
NORMA CUBANA

NC

914: 2012

**ALIMENTACIÓN ANIMAL — DETERMINACIÓN DEL
CONTENIDO DE FÓSFORO**

Animal feeding — Determination of phosphorus content

ICS: 65.020.30

1. Edición Diciembre 2012
REPRODUCCIÓN PROHIBIDA

Oficina Nacional de Normalización (NC) Calle E No. 261 El Vedado, 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 914: 2012

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 96 de Residuos de Medicamentos Veterinarios en los Alimentos⁹ en el que están representadas las siguientes entidades:
 - Centro Nacional de Higiene de los Alimentos (CNHA)
 - Instituto de Medicina Veterinaria (IMV)
 - Ministerio de la Agricultura (MINAGRIC)
 - Oficina Nacional de Normalización (NC)
 - Registro de Medicamentos Veterinarios (IMV)
 - Instituto de Nutrición e Higiene de los Alimentos (INHA – MINSAP).
 - Ministerio de Comercio Exterior (MINCEX)
 - ALIMPORT
 - Centro Nacional de Inspección de la Calidad (CNICA)
 - Centro de Investigaciones Pesqueras (CIP)
 - Universidad Agraria de La Habana.
 - Centro Nacional de Sanidad Agropecuaria (CENSA)
 - Estación Experimental de la Apicultura
 - Unión de Empresa del Combinado Avícola (UNECAN)
 - Instituto de Investigaciones Avícolas (IIA)
 - Grupo Porcino Nacional (GRUPOR)
 - Instituto de Investigaciones Porcinas (IIP)
 - Grupo Agrario del Arroz (GAIPA)
 - Grupo Empresarial LABIOFAM
 - Dirección Agropecuaria del MINFAR
 - Dirección Agropecuaria del MININT
 - Dirección Agropecuaria MINAZ
 - Grupo Industrial de Alimentos y Silos
- Se basa en la AOAC. Official Methods of Analysis. Volume two. 15th Edition 1990. 965.17; pág. 88. *Phosphorus in Animal Feed. Photometric Method. Final Action.*
- Sustituye a la Norma NC 74-33:1985. Ganadería. Alimentación Animal. Determinación del contenido de fósforo y la NC 70-09-06:1982 Harina de origen animal. Métodos de ensayo. Determinación de fósforo.

© NC, 2012 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, El Vedado, La Habana, Habana 4, Cuba.

Impreso en Cuba.

0 Introducción

El fósforo es un elemento químico nutricional cuyas necesidades se manifiestan en todo el organismo animal. El ATP unidad esencial de energía está constituido por fósforo. Las fuentes de fósforo suplementadas en los alimentos balanceados son el fosfato di-cálcico y fosfato mono-cálcico.

Los métodos clásicos de referencia para la determinación del contenido de fósforo en piensos y materias primas, se basa la espectrofotometría en la región del visible.

ALIMENTACIÓN ANIMAL — DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO DE FÓSFORO**1 Objeto**

Esta norma establece el método de ensayo para la determinación del contenido de fósforo total en los piensos y sus materias primas, así como de otras mezclas alimentarias de consumo animal.

2 Referencias Normativas

Las normas siguientes de referencia son indispensables para la aplicación de este documento. Para las referencias fechadas, solo es aplicable la edición citada. Para las referencias no fechadas, se aplica la última edición del documento de referencia (incluyendo cualquier enmienda).

NC 727:2009 Productos químicos. Clasificación por calidades y definiciones.

NC-ISO 3696:2004 Agua para análisis.

NC 74-22:1985 Ganadería. Alimentación animal. Determinación de la humedad inicial y de la materia seca.

NC 728:2009 Soluciones reactivo de concentración aproximada para uso general.

NC 21-03:1968 Soluciones reactivo de concentración exacta para uso general.

NC 726:2010 Indicadores químicos.

NC 55-05:1985 Servicios veterinarios. Actividad de los laboratorios. Términos y definiciones.

NC 902:2012 Ganadería. Alimentación Animal. Determinación del contenido de calcio y magnesio.

NC 903:2012 Ganadería. Alimentación Animal Determinación del contenido de cenizas.

3 Términos y definiciones

A los fines de esta norma, se aplica el siguiente término y definición.

fósforo (P)

elemento químico cuyo símbolo es P, peso atómica 30,973761 perteneciente al grupo V periodo 3 de la tabla periódica de Mendeleiev

4 Generalidades

4.1 Se emplearán productos químicos analíticos de calidad p.a. según la NC 727.

4.2 Para la preparación de las soluciones de concentración aproximada, véase la NC 21-02.

4.3 Para la preparación y determinación de las disoluciones de concentración exacta véase la NC 21-03

4.4 Para la preparación de los indicadores químicos, véase la NC 726.

4.5 Se utilizará agua para análisis según la NC-ISO 3696.

4.6 Para los términos y definiciones empleados en esta norma, véase la NC 55-05

4.7 Para la preparación de la muestra de ensayo, véase la NC 74-22

5 Fundamento del método

Se basa en la medición espectrofotométrica de la intensidad del color desarrollado por un compuesto coloreado que se forma por la reacción del reactivo molibdovanadato y el fósforo presente en la muestra.

6 Reactivos

- Acido nítrico p.a.
- Acido perclórico al 70 % v/v.
- Acido clorhídrico. Se disuelven 200 ml de ácido clorhídrico p.a en agua y se completa hasta 1000 ml.
- Disolución reactivo de molibdovanadato. Se disuelven 25 g de molibdato de amonio tetrahidratado en 400 ml de agua y separadamente se disuelven 1,25 gramos de metavanadato de amonio p.a en 300 ml de agua hirviente; se deja enfriar la disolución y se añaden 250 ml de ácido nítrico p.a y se deja enfriar hasta la temperatura ambiente. Se añade, posteriormente, la disolución de molibdato de amonio sobre la de metavanadato de amonio y se completa el volumen hasta 1000 ml con agua.
- Disolución de referencia de fósforo. Se disuelven en agua 0,4387 g de fosfato monopotásico p.a, desecado previamente a 110 °C durante 2 h y se completa el volumen hasta 1000 ml con agua (1 ml de esta disolución contiene 0,1 mg de fósforo).

7 Aparatos, utensilios y medios de medición

- Espectrofotómetro para leer la Absorbancia a una longitud de onda de 440 nm o fotocolorímetro con filtro de una longitud de onda nominal de 440 nm.
- Balanza analítica LSP 100 ó 200 g; vD 0,1 mg
- Mufla eléctrica con pirómetro
- Estufa eléctrica
- Desecadora
- Matraz de un trazo(matraz volumétrico) de 25; 50; 100, 250 y 1 000 ml
- Vasos de precipitado de 200, 250 y 300 ml
- Cilindros graduados de 1 000 y 2 000 ml

- Embudo con vástagos de 5 a 6 ó 7 a 8 cm de diámetro
- Crisoles de porcelana, vitrosyl o platino de 30, 50 y 100 ml con tapa.
- Balón Kjeldahl de 100ml.

8 Procedimiento

8.1 Preparación de la porción de ensayo

La preparación de la porción de ensayo para la determinación del contenido de fósforo total se realiza a partir del contenido de cenizas de la muestra de ensayo, según la NC 74-30

En el caso de sales minerales se pesa 1 g de la muestra de ensayo con precisión de ± 1 mg en un vaso de precipitado o frasco cónico.

En casos de muestras de alimentos y mezclas alimentarias en las que es difícil obtener la ceniza seca, se puede realizar la preparación de la porción de ensayo mediante el método de la ceniza húmeda. Para esto se pesan entre 1g y 2g de la muestra de ensayo en un balón Kjeldahl de 100 ml y se añaden de 3 a 4 ml de ácido nítrico concentrado y unas perlas de vidrio. Se deja la muestra en contacto con el ácido nítrico, se hierve suavemente un tiempo prudencial para que actúe sobre la materia orgánica. Cuando comience la digestión se añade, cuidadosamente, 5 ml de ácido perclórico al 70% y se calienta con llama suave para evitar que se evapore el ácido y se produzca una explosión debido al sobre calentamiento del balón.

Cada vez que la digestión de la muestra se oscurezca se le vuelven a añadir unos ml de ácido nítrico concentrado hasta que se aclare la solución. La digestión dura unos 30 minutos hasta que se desprende humo blanco del ácido perclórico y se torna incolora o ligeramente amarilla. Se deja enfriar

8.2 Preparación de la solución de ensayo

Los residuos obtenidos en la determinación de cenizas, véase NC 903: 2012, se transfieren cuantitativamente en un recipiente (vaso de precipitado, frasco cónico de boca ancha) lavando el crisol con 50 ml de ácido clorhídrico al 20 % v/v y colectando los lavados en el recipiente que contiene las cenizas. Se calienta la solución clorhídrica hasta que comience a hervir y se deja enfriar, después se traspasa la solución a un matraz de un trazo de 100 ó 250 ml lavando con agua el recipiente y colectando los lavados en el matraz.

Se completa hasta el aforo con agua, se homogeniza la disolución, se filtra una porción de la misma utilizando papel de filtro de filtración medio rápido.

En caso de sales minerales se somete la porción de ensayo al mismo tratamiento.

En el caso de la ceniza húmeda se trasvasa el contenido del balón a un matraz de un trazo (volumétrico) de 100ml. Se lava el balón suficientemente con agua y se completa a volumen con agua.

8.3 Determinación

8.3.1 Desarrollo del color

Se toma una alícuota de la disolución de ensayo según el contenido de fósforo de la muestra, generalmente 5 ml, en el caso de sales minerales se toma 1 ml, se transfiere cuantitativamente a un matraz aforado de un trazo de 25 ó 50 ml y se añaden 5 ó 10 ml de la disolución reactiva de molibdovanadato si se emplea el matraz de 25 ó 50 ml respectivamente y se lleva hasta el aforo con agua. Se mezcla bien y se deja en reposo 10 min para lograr el máximo desarrollo del color.

8.3.2 Medición fotométrica

Se realiza la medición fotométrica, en Unidades de Absorbancia (UA) o Densidad Óptica (D.O) usando un espectrofotómetro a una longitud de onda de 440 nm o un fotocolorímetro con filtro de una longitud de onda nominal de 440 nm, ajustando a cero el instrumento con la disolución de ensayo en blanco.

8.3.3 Ensayo en blanco

Se realiza un ensayo en blanco efectuando el mismo procedimiento y utilizando las mismas cantidades de todos los reactivos empleados sin incluir la porción de ensayo.

9 Gráfico de calibración

9.1 Preparación de las soluciones de comparación para fotometría

A seis matraces de un trazo de 25 ó 50 ml se transfieren las cantidades de disoluciones de referencia de fósforo indicadas en las tablas 1 ó 2 respectivamente.

Tabla 1 — Soluciones de fósforo en matraz de 25 ml para utilizar en el gráfico de calibración

Volumen de la solución de referencia de fósforo de 0,1 mg/ml	Masa correspondiente de fósforo	Concentración de fósforo en la solución de comparación para fotometría. (Matraz de 25 ml).
ml	mg	mg/ml
0,5	0,05	0,002
1,5	0,15	0,006
2,5	0,25	0,01
4,0	0,40	0,016
5,0	0,50	0,020
6,0	0,60	0,024

Tabla 2 — Soluciones de fósforo en matraz de 50 ml para utilizar en el gráfico de calibración

Volumen de la solución de referencia de fósforo de 0,1 mg/ml	Masa correspondiente de fósforo	Concentración de fósforo en la solución de comparación para fotometría. (Matraz de 50 ml).
ml	mg	mg/ml
1	0,1	0,002
3	0,3	0,006
5	0,5	0,010
8	0,8	0,016
10	1,0	0,020
12	1,2	0,024

9.2 Desarrollo del color: Se procede como se indica en 5.3.1.

9.3 Medición fotométrica: Se procede como se indica en 5.3.2

10 Trazado del gráfico de calibración

Se plotea en un papel milimetrado la concentración de fósforo de las soluciones de referencia en mg/ml o la masa en mg de fósforo en el eje de las abscisas y sus valores correspondientes de absorbancia (UA) o densidad óptica a 440 nm en el eje de las ordenadas. Se traza el gráfico de calibración y se determina la cotangente del ángulo de inclinación (factor) en el intervalo de linealidad del gráfico.

En caso de poseer un sistema automatizado, puede usarse para la determinación del gráfico de calibración y la línea de mejor ajuste.

11 Expresión de los resultados

11.1 Método para los cálculos

El contenido de fósforo en la muestra se determina por la siguiente fórmula:

$$\text{Fósforo (\%)} = \frac{A \times F \times D}{m \times 1000} \times 100$$

donde

A: Unidades de Absorbancia o Densidad Óptica a 440 nm.

F: Factor de la línea recta del gráfico de calibración, dado por la cotangente del ángulo de inclinación (masa de fósforo/ A_{440}).

D: Dilución expresada como Volumen en ml de la dilución de la ceniza / Volumen alícuota en ml tomado para el desarrollo del color.

m: Masa de la porción de ensayo en gramos.

1000: Factor para convertir los mg de fósforo en gramos.

100: Índice para expresar los resultados en por ciento de fósforo.

11.2 Aproximación de los resultados

El ensayo se realizará por duplicado y se calculará el promedio de sus resultados, dándose hasta la décima en alimentos con más del 3% del contenido de fósforo, en caso contrario se aproximará hasta la centésima.

11.3 Repetibilidad

Los resultados de dos determinaciones realizadas simultáneamente, no deben diferir en más de un 5 %. En caso contrario repetir el ensayo.

11.4 Informe

El reporte del análisis mostrará el método utilizado, resultados y forma de expresión de los resultados, con un coeficiente de variación máximo entre muestras trabajadas en paralelo de 5%. La precisión interlaboratorio, expresada como coeficiente de variación de la reproducibilidad se considera aceptable hasta un valor de 10%.

Bibliografía

- [1] BECKER, MAX. Análisis y valoración de piensos y forrajes. 1966. Editorial Acribia. Zaragoza. España.
- [2] ISO 6491:1998 Determinación de Fósforo por espectrofotometría.
- [3] NC 21-02:67 Soluciones reactivo de concentración aproximada para uso general.
- [4] NC 21-03:68 Soluciones reactivo de concentración exacta para uso general.
- [5] NC 55-05:85 Servicios veterinarios. Actividad de laboratorio. Términos y definiciones.
- [6] NC 74-22:85 Ganadería. Alimentación animal. Determinación de la humedad inicial y de la materia seca.
- [7] NC 79-09-02:82 Harinas de origen animal. Métodos de ensayo.