

NOTA IMPORTANTE:

La entidad sólo puede hacer uso de esta norma para si misma, por lo que este documento NO puede ser reproducido, ni almacenado, ni transmitido, en forma electrónica, fotocopia, grabación o cualquier otra tecnología, fuera de su propio marco.

ININ/ Oficina Nacional de Normalización

NORMA CUBANA

NC

ISO 3091: 2007
(Publicada por la ISO en 1975)

**CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS—DETERMINACIÓN DEL
CONTENIDO DE NITRATO—MÉTODO DE REFERENCIA
(ISO 3091:1975, IDT)**

Meat and meat products—Determination of nitrate content (Reference method)

ICS: 67.120.10

1. Edición Junio 2007
REPRODUCCIÓN PROHIBIDA

Oficina Nacional de Normalización (NC) Calle E No. 261 Vedado, Ciudad de La Habana. Cuba. Teléfono: 830-0835 Fax: (537) 836-8048; Correo electrónico: nc@ncnorma.cu; Sitio Web: www.nc.cubaindustria.cu



Cuban National Bureau of Standards

NC-ISO 3091: 2007

Prefacio

La Oficina Nacional de Normalización (NC), es el Organismo Nacional de Normalización de la República de Cuba y representa al país ante las organizaciones internacionales y regionales de normalización.

La elaboración de las Normas Cubanas y otros documentos normativos relacionados se realiza generalmente a través de los Comités Técnicos de Normalización. Su aprobación es competencia de la Oficina Nacional de Normalización y se basa en las evidencias del consenso.

Esta Norma Cubana:

- Ha sido elaborada por el Comité Técnico de Normalización NC/CTN 70 Carne y productos cárnicos, en el cual están representados las siguientes entidades:
 - Centro Nacional de Inspección de la Calidad (CNICA-MINAL).
 - Empresa Cárnica Habana.
 - Empresa Cárnica Tauro.
 - Industrias Cárnicas Bravo S.A.
 - Instituto de Investigaciones para la Industria Alimenticia (IIIA-MINAL).
 - Instituto de Medicina Veterinaria (IMV-MINAG).
 - Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA-MINSAP).
 - Laboratorio CUBACONTROL S.A.
 - Laboratorio del MINCIN.
 - Ministerio de las Fuerzas Armadas Revolucionarias.
 - Oficina Nacional de Normalización.
 - Unión Cárnica.
- Es una adopción idéntica por el método de traducción de la norma internacional ISO 3091:1975 *Meat and meat products. Determination of nitrate content (Reference method)*. Al estar derogada la referencia normativa a la ISO 31000 en la norma adoptada, se sustituye en el texto de la presente norma por la NC 274: 2003 *Carne y productos cárnicos. Preparación de la muestra de ensayo*.
- Sustituye a la NC 79-06:1981 *Carne y productos cárnicos. Métodos de ensayo*, en lo que se refiere al Capítulo 29: Determinación de Nitrato.

© NC, 2007

Todos los derechos reservados. A menos que se especifique, ninguna parte de esta publicación podrá ser reproducida o utilizada en alguna forma o por medios electrónicos o mecánicos, incluyendo las fotocopias, fotografías y microfilmes, sin el permiso escrito previo de:

Oficina Nacional de Normalización (NC)

Calle E No. 261, Vedado, Ciudad de La Habana, Habana 4, Cuba.

Impreso en Cuba.

Índice

1. Alcance	4
2. Referencias normativas	4
3. Definición	4
4. Principio	4
5. Reactivos	4
6. Aparatos	5
7. Preparación de la muestra	6
8. Procedimiento	6
9. Expresión de resultados	9
10. Reporte de ensayo	9

CARNE Y PRODUCTOS CÁRNICOS—DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE NITRATO**1. Alcance**

Esta Norma Cubana especifica un método de referencia para la determinación del contenido de nitrato en carne y productos cárnicos.

2. Referencias Normativas

NC 357:2004 Carne y Productos Cárnicos-Determinación del contenido de nitrito.

NC 274:2003 Carne y Productos Cárnicos. Preparación de la muestra de ensayo.

3. Definición

Para los propósitos de esta Norma Cubana se aplican las siguientes definiciones.

3.1-Contenido de nitrato de la carne y los productos cárnicos:- es el contenido de nitrato determinado bajo las condiciones de operación especificadas en esta Norma Cubana, expresado en miligramos de nitrato de potasio por kilogramos de la porción de ensayo (partes por millón).

4. Principio

Extracción de la porción de ensayo con agua caliente, precipitación de las proteínas y filtración.

Reducción del nitrato a nitrito mediante cadmio metálico.

Adición de sulfanilamida y dihidrocloruro de N-1-naftilendiamina al filtrado para el desarrollo de color rojo. El complejo de color rojo se mide a 538nm.

5. Reactivos

Todos los reactivos serán de calidad analítica. El agua que se use será agua destilada o agua de pureza equivalente.

5.1 Varillas de Zinc de aproximadamente 15cm de longitud y de 5 a 7cm de diámetro.

5.2 Solución para precipitar las proteínas.

5.2.1 Reactivo I:- Disuelva 106g de ferrocianuro de potasio trihidratado $[K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O]$ en agua y diluya hasta 1000ml.

5.2.2 Reactivo II:- Disuelva 220g de acetato de Zinc dihidratado $[Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O]$ y 30ml de ácido acético glacial en agua y diluya a 1 000ml.

5.2.3 Solución saturada de Bórax:- Disuelva 50g de tetraborato disódico decahidratado $(Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O)$ en 1 000ml de agua tibia y enfríe hasta temperatura ambiente.

5.3 Solución de Sulfato de Cadmio 30g/l:- Disuelva 37g de sulfato de cadmio octohidratado $3CdSO_4 \cdot 8H_2O$ en agua y diluya hasta 1 000ml.

5.4 Solución de ácido clorhídrico aproximadamente 0,1 N:- Diluya 8ml de solución de ácido clorhídrico concentrado ($d_{20^\circ C} \cdot 1,19g/ml$) hasta 1 000ml con agua.

5.5 Solución buffer de amoniaco de ph 9,6 a 9,7:- Diluya 20ml de ácido clorhídrico concentrado (d20°C+1,19g/ml) con 500ml de agua. Después de mezclado, añádale 10g de sal disódica del ácido tetra-acético etilendiamina dihidratado $[\text{CH}_2\text{N}-(\text{CH}_2-\text{COOH})-\text{CH}_2\text{COONa}]_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ y 55ml de amoniaco concentrado (d20°C+0,88g/ml). Diluya hasta 1 000ml con agua y mezcle. Chequee el ph.

5.6 Solución patrón de nitrito de sodio:

5.6.1 Disuelva 1,000g de nitrito de sodio (NaNO_2) en agua y diluya hasta 100ml en un matraz aforado.

5.6.2 Pipetee 5ml de esta solución y transfírela a un matraz aforado de 1 000ml y diluya hasta enrasar.

5.6.3 Con pipetas transfiera 5ml, 10ml y 20ml de la solución preparada en 5.6 2 a sendos matraces aforados de 100ml y diluya hasta enrasar. Estas soluciones patrón contienen 2,5ug; 5.0ug y 10.0ug de nitrito de sodio por ml respectivamente.

Las soluciones del 5.6 2 y 5.6 3 deben prepararse el mismo día que se van a usar.

5.7 Soluciones necesarias para el desarrollo del color.

5.7.1 Solución I:- Disuelva por calentamiento en baño de agua 2g de sulfanilamida ($\text{NH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2\text{NH}_2$) en 800ml de agua. Enfríe, filtre si es necesario y adicione 100ml de solución de ácido clorhídrico concentrado (d20°C+1,19g/ml) mientras agita continuamente. Diluya a 1 000ml con agua.

5.7.2 Solución II:- Disuelva 0,25g de dihidrocloruro de N-1 naftiletildiamina $[\text{C}_{10}\text{H}_7\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2\text{HCl}]$ en agua. Diluya a 250ml con agua. Conservar en frasco ámbar bien cerrado, en refrigeración, por no más de una semana.

5.7.3 Solución III:- Diluya 445ml de ácido clorhídrico concentrado (d20°C+1,19g/ml) a 1 000ml de agua.

5.8 Solución patrón de nitrato de potasio:- Disuelva 1,465g de nitrato de potasio (KNO_3) en agua y diluya a 100ml en un matraz aforado. Transfiera con pipeta 5ml de esta solución a un matraz aforado de 1 000ml y diluya hasta enrasar. Esta solución contiene 73,25ug/ml de nitrato de potasio y debe prepararse el mismo día que se va a usar.

6. Aparatos.

6.1 Equipo eléctrico o mecánico capaz de homogenizar la muestra del laboratorio. Este incluye una cortadora rotacional de alta velocidad o molino con un disco de orificios de diámetro no mayor de 4,0mm.

6.2 Balanza Analítica.

6.3 Matraz Aforado de 100ml, 200ml y 1 000ml.

6.4 Pipetas de 10ml y 20ml y de ser necesario de otra capacidad de acuerdo a la alícuota del filtrado (8.8.1).

6.5 Baño de Agua hirviendo.

6.6 Papel de Filtro de 15cm de diámetro y libre de nitritos y nitratos.

6.7 Equipos de vidrio para reducción del nitrato (véase anexo).

6.8 Espectrómetro o colorímetro fotoeléctrico que pueda usarse a 538nm con celda de vidrio de 1cm de longitud de trayectoria de la luz.

6.9 Erlenmeyer de 300ml.

7. Preparación de la muestra

7.1 Tome una muestra representativa de no menos de 250g (Ver NC 274:2003)

7.2 Prepare la muestra de ensayo (8.1) inmediatamente y de no ser posible, consérvela a una temperatura de 0 a 5°C durante no más de 4 días. (Ver NC 274:2003)

8. Procedimiento

8.1 Preparación de la muestra de ensayo:- Homogenice la muestra pasándola al menos dos veces a través del equipo que corta y homogeniza (6.1) guarde en un recipiente completamente lleno y bien cerrado en refrigeración. Se analiza lo antes posible, pero en todos los casos dentro de las 24h a partir del momento que se toma la muestra.

NOTA: En caso de productos no cocidos, se analiza inmediatamente después de la homogenización.

8.2 Preparación de la columna de cadmio.

8.2.1 Coloque de 3 a 5 varillas de Zinc (5.1) en la solución de sulfato de cadmio (5.3) contenida en un vaso de precipitado (1l de solución de sulfato de cadmio es suficiente para la preparación de una columna de cadmio).

8.2.2 Remueva el cadmio metálico esponjoso que se deposita en las varillas de Zn cada 1 ó 2 horas, agitando la solución o por fricción entre ellas.

8.2.3 Finalmente, después de 6 a 8 horas, decante la solución y lave el depósito 2 veces con 1 litro de agua, teniendo cuidado que el cadmio esté constantemente cubierto por una capa de líquido.

8.2.4 Transfiera el cadmio depositado con 400ml de solución de ácido clorhídrico (5.4) a una mezcladora de laboratorio y mezcle por 10s. Coloque el contenido de la mezcladora dentro de un vaso de precipitado.

8.2.5 Agite ocasionalmente el cadmio depositado con un agitador de vidrio y déjelo después por una noche en una solución de ácido clorhídrico. Agite una vez más para eliminar del cadmio todas las burbujas de gas.

8.2.6 Decante la solución y lave el cadmio manchado dos veces con 1 litro de agua cada vez.

8.2.7 Ajuste un tapón de lana de vidrio en la parte inferior de la columna de vidrio para contener el cadmio (ver anexo).

8.2.8 Lave el cadmio que está dentro de la columna de vidrio con agua hasta que la altura de la columna de cadmio alcance alrededor de 17cm. Desagüe la columna ocasionalmente durante el llenado cuidando de no permitir que el nivel del líquido caiga por debajo de la columna de cadmio. Elimine las inclusiones de gas (utilizando una varilla de vidrio). El líquido debe fluir a una velocidad que no exceda 3ml/min.

8.3 Porción de Ensayo

Pese 10g de la muestra de ensayo con aproximación de 0,00 lg.

8.4 Desproteínización.

8.4.1 Transfiera la porción de ensayo cuantitativamente dentro de un erlenmeyer (6,9) y añádale sucesivamente 5ml de solución saturada de Bórax (5.2.3) y 100ml a agua a temperatura no menor de 70°C.

8.4.2 Caliente el erlenmeyer y su contenido por 15 min en un baño de agua hirviendo (6.5) agitando repetidamente.

8.4.3 Enfríe a temperatura ambiente el erlenmeyer y su contenido y, adicione sucesivamente 2ml del reactivo I (5.2.1) y 2ml del reactivo II (5.2.2). Mezcle bien después de cada adición.

8.4.4 Transfiera el contenido a un matraz aforado de 200ml (6.3). Diluya hasta enrasar con agua y mezcle. Espere por 30 min a temperatura ambiente.

8.4.5 Decante cuidadosamente el líquido sobrenadante y filtre el mismo a través de un papel de filtro (6.6) hasta obtener un líquido claro.

NOTA: Si se requiere determinar el contenido de nitrito y nitrato en la misma muestra, el mismo filtrado desproteínizado puede ser utilizado para ambas determinaciones.

8.5 Pretratamiento de la columna de cadmio:-

Lave sucesivamente la columna de cadmio con 25ml de solución de ácido clorhídrico (5.4), 50ml de agua y 25ml de la solución reguladora de ph (5.5). No permita que el nivel del líquido en la columna caiga por debajo del borde superior del capilar que está en la entrada de la columna de cadmio.

8.6 Comprobación de la capacidad reductora de la columna de cadmio.

8.6.1 Añada simultáneamente una alícuota de 20ml de la solución patrón de nitrato de potasio (5.8) y simultáneamente se añaden 5ml de solución reguladora de ph (5.5) dentro del depósito de la parte alta de la columna de cadmio. Recoja el efluente en un matraz aforado de 100ml.

8.6.2 Cuando el depósito esté casi vacío, lave las paredes con 15ml de agua, repitiendo el lavado con otros 15ml de agua.

Después que esta porción haya corrido bien por la columna, llene completamente el depósito de agua.

8.6.3 Después de recoger aproximadamente 100ml de efluente, retire el matraz de debajo de la columna y diluya hasta enrasar.

8.6.4 Transfiera una alícuota de 10ml del eluato a un matraz aforado de 100ml (6.3) y proceda como se especifica de 8.8.2 hasta 8.8.4.

8.6.5 Si la concentración de nitritos en el eluato determinada por la curva de calibración (Ver 8.10), está por debajo de 0,9ug de nitrato de sodio por ml (es decir 90% del valor teórico), la columna de cadmio debe acondicionarse de nuevo.

8.7 Reducción de nitratos a nitritos.

8.7.1 Transfiera una alícuota de 20ml del filtrado (8.4.5) al depósito de la parte superior de la columna y adiciónale simultáneamente 5ml de la solución reguladora de ph (5.5). Recoja el afluente de la columna en un matraz aforado de 100ml.

8.7.2 Proceda como se indica en 8.6.2 y 8.6.3.

8.8 Desarrollo del color.

8.8.1 Tome una alícuota del eluato no mayor de 25ml y transfíralo a un matraz aforado de 100ml (6.3) y adicione agua hasta alcanzar un volumen aproximado de 60ml.

8.8.2 Adicione 10ml de la solución I (5.7.1) seguido de 6ml de solución III (5.7.3) mezcle y deje reposar la solución por 5 min a temperatura ambiente en la oscuridad.

8.8.3 Adicione 2ml de la solución II (5.7.2), mezcle y deje reposar la solución de 3 a 10 min a temperatura ambiente en la oscuridad. Diluya con agua hasta el enrase.

8.8.4 Mida la absorbancia de la solución en una celda de 1cm de longitud óptica en un colorímetro fotoeléctrico o un espectrofotómetro (6.8) a una longitud de onda de 538nm.

NOTA: Si la absorbancia de la solución coloreada obtenida a partir de la muestra excede a la obtenida a partir de la solución patrón de concentración más alta, repita las operaciones descritas para el desarrollo del color (8.8), tomando una alícuota del eluente más pequeña (8.8.1).

8.9 Número de Determinaciones.

Realice dos determinaciones independientes partiendo de porciones de muestras diferentes, las cuales se toman de la misma muestra de ensayo.

8.10 Curva de Calibración.

8.10.1 Transfiera a 4 matraces aforados de 100ml, 10ml de agua a el primero y 10ml de cada una de las tres soluciones patrón (5.6) que contienen 2.5ug, 5.0ug y 10ug de nitrito por mililitro en cada uno de los otros tres matraces respectivamente.

8.10.2 Añádale agua a los 4 matraces hasta obtener un volumen alrededor de 60ml y proceda como se indica de 8.8.2 a 8.8.4.

8.10.3 Dibuje la curva de calibración planteando los resultados de absorbancia vs concentración, en ug/ml de la solución patrón de nitrito.

9. Expresión de los Resultados.

Calcule el contenido de nitrato de la muestra, expresado en miligramos de nitrato de potasio por kilogramo usando la siguiente fórmula.

$$\text{KNO}_3 = 1.465 \left(C \cdot \frac{10000}{m \cdot v} - \text{NaNO}_2 \right)$$

Donde:-

m:- masa en gramos de la porción de ensayo.

V:- volumen en mililitros de la alícuota de la porción del eluato (ver 8.8.1).

C:- concentración de nitrito de sodio en microgramos por mililitros leídos por la curva de calibración y que se corresponden con la absorbancia de la solución preparada con la porción de ensayo. (ver 8.8.4).

NaNO₂ nitrito contenido en la muestra expresado en miligramos de nitrito de sodio por kilogramos y determinados según indica (NC 357:2004).

El resultado final será la media aritmética de dos determinaciones, siempre que el requisito de repetibilidad sea cumplido (ver 9.2).

El resultado se expresa con una aproximación de 1mg de nitrato de potasio por kilogramo de producto.

9.2 Repetibilidad.

La diferencia entre el resultado de dos determinaciones realizadas simultáneamente o en rápida sucesión por el mismo analista, no deberá ser mayor del 10% de la media aritmética de dichos resultados.

10. Reporte de ensayo.

El informe de ensayo debe mostrar:-

- el método según el cual se realizó el muestreo, si se conoce.
- el método usado.
- el resultado(s) obtenido.
- si se ha chequeado la repetibilidad, el resultado final obtenido.

También deberán mencionarse todos los detalles no especificados en esta Norma Cubana, considerados como opcionales, conjuntamente con detalles de cualquier incidente que pueda haber influido en el resultado(s).

El reporte de ensayo incluirá toda la información necesaria para la completa identificación de la muestra.