manera:

Homogeneizar la muestra y congelar

o

Pesar 10.0 ± 0.1 g de muestra, tejido blanco y
recuperación.

o

Adicionar a todas las muestras el estándar
interno y fortificar la muestra de recuperación

o

Mezclar las muestras con Na₂SO₄, K₂CO₃ y
acetato de etilo

o

Centrifugar y salvar el sobrenadante

o

Evaporar el sobrenadante a un residuo
aceitoso.

o

Agregar hexano y etanol ácido al residuo

o

Mezclar y descartar el hexano

o

Adicionar hexano

o

Mezclar y descartar el hexano

o

Evaporar el etanol ácido a sequedad

o

Reconstituir en la fase móvil para HPLC

o

Injectar en el HPLC

o

Si la separación entre los picos no fuese
aceptable adicionar KHCO_3

o

Aplicar a una columna de extracción en fase
sólida C2

o

Lavar con agua G.HPLC

o

Eluir con acetato de etilo

o

Evaporar a sequedad

o

Reconstituir en la fase móvil para HPLC

o

Injectar al HPLC

10. Procedimiento de cuantificación

Las siguientes condiciones se sugieren como guía; el analista deberá optimizar estos parámetros para el instrumento que est usando.

10.1. Fase móvil: Metanol: Solución reguladora de

$\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ 53: 47, con trietilamina;

correr isocráticamente.

10.2. Velocidad de flujo: 0.75 ml/min

10.3. Volumen de inyección: 20 μl

10.4. Temperatura de la columna: Ambiente, 22 °C

10.5. Longitud de onda de absorbancia del detector: 298 nm

10.6. Sensibilidad del detector: 0.02 AUFS

10.7. Velocidad de la carta: 1.00 cm/min

10.8. Amplitud del pico: 24

10.9. Rechazo del ruido: 6.800

10.10. Area de rechazo: 100

Injectar el tejido blanco, las recuperaciones y las muestras. El porcentaje de recuperación aceptable es de 70 a 110 %.

11. Resultados

11.1. Cálculos

- Comparar la altura del pico del analito de interés con el estándar interno para obtener una concentración estimada.
- Para las muestras positivas, determinar la altura del pico para cada compuesto, en las muestras fortificadas con 0, 50, 100 y 200 ppb, que han sido trabajadas de acuerdo al procedimiento y calcular la relación de altura del pico.

Relación = $\frac{\text{altura del pico del analito de interés}}{\text{altura del pico del estándar interno}}$

altura del pico del estándar interno

11.2. 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 analito en ppb.

m = Pendiente.

b = Intercepto.

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

11.4. Informe de resultados

Estos se reportarán en ppm o ppb del compuesto encontrado.

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

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

Screen and Confirmation of Benzimidazole Residues in Animal Tissues. Chemistry Laboratory Guidebook. July 1991 Revision. Food Safety and Inspection Service, Science USDA.

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 8 de marzo de 1995.- El Director General Jurídico, **Roberto Zavala Echavarría**.- Rúbrica.