

SALUD

SECRETARÍA DE SALUD



**INSTITUTO NACIONAL DE
CIENCIAS MÉDICAS
Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN**



INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

**MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS DEL
DEPARTAMENTO DE NUTRICIÓN ANIMAL DR. FERNANDO
PÉREZ GIL-ROMO**

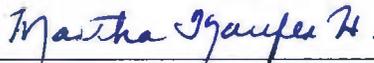
ABRIL 2024

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Índice | | HOJA: 1 DE: 7 |

ÍNDICE

| | |
|---|---|
| INTRODUCCIÓN | 2 |
| I. OBJETIVO DEL MANUAL | 3 |
| II. MARCO JURÍDICO | 4 |
| III. PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS PARA: | 7 |
| 1. PROCESAR MUESTRAS DE INGREDIENTES O ALIMENTOS A ANALIZAR | |
| 2. PREPARAR SOLUCIONES | |
| 3. DESARROLLAR TÉCNICAS ANALÍTICAS | |
| 4. DESARROLLAR TÉCNICAS ANALÍTICAS EN CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) | |
| 5. DESARROLLAR TÉCNICAS ANALÍTICAS DE CROMATOGRAFÍA DE GASES | |
| 6. EVALUAR LA CALIDAD FÍSICA EXTERNA E INTERNA DEL HUEVO PARA CONSUMO | |

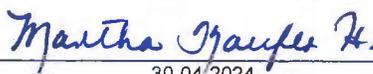
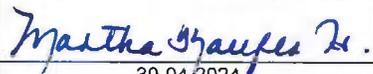
AUTORIZACIÓN

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Introducción | | HOJA: 2 DE: 7 |

INTRODUCCIÓN

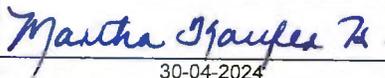
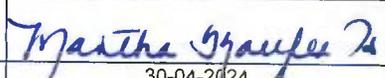
La elaboración de este manual tiene como propósito presentar de manera formal y sistemática los pasos a seguir de las servidoras y los servidores al realizar las actividades de preparación de muestras a analizar, los procedimientos analíticos y la evaluación de la calidad interna y externa del huevo para el consumo, dentro del laboratorio del Departamento.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|---------------------------------|
|   | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRAN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Objetivo del Manual | | HOJA: 3 DE: 7 |

I. OBJETIVO DEL MANUAL

Proporcionar a las servidoras y los servidores públicos que integran el Departamento, la secuencia lógica de las actividades en el laboratorio que, de forma ordenada y sistematizada, aplicarán a cada uno de los procedimientos técnicos que se llevan a cabo considerando las medidas de bioseguridad y de control de calidad establecidas.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Marco Jurídico | | HOJA: 4 DE: 7 |

II. MARCO JURÍDICO

Constitución Política de los Estados Unidos Mexicanos.
D. O. F. 05-II-1917 y sus reformas

LEYES

Ley General de Salud.
D.O.F. 07-II-1984 y sus reformas

Ley de los Institutos Nacionales de Salud.
D.O.F. 26-V-2000 y sus reformas

Ley Orgánica de la Administración Pública Federal.
D.O.F. 29-XII-1976 y sus reformas

Ley General para el Control del Tabaco.
D.O.F. 30-V-2008 y sus reformas

Ley General de Protección Civil.
D.O.F. 06-VI-2012 y sus reformas

Ley General de Archivos.
D.O.F. 15-VI-2018 y sus reformas

Ley Federal de Sanidad Animal.
D.O.F. 25-VII-2007 y sus reformas

Ley General del Equilibrio Ecológico y la Protección al Ambiente.
D.O.F. 28-01-1988 y sus reformas

REGLAMENTOS

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Control Sanitario de Actividades, Establecimientos, Productos y Servicios.
D.O.F. 18-I-1988 y sus reformas

Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.
D.O.F. 06-I-1987 y sus reformas

Reglamento de la Ley Federal de Sanidad Animal.
D.O.F. 21-V-2012

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Marco Jurídico | | HOJA: 5 DE: 7 |

Reglamentos de Insumos Para la Salud.
D.O.F. 04-II-1998 y sus reformas

NORMAS MEXICANAS OFICIALES

Norma Oficial Mexicana NOM-064-SSA1-1993. Que establece las especificaciones sanitarias de los equipos de reactivos utilizados para diagnóstico.
D.O.F. 24-II-1995

Norma Oficial Mexicana NOM-051-ZOO-1995. Trato humanitario en la movilización de animales.
D.O.F. 23-III-1998

Norma Oficial Mexicana NOM-003-STPS-1999. Actividades agrícolas-Uso de insumos fitosanitarios o plaguicidas e insumos de nutrición vegetal o fertilizantes-Condiciones de seguridad e higiene.
D.O.F. 28-XII-1999

Norma Oficial Mexicana NOM-062-ZOO-1999. Especificaciones Técnicas para la Producción Cuidado y uso de Animales de Laboratorio.
D.O.F. 22-VIII-2001

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo.
D.O.F. 17-II-2003

Norma Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008. Equipo de protección personal, selección uso y manejo en los Centros de Trabajo.
D.O.F 09-XII-2008

Norma Oficial Mexicana NOM-030-STPS-2009. Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo- funciones y actividades.
D.O.F. 22-XII-2009

Norma Oficial Mexicana NOM-251-SSA1-2009. Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios.
D.O.F. 01-III-2010

Norma Oficial Mexicana NOM-243-SSA1-2010. Productos y servicios. Leche, fórmula láctea, producto lácteo combinado y derivados lácteos disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.
D.O.F. 27-IX-2010

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|--|
|  SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Marco Jurídico | | HOJA: 6 DE: 7 |

Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEGOB-2011. Señales y avisos para protección civil, colores, formas y símbolos a utilizar.

D.O.F. 23-XII-2011 y sus reformas

Norma Oficial Mexicana NOM-019-STPS-2011. Constitución, integración, organización y funcionamiento de las comisiones de seguridad e higiene.

D.O.F. 13-IV-2011

Norma Oficial Mexicana NOM-007-SSA3-2011. Para la organización y funcionamiento de los laboratorios clínicos

D.O.F. 27-III-2012

Norma Oficial Mexicana NOM-024-SSA3-2012. Sistemas de información de registro electrónico para la salud. Intercambio de información en salud.

D.O.F. 30-XI-2012

Norma Oficial Mexicana NMX-FF-127-SCFI-2016. Productos Avícolas-Huevo Fresco De Gallina-Especificaciones Y Métodos De Prueba.

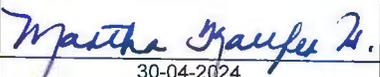
D.O.F. 24-XI-2016

Norma Oficial Mexicana NOM-159-SSA1-2016. Productos y servicios. Huevo, sus productos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

D.O.F. 16-I-2018

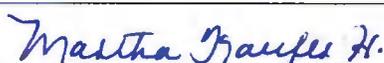
Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados especificaciones sanitarias. Métodos de prueba.

D.O.F. 03-IV-2019

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

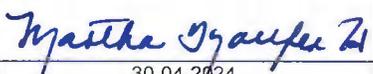
| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Procedimientos Técnicos | | HOJA: 7 DE: 7 |

III.PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 1 DE: 10 |

**1. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA PROCESAR MUESTRAS DE INGREDIENTES
O ALIMENTOS A ANALIZAR**

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|---------------------------------|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 2 DE: 10 |

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

Es el conjunto de pasos a seguir para la identificación, la conservación y en su caso, el acondicionamiento de las muestras, ingredientes o alimentos que se analizarán en el laboratorio del Departamento.

2.0 OBJETIVO

Conocer las condiciones indispensables de aplicar para un muestreo y análisis de los alimentos o ingredientes que deban ser analizados en los laboratorios del Departamento.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

Las servidoras y/o los servidores públicos que participan en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permiten obtener y procesar las muestras de los alimentos o ingredientes.

1. Química y/o Químico de Nutrición Animal.
2. Técnica y/o Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal.
3. Investigadora y/o Investigador de Nutrición Animal.
4. Investigadora y/o Investigador Asociado o Asociada.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

MATERIAL:

1. Etiquetas autoadheribles.
2. Plumón de punto fino e indeleble.
3. Bolsas resellables de polietileno grueso.
4. Bolsas de papel resistente.
5. Frascos de plástico y/o vidrio de boca ancha, roscada y con tapa.
6. Papel de estraza.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

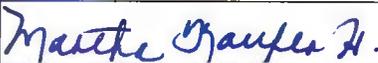
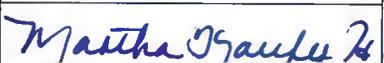
| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 3 DE: 10 |

7. Cepillo de cerdas suaves y mango de madera.
8. Manguera de silicón de 1 cm de diámetro.
9. Espátula de acero inoxidable.
10. Estufa de secado con rango de temperatura de 50 -100 °C.
11. Molino de cuchillas.
12. Cribas de 1, 2 y 3 mm.
13. Molino de martillos.
14. Refrigerador.
15. Congelador.



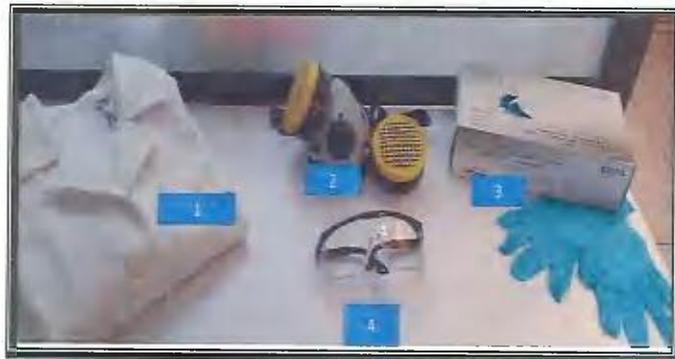
EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL:

1. Bata de algodón.
2. Mascarilla con filtros para polvos finos.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|-------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 4 DE: 10 |

3. Guantes de nitrilo.
4. Goggles.



5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

El procesamiento se realiza en un cuarto con humedad con temperatura controlada, un ambiente sin ruido y sin patógenos en mesas de trabajo de acero inoxidable, tuberías con suministro de aire, vacío y gas.

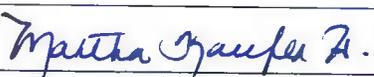
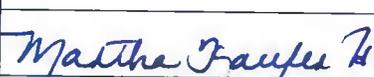
6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo.
D.O.F. 17-II-2003

Norma Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008. Equipo de protección personal, selección uso y manejo en los Centros de Trabajo.
D.O.F 09-XII-2008

Norma Oficial Mexicana NOM-030-STPS-2009. Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo- funciones y actividades.
D.O.F. 22-XII-2009

Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEGOB-2011, Señales y avisos para protección civil, colores, formas y símbolos a utilizar.
D.O.F. 23-XII-2011 y sus reformas

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|---|
|  SALUD <small>SECRETARÍA DE SALUD</small>  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 5 DE: 10 |

Norma Oficial Mexicana NOM-019-STPS-2011. Constitución, integración, organización y funcionamiento de las comisiones de seguridad e higiene.

D.O.F. 13-IV-2011

Norma Oficial Mexicana NMX-FF-127-SCFI-2016. Productos Avícolas-Huevo Fresco De Gallina-Especificaciones Y Métodos De Prueba.

D.O.F. 24-XI-2016

Norma Oficial Mexicana NOM-159-SSA1-2016. Productos y servicios. Huevo, sus productos. Disposiciones y especificaciones sanitarias. Métodos de prueba

D.O.F. 16-I-2018

Norma Oficial Mexicana NOM-213-SSA1-2018. Productos y servicios. Productos cárnicos procesados, especificaciones sanitarias. Métodos de prueba

D.O.F. 03-IV-2019

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

OBTENCIÓN E IDENTIFICACIÓN DE MUESTRA:

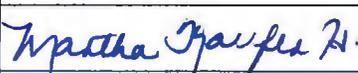
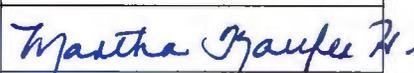
La Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal y/o la Investigadora o el Investigador Asociado realiza la selección de las muestras para análisis de acuerdo al o los proyectos de investigación que esté desarrollando en el Departamento.

La Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal y/o la Investigadora o el Investigador Asociado identifica con una etiqueta las muestras para análisis químico, con los siguientes datos.

1. Nombre de la proveedora y/o el proveedor de la muestra.
2. Lugar y método de obtención.
3. Fecha y hora de recolección de la muestra.
4. Nombre de la persona que realizó el muestreo.

La Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal y/o la Investigadora o el Investigador Asociado llena una solicitud para análisis de laboratorio de sus muestras y las entrega a la Química o Químico de Nutrición Animal quien le indicará el momento en que tiene que entregar las muestras.

La Química o el Químico de Nutrición Animal recibe las muestras y verifica que sean homogéneas y representativas.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

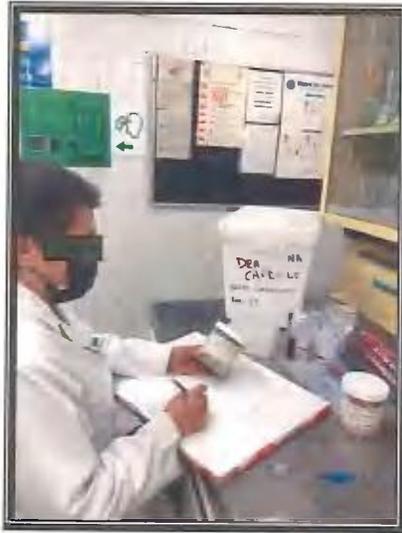
| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 6 DE: 10 |

La Química o el Químico de Nutrición Animal registra en la bitácora de recepción de muestras los datos de cada muestra.

La Química o el Químico de Nutrición Animal coloca una etiqueta a cada muestra, con la clave y número de folio asignados en la solicitud de acuerdo a lo siguiente:

1. Si es sólido seco (semillas o henos) coloca la etiqueta de identificación dentro de la bolsa o frasco limpio y seco.
2. Si es húmeda, la etiqueta la coloca afuera, con una protección para evitar que se deteriore.

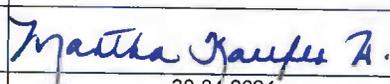
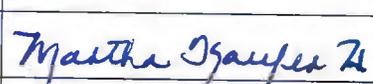
La Química o el Químico de Nutrición Animal entrega las muestras para análisis a la Investigadora o el Investigador Asociado o a la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal.



CONSERVACIÓN Y ALMACENAMIENTO DE LAS MUESTRAS PARA ANÁLISIS:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal, conserva y almacena la muestra inmediatamente en recipientes limpios y herméticos, de acuerdo con las indicaciones que se encuentran registradas en la etiqueta de identificación.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal mantienen el tratamiento de las muestras después de realizar el muestreo.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 7 DE: 10 |

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal mantienen la conservación y almacenamiento de las muestras para evitar alguna modificación o descomposición de las mismas y tener la certeza de que los resultados del análisis sean válidos.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la conservación y almacenamiento de las muestras de acuerdo a los siguientes puntos:

1. Realiza la limpieza de la muestra de acuerdo al objetivo y tipo de análisis, eliminando el material que considere extraño.
 - a. Si la muestra es seca, se extiende sobre una superficie limpia (coloca papel estraza, para mantener la muestra libre de algún contaminante y facilitar el manejo de los residuos), separa cualquier material extraño y lo pesa de ser necesario.
 - b. Si la muestra es de forraje y contiene tierra, ésta se eliminará con la ayuda de un cepillo de cerdas suaves con mango de madera o con aire a presión proveniente de la toma de las mesas de trabajo de los laboratorios.

Nota: no se utiliza agua para el lavado, porque las muestras quedarían expuestas a la lixiviación de compuestos solubles.

2. Realiza el secado de la muestra a una temperatura menor a 65 °C.

Nota: cualquier material que sea secado arriba de 90 °C es inservible para análisis posteriores.

3. Cuida que la muestra no presente cambios significativos (pérdida de humedad, absorción del agua atmosférica) durante el almacenamiento previo a su análisis.
4. Cuida la temperatura durante el manejo de la muestra, antes, durante y después del análisis, ya sea temperatura ambiente, refrigeración (0 - 4 °C) o congelación (-18 a - 20 °C), tomando en cuenta si la muestra es fresca, percedera o no.
5. Elige el recipiente en función del tipo de material y de los análisis que se requieren efectuar en la muestra.
6. Guarda la muestra seca en frascos de vidrio o de plástico de boca ancha, con tapón de rosca o en bolsas gruesas de polietileno resellables.
7. Guarda los forrajes frescos o parcialmente secos en bolsas de papel resistente, lo que evita que se deteriore la muestra a fin de evitar el crecimiento de microorganismos por la presencia de humedad.

Nota: si se va a analizar un ensilaje y se cuantificarán los ácidos grasos volátiles, la muestra debe conservarse en congelación.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 8 DE: 10 |

MOLIENDA DE LAS MUESTRAS:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la molienda en seco o en húmedo, dependiendo del tipo de muestra y tomando en cuenta las siguientes consideraciones:

Ventajas

Desventajas

Reduce el error de muestreo.

Implica trabajo preliminar (secado).

Aumenta la solubilidad de la muestra y la reactividad química.

Puede favorecer la descomposición de la muestra durante la molienda debido al aumento de temperatura.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal muele la muestra seca en un molino de cuchillas o martillos y la tamiza a través de una malla, criba o tamiz de 2-3 mm.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal en caso de ser necesario, realiza un submuestreo por cuarteo, lo muele y tamiza a través de una malla de 1 mm para obtener muestra con un tamaño menor de partícula, si el análisis así lo requiere.

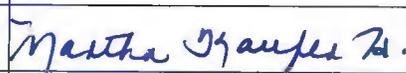
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la separación de sustancias extrañas con cribas o tamices, en caso de que la muestra por analizar ya esté molida.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal guarda la muestra ya molida en bolsas de plástico o frascos bien tapados y etiquetados, y cuando así lo requiera el análisis en frascos ámbar o cubiertos con papel estraza o aluminio; siempre evitando rebasar los $\frac{3}{4}$ de capacidad del contenedor.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal guarda el material ya molido en bolsas de plástico o frascos bien tapados y etiquetados y cuando así lo requiera el análisis en frascos ámbar o cubiertos con papel estraza o aluminio.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal mantiene los recipientes con las muestras secas y molidas en un sitio alejado de la luz o cubiertos con papel aluminio.

Nota: el uso de frascos de vidrio, plástico o bolsas sucios o mal cerrados puede provocar la alteración o contaminación de la muestra, afectando los resultados de su análisis.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 9 DE: 10 |

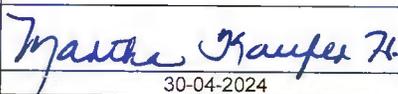
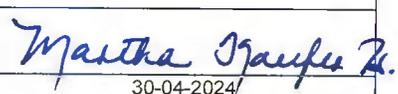


8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

No Aplica.

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Ácidos grasos volátiles:** Subgrupo de ácidos grasos con cadenas carbonadas de menos de seis átomos de carbono. Su volatilidad se debe a la corta cadena carbonada que poseen, en contraste con los ácidos grasos de cadena larga, que son sólidos a temperatura ambiente.
- 9.2 Criba o malla:** Utensilio que se emplea para limpiar la muestra separándola de otros sólidos no deseados con que se haya mezclado.
- 9.3 Cuarteo:** Muestreo, que se realiza con el objeto de obtener de una muestra, porciones representativas de tamaño adecuado para efectuar las pruebas de laboratorio que se requieran.
- 9.4 Ensilaje:** Proceso de conservación del forraje basado en una fermentación del pasto que produce ácido láctico y un aumento en la acidez.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 1. Procedimiento Técnico para Procesar Muestras de Ingredientes o Alimentos a Analizar | | HOJA: 10 DE: 10 |

- 9.5 Forraje:** Especie o mezcla de plantas, cultivadas por sus partes vegetativas, con la exclusión de los frutos y las semillas para alimentación animal.
- 9.6 Heno:** Hierba, de gramíneas o de leguminosas, cortada, seca y utilizada como alimento para los animales.
- 9.7 Hermético:** Recipiente que cierra perfectamente de modo que no deja pasar aire ni líquido.
- 9.8 Lixiviación:** Separación de una o varias sustancias contenidas en una matriz sólida, usualmente pulverizada, mediante el uso de disolventes líquidos.
- 9.9 Molienda:** Proceso mediante el cual se reduce el tamaño de partícula de una muestra.
- 9.10 Microorganismo:** Organismos que solo pueden verse bajo un microscopio; incluyen bacterias, protozoos, algas y hongos.
- 9.11 Patógeno:** Término empleado para cualquier microorganismo que cause o transmita una enfermedad.
- 9.12 Tamizar:** Método mecánico para separar sólidos formados por partículas de diferentes tamaños.

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Zumbado Fernández Héctor Manuel. 2008. Análisis Químico de los Alimentos: Métodos clásicos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Editorial Universitaria del Ministerio de Educación Superior. La Habana, Cuba. 433 p.

Greenfield H, Southgate DAT. 2003. Datos de composición de alimentos. Obtención, Gestión y Utilización. FAO, Roma, 321 p.

FAO. 1993. Manuales de control de calidad de los Alimentos. 1. El laboratorio de control de los alimentos. Estudio FAO: Alimentación y Nutrición 14/1. Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación, FAO, ROMA. 80 p.

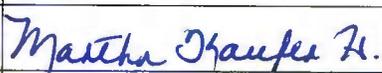
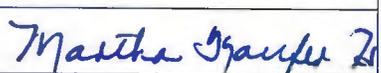
11.0 CAMBIOS EN ESTA VERSIÓN

| Número de revisión | Fecha de la actualización | Descripción del cambio |
|--------------------|---------------------------|------------------------|
| No Aplica | No Aplica | No Aplica |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|-------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 1 DE: 13 |

2. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA PREPARAR SOLUCIONES

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 2 DE: 13 |

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

Son pasos y consideraciones que se deben de tomar en cuenta en la preparación de las soluciones que se utilizan durante la realización de los diferentes análisis en los laboratorios del Departamento.

2.0 OBJETIVO

Identificar y lograr las condiciones para la preparación de las diferentes soluciones utilizadas en los laboratorios del Departamento cuidando las condiciones de seguridad y precisión requeridas.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

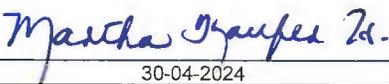
Las servidoras y servidores públicos que participan en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite preparar las soluciones.

1. Química y/o Químico de Nutrición Animal.
2. Técnica y/o Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal.
3. Investigadora y/o Investigador Asociado.
4. Investigadora o Investigador de Nutrición Animal.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

MATERIAL:

1. Vaso de precipitados de vidrio clase A.
2. Pipeta Pasteur de vástago corto.
3. Matraz volumétrico de 1 L, clase A.
4. Matraz volumétrico de 100 mL, clase A.
5. Pipeta serológica.
6. Propipeta.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

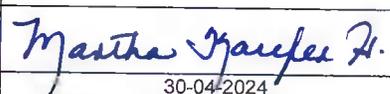
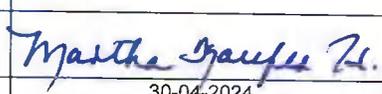
| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 3 DE: 13 |

7. Barras magnéticas para agitación.
8. Espátula de acero inoxidable.
9. Parrilla de agitación magnética.
10. Balanza analítica.
11. Campana de extracción para ácidos.
12. Campana de extracción para solventes orgánicos.



EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL:

1. Bata de algodón.
2. Mascarilla con filtros para polvos finos.
3. Guantes de nitrilo.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|---|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 4 DE: 13 |

4. Goggles.



5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

El procedimiento se realiza en un ambiente sin ruido y sin patógenos en mesas de trabajo de acero inoxidable, dentro de una campana de extracción para solventes orgánicos, o una campana de extracción para vapores tóxicos (ácidos y álcalis) cuando las medidas de seguridad así lo indiquen.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo.
D.O.F. 17-II-2003

Norma Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008. Equipo de protección personal, selección uso y manejo en los Centros de Trabajo.
D.O.F 09-XII-2008

Norma Oficial Mexicana NOM-030-STPS-2009. Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo- funciones y actividades.
D.O.F. 22-XII-2009

Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEGOB-2011. Señales y avisos para protección civil, colores, formas y símbolos a utilizar.
D.O.F. 23-XII-2011 y sus reformas

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 5 DE: 13 |

Norma Oficial Mexicana NOM-019-STPS-2011. Constitución, integración, organización y funcionamiento de las comisiones de seguridad e higiene.
D.O.F. 13-IV-2011

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

PREPARACIÓN DE SOLUCIONES:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal verifica en la etiqueta y/o en el certificado correspondiente, la utilidad del reactivo.

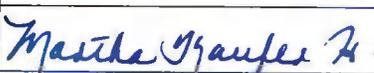
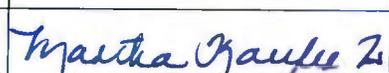
1. Fecha de caducidad.
2. Pureza.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara la solución o soluciones requeridas para cada análisis.

Nota: emplea la cantidad correspondiente de reactivo, sin exceso ni deficiencia para reducir el riesgo de errores y desperdicio de reactivos. La estandarización en la preparación de soluciones reduce la variación de resultados.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal verifica la pureza de los reactivos de acuerdo a la siguiente clasificación:

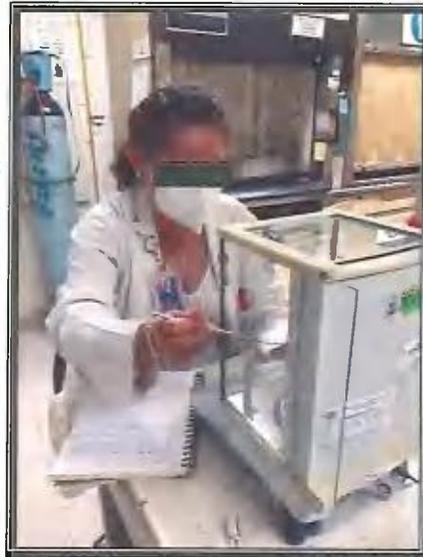
| Abreviación | Significado | Pureza relativa |
|-------------|---|-----------------|
| AR* | Analytical Reagent (Reactivo analítico) | Grado alto |
| CP* | Pure Chemically (Químicamente puro) | Grado alto |
| ACS* | American Chemical Society Standard (Estándar de la Sociedad Química Americana) | Grado alto |
| USP* | US Pharmacopea (pharmaceutical) (Farmacopea US - farmacéutica) | Grado mediano |
| Tech* | Technical grade (Grado técnico) | Pureza baja |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|---|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 6 DE: 13 |

| Abreviación | Significado | Pureza relativa |
|-------------|--|--|
| Prac* | Practical grade (Grado práctico) | Utilizable para la manufactura química |
| HPLC | High Performance Liquid Chromatography | Grado alto |
| GC | Gas Chromatography | Grado alto |
| BM | Biología Molecular | Grado alto |

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa que los reactivos que va a emplear sean los correctos para preparar la solución en la concentración y volumen requeridos.



Solución molar (M):

La molaridad (M) es la concentración de una disolución expresada en cantidad de moles de soluto disueltos en un litro de solución. Se expresa en moles de soluto por cada litro de solución.

$$M = \text{PM/L}$$

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 7 DE: 13 |

Donde:

PM = Peso molecular (g) de un mol de soluto.

L= Litro.

La Química o el Químico, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara la solución molar tomando en cuenta la pureza del reactivo, disolviendo un mol del compuesto en el disolvente indicado y diluyendo hasta un volumen final de un litro.

Cuando se desean cantidades pequeñas o grandes de una solución, se utilizan fracciones o múltiplos del mol que se disuelven y diluyen a la fracción o múltiplo del litro, según sea el caso.

Ejemplo:

Para preparar 1 L de una solución de ácido sulfúrico (H_2SO_4 1 M, la Química o el Químico, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal toma en cuenta la información sobre el compuesto y sigue los pasos descritos a continuación:

1. Registra los datos sobre el reactivo:

PM del H_2SO_4 = 98 g/mol

Densidad (δ) del H_2SO_4 = 1.8364 g/mL

Pureza = 96 %

1M = 98 g ácido sulfúrico/1L

2. Considera la densidad del reactivo:

1.8364 g - 1 mL

98 g - x mL

x = 53.4 mL

3. Considera su pureza:

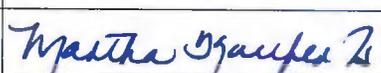
100 mL - 96 mL H_2SO_4

x mL - 53.4 mL H_2SO_4

x = 56.625 mL H_2SO_4

4. Mide con una pipeta, propipeta y probeta los 56.625 mL de ácido sulfúrico calculados y los deposita en un vaso de precipitados de 100 mL.

Vierte aproximadamente 750 mL de agua destilada a un vaso de precipitados de 1L.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 8 DE: 13 |

5. Transfiere el ácido sulfúrico al vaso con agua teniendo cuidado de hacerlo muy lentamente ya que la reacción es exotérmica.
6. Espera a que la solución se enfríe.
7. Vierte en un matraz volumétrico de 1L y afora a la marca con agua destilada ayudándose de una piseta.

Solución normal (N):

La normalidad (N) es la concentración de una disolución expresada en equivalentes de soluto que se encuentran disueltos en un litro.

Un equivalente corresponde al peso molecular de la sustancia, dividido entre el número de átomos de hidrógeno (H⁺) o de radicales hidroxilos (OH⁻) reemplazables que contenga la molécula.

Ejemplo de número de equivalentes:

El ácido sulfúrico (H₂SO₄) tiene dos unidades que reaccionan, entonces, el peso equivalente (p.eq) del ácido se calcula dividiendo su PM entre 2:

$$\text{p.eq. H}_2\text{SO}_4 = \text{PM}/2 = (98.08 \text{ g/mol})/2 = 49.04 \text{ eq/mol}$$

El ácido clorhídrico (HCl) solo tiene una unidad que reacciona, por lo tanto, su peso equivalente será:

$$\text{p.eq. HCl} = \text{PM}/1 = (36.5 \text{ g/mol})/1 = 36.5 \text{ eq./mol}$$

Ejemplo:

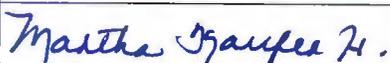
Para preparar 1 L de una solución 0.1 N de ácido sulfúrico (H₂SO₄), la Química o el Químico, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal toma en cuenta la información sobre el compuesto y sigue los pasos descritos a continuación:

1. Registra los datos sobre el reactivo:

PM = 98 g/mol
Densidad (δ) = 1.8364 g/mL
Pureza = 96%

2. Calcula el peso equivalente del ácido sulfúrico, es decir, su PM dividido entre el número de átomos sustituibles, que en este caso son 2 átomos de hidrógeno:

$$98 \text{ g}/2 = 49 \text{ g de ácido sulfúrico}$$

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 9 DE: 13 |

3. Considera que la concentración requerida es de 0.1N para determinar la cantidad de reactivo necesario:

$$\begin{array}{r} 1 \text{ N} - 49 \text{ g} \\ 0.1 \text{ N} - x \end{array}$$

$$X = 4.9 \text{ g de ácido sulfúrico}$$

4. Considera la densidad del reactivo:

$$\begin{array}{r} 1.8364 \text{ g} - 1 \text{ mL} \\ 4.9 \text{ g} - x \text{ mL} \end{array}$$

$$X = 2.67 \text{ mL H}_2\text{SO}_4$$

5. Considera la pureza:

$$\begin{array}{r} 100 \text{ mL del reactivo} - 96 \text{ mL de H}_2\text{SO}_4 \\ X - 2.67 \text{ mL H}_2\text{SO}_4 \end{array}$$

$$X = 2.78 \text{ mL H}_2\text{SO}_4$$

6. Mide con una pipeta, propipeta y probeta los 2.78 mL de ácido sulfúrico calculados y los deposita en un vaso de precipitado de 100 mL.

7. Vierte aproximadamente 750 mL de agua destilada a un vaso de precipitados de 1 L.

8. Transfiere el ácido sulfúrico al vaso con agua teniendo cuidado de hacerlo muy lentamente ya que la reacción es exotérmica.

9. Espera a que la solución se enfríe.

10. Vierte en un matraz volumétrico de 1 L y afora a la marca con agua destilada ayudándose de una piseta.

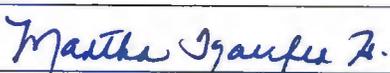
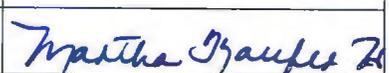
Solución porcentual (%):

Una concentración porcentual representa la cantidad de soluto en 100 mL de solución.

Puede expresarse de diferentes formas:

Volumen en volumen (vv), es decir, líquido en líquido

Peso de volumen (p/v), es decir, masa en líquido.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 10 DE: 13 |

Para preparar 100 mL de soluciones porcentuales la Química o el Químico, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal sigue los pasos de cada uno de los ejemplos descritos a continuación:

Ejemplo de soluciones porcentuales de un líquido diluido en otro líquido (líquido en líquido) (vv):

Solución de etanol al 96 % y solución de metanol al 80 %

1. Mide en una probeta de 100 mL los 96 mL de etanol o los 80 mL de metanol.
2. Transfiere a un matraz volumétrico de 100 mL.
3. Afora hasta la marca con agua destilada ayudado de una piseta.

Ejemplos soluciones porcentuales de un sólido disuelto en un líquido (peso en volumen) (p/v):

Solución de cloruro de sodio al 10 %.

1. Pesa 10 g de cloruro de sodio.
2. Disuelve en el solvente indicado, en un vaso de precipitados de 100 mL.
3. Transfiere a un matraz volumétrico de 100 mL.
4. Afora hasta la marca con el solvente indicado ayudado de una piseta.

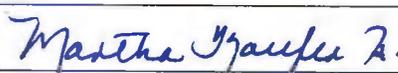
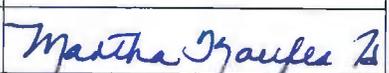
Solución alcohólica de rojo de metilo 0.05 % (p/v) en metanol al 80 %.

1. Pesa 0.05 g de rojo de metilo.
2. Disuelve en aproximadamente 80 mL de metanol al 80 % en un vaso de precipitados de 100 mL.
3. Transfiere a un matraz volumétrico de 100 mL.
4. Afora hasta la marca con la solución de metanol ayudado de una piseta.

Nota: una vez elaboradas las soluciones, las mantiene en frascos de vidrio limpios y etiquetados con el nombre y fórmula de la solución, la concentración, nombre de quien lo preparó y la fecha de elaboración.

Solución titulada o valorada:

Es la solución cuya concentración se determina empleando otra solución de concentración conocida.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 11 DE: 13 |

Para elaborar esta determinación la Química o el Químico, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza una titulación ácido-base siguiendo los pasos descritos a continuación:

1. Coloca en una bureta la solución de concentración conocida (C_1).
2. Coloca en un matraz un volumen conocido (V_2) de la solución cuya concentración es desconocida (C_2) es desconocida.
3. Agrega unas gotas del del indicador que corresponda al tipo de material y reactivo empleado en el análisis.
4. Comienza a verter la solución de la bureta al matraz.
5. Registra el volumen utilizado de la solución en la bureta (V_1) que requirió para alcanzar el punto de equilibrio, es decir, para que el indicador cambie al color característico.
6. Calcula la concentración de la solución problema utilizando la siguiente formula:

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

Donde:

C_1 = Concentración de la solución de referencia (concentración conocida).

C_2 = Concentración de la solución problema (concentración desconocida).

V_1 = Volumen utilizado de la solución de referencia (mL).

V_2 = Volumen de solución problema (mL).

7. Se despeja C_2 :

$$C_2 = \frac{C_1V_1}{V_2}$$

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

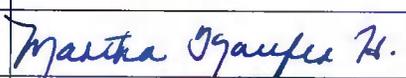
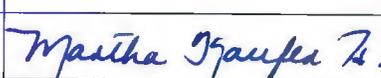
No Aplica.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 12 DE: 13 |

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Ácido sulfúrico:** Compuesto químico extremadamente corrosivo y cuya fórmula es H_2SO_4 .
- 9.2 Afora:** Llevar a la marca en un matraz volumétrico el volumen de una solución.
- 9.3 Bureta:** Recipiente de forma alargada, graduadas, tubulares de diámetro interno uniforme, de diferentes capacidades en volumen. Se emplea para medir con precisión volúmenes de líquidos a una determinada temperatura.
- 9.4 Exotérmica:** Reacción química que libera energía en forma de calor.
- 9.5 Indicador (colorante):** Sustancia química que cambia su color al cambiar el pH de la disolución.
- 9.6 Molaridad:** Es la concentración de una disolución expresada en moles de soluto que se encuentran disueltos en un litro y se expresa en moles/litro, con el símbolo "M".
- 9.7 Mol:** Unidad con que se mide la cantidad de sustancia, una de las siete magnitudes físicas fundamentales del Sistema Internacional de Unidades, de símbolo *mol*, que equivale a la masa de tantas unidades elementales (átomos, moléculas, iones, electrones, etc.) como átomos hay en 0.012 kilogramos de carbono 12.
1 mol = 6,022 140 76 × 10²³ unidades elementales.
- 9.8 Normalidad:** Es la concentración de una disolución expresada en equivalentes de soluto que se encuentran disueltos en un litro y se expresa como Eq/litro, con el símbolo "N".
- 9.9 Peso en volumen:** Es la concentración de una solución expresada como la relación de un sólido disuelto en un líquido (g/L, mg/mL, kg/ L, etc.).
- 9.10 Peso equivalente:** Es el resultado de dividir el peso molecular de un compuesto entre el número de hidrógenos o hidroxilos sustituibles.
- 9.11 pH:** Es una medida que indica la acidez o la alcalinidad de una solución. Se define como la concentración de iones de hidrógeno en el agua. Presenta valores de 0 a 14.
- 9.12 Pipeta:** Es un instrumento volumétrico de laboratorio formado por un tubo transparente, generalmente de vidrio, que termina en una de sus puntas de forma cónica y tiene una graduación (una serie de marcas grabadas) indicando distintos volúmenes.
- 9.13 Piseta:** Recipiente cilíndrico sellado con tapa rosca, el cual posee un pequeño tubo con una abertura capaz de entregar agua o cualquier líquido que se encuentre contenido en su interior, en pequeñas cantidades.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 2. Procedimiento Técnico para Preparar Soluciones | | HOJA: 13 DE: 13 |

- 9.14 Porcentaje:** Es la concentración de una solución expresada como las unidades de un sólido o un líquido disuelto en 100 unidades de otro líquido.
- 9.15 Propipeta:** Auxiliar de pipeteado muy seguro ya que con sus válvulas permite la absorción de los reactivos líquidos y muestras de forma más segura evitando el contacto con la piel.
- 9.16 Titulación o valoración:** Es el procedimiento empleado en análisis volumétrico, en el cual una solución de concentración conocida llamada titulante o patrón, se le agrega a una solución de concentración desconocida desde una bureta hasta lograr el punto final o de equivalencia (diferente al punto de equilibrio).
- 9.17 Volumen en volumen:** Es la concentración de una solución expresada como la relación de un líquido disuelto en otro líquido (mL/L, uL/L etc.).

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

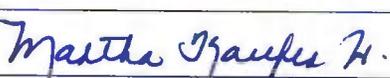
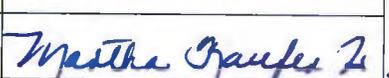
CHEMISTRY FOR ENGINEERING. Prince George's Community College. Chemistry LibreTexts. Recuperado de: chem.libretexts.org (18 octubre 2022).

[https://chem.libretexts.org/Courses/Prince_Georges_Community_College/CHEM_2000%3A_Chemistry_for_Engineers_\(Sinex\)/Unit_4%3A_Nomenclature_and_Reactions/Chapter_12%3A_Aqueous_Reactions/Chapter_12.1%3A_Preparing_Solutions](https://chem.libretexts.org/Courses/Prince_Georges_Community_College/CHEM_2000%3A_Chemistry_for_Engineers_(Sinex)/Unit_4%3A_Nomenclature_and_Reactions/Chapter_12%3A_Aqueous_Reactions/Chapter_12.1%3A_Preparing_Solutions).

Zumbado Fernández Héctor Manuel. 2008. Análisis Químico de los Alimentos: Métodos clásicos. Instituto de Farmacia y Alimentos. Editorial Universitaria del Ministerio de Educación Superior. La Habana, Cuba. 433 p.

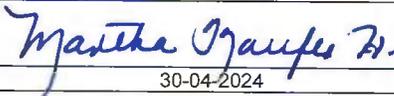
11.0 CAMBIOS EN ESTA VERSIÓN

| Número de revisión | Fecha de la actualización | Descripción del cambio |
|--------------------|---------------------------|------------------------|
| No Aplica | No Aplica | No Aplica |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 1 DE: 35 |

3. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA DESARROLLAR TÉCNICAS ANALÍTICAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 2 DE: 35 |

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

Es un método utilizado para medir la cantidad de luz que absorbe una sustancia, la cual se mide cuando un haz luminoso pasa a través de la solución muestra, basándose en la Ley de Beer y Lambert. Esta medición también puede usarse para medir la cantidad de un producto químico conocido en una sustancia.

2.0 OBJETIVO

Lograr las condiciones necesarias para obtener la preparación de las curvas de calibración, así como la preparación de las muestras y cuantificarlas espectrofotométricamente en los laboratorios del Departamento cuidando las condiciones de seguridad y precisión requeridas.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

Las servidoras y los servidores públicos que participan en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite desarrollar técnicas analíticas espectrofotométricas.

1. Química y/o Químico de Nutrición Animal.
2. Técnica y/o Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal.
3. Investigadora y/o Investigador de Nutrición Animal.
4. Investigadora y/o Investigador Asociado.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

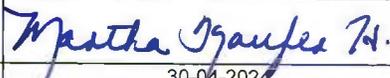
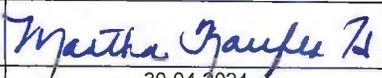
MATERIAL:

1. Matraces de vidrio rojo aforado de 10 mL.
2. Probeta de vidrio de 500 mL.
3. Probeta de vidrio de 100 mL.
4. Tubos de vidrio de 50 mL.
5. Tubos de vidrio de 10 mL.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 3 DE: 35 |

6. Embudos de vidrio.
7. Matraces bola de 250 mL, con boca esmerilada.
8. Matraces de Erlenmeyer de 250 mL.
9. Vaso de precipitados de vidrio línea A.
10. Pipeta Pasteur de vástago corto.
11. Barras magnéticas para agitación.
12. Celdas de cuarzo.
13. Espátula de acero inoxidable.
14. Gradillas para tubos de 10 mL.
15. Gradillas para tubos de 50 mL.
16. Matraz volumétrico de 1L, clase A.
17. Matraz volumétrico de 100ml, clase A.
18. Micropipeta automática de 100-1000 µL.
19. Micropipeta automática de 200-1000 µL.
20. Micropipeta automática de 1-5 mL.
21. Papel filtro Whatman No. 41.
22. Puntas para micropipeta automática de 200-1000 µL.
23. Puntas para micropipeta automática de 100-1000 µL.
24. Puntas para micropipeta automática de 1-5 mL.
25. Papel aluminio.
26. Pipeta serológica de 5 y 10 mL.
27. Propipeta de tres vías.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|---|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 4 DE: 35 |

28. Tubo de ensaye de vidrio de 13 x 100.
29. Vaso de precipitados de vidrio de 100, 250 y 500 mL, clase A.
30. Tubos de ensaye de vidrio con boca roscada y tapa de baquelita.
31. Etiquetas adheribles.
32. Plumón indeleble.
33. Probeta de 500 mL.
34. Bulbos para pipeta Pasteur.
35. Matraz aforado de 10 y 100 mL.
36. Frascos ámbar.
37. Termómetro.



REACTIVOS:

1. Metanol grado reactivo, J.T. Baker.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 5 DE: 35 |

2. Estándar de ácido gálico 99.8 % pureza.
3. Ácido clorhídrico.
4. Carbonato de sodio.
5. Reactivo de Folin Ciocalteu.
6. Agua destilada.
7. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracil).
8. α-tocoferol.
9. Catequina.
10. ABTS (ácido 2, 2'azinobis-3-etilbenzotiazolina-6-sulfónico, sal diamónica).
11. Persulfato de potasio.
12. N-butanol 950 mL (95 %).
13. Sulfato férrico de amonio.
14. Acetona.
15. Rodanina.
16. Persulfato de amonio grado analítico (NH₄)₂S₂O₈.
17. Trióxido de arsénico (As₂O₃).
18. Ácido sulfúrico concentrado 98%.
19. Cloruro de sodio (NaCl).
20. Yodato de potasio (KIO₃).
21. Sulfato de amonio cérico [(NH₄)₄Ce(SO₄)₄* 2H₂O)].
22. Ácido arsenioso.

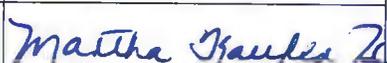
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 6 DE: 35 |

EQUIPOS:

1. Balanza analítica.
2. Vórtex.
3. Rotavapor.
4. Espectrofotómetro UV/Vis.
5. Agitador orbital.
6. Sonicator.
7. Refrigerador.
8. Congelador.
9. Baño María.
10. Centrifuga.
11. Bloque de calentamiento.



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 7 DE: 35 |

EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL:

1. Guantes de caucho de butilo.
2. Respirador con cartuchos 3M para vapores orgánicos.
3. Respirador con cartuchos 3M para ácidos y álcalis.
4. Respirador con cartuchos 3M para polvos tóxicos.
5. Goggles.
6. Bata blanca de algodón abotonada y de manga larga.
7. Bata desechable.
8. Gorra desechable.



Nota: equipo de protección personal (en la determinación de yodo):

Protección de los ojos/la cara: usar equipo de protección para los ojos probado y aprobado según las normas gubernamentales correspondientes, tales como NIOSH (EE.UU.) o EN 166 (UE). Gafas de seguridad ajustadas al contorno del rostro.

Protección de manos: guantes de nitrilo.

Protección respiratoria: usar un respirador que cubra toda la cara, testado y aprobado bajo los estándares gubernamentales apropiados como NIOSH (EEUU) o CEN (UE) Control de exposición ambiental.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 8 DE: 35 |

5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

El procedimiento se realiza en un ambiente sin ruido y sin patógenos en mesas de trabajo de acero inoxidable con tuberías de aire y vacío, una campana de extracción para solventes orgánicos y una campana de extracción para vapores tóxicos (ácidos y álcalis).

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo.
D.O.F. 17-II-2003

Norma Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008. Equipo de protección personal, selección uso y manejo en los Centros de Trabajo.
D.O.F 09-XII-2008

Norma Oficial Mexicana NOM-030-STPS-2009. Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo-funciones y actividades.
D.O.F. 22-XII-2009

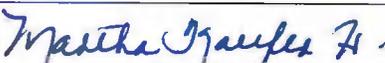
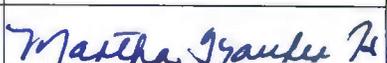
Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEGOB-2011, Señales y avisos para protección civil, colores, formas y símbolos a utilizar.
D.O.F. 23-XII-2011 y sus reformas

Norma Oficial Mexicana NOM-019-STPS-2011. Constitución, integración, organización y funcionamiento de las comisiones de seguridad e higiene.
D.O.F. 13-IV-2011

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

Fundamento del método:

Se basa en que las moléculas de una solución absorben las radiaciones y que, a su vez, la cantidad de luz absorbida (a una longitud de onda determinada) depende de forma lineal de la concentración de una sustancia conocida.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 9 DE: 35 |

Polifenoles totales:

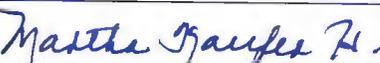
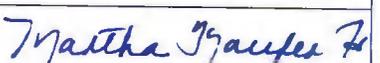
El ensayo Folin-Ciocalteu) se utiliza para medir el contenido de compuestos fenólicos totales en productos vegetales. Se basa en que los compuestos fenólicos reaccionan con el reactivo de Folin-Ciocalteu, a pH básico, dando lugar a una coloración azul susceptible de ser determinada espectrofotométricamente a 765 nm. Este reactivo contiene una mezcla de wolframato sódico y molibdato sódico en ácido fosfórico y reacciona con los compuestos fenólicos presentes en la muestra. El ácido fosfomolibdotúngstico (formado por las dos sales en el medio ácido), de color amarillo, al ser reducido por los grupos fenólicos da lugar a un complejo de color azul profundo, cuya intensidad sirve para evaluar el contenido en polifenoles.

Obtención de un extracto de *Acacia farnesiana*:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realizan la obtención de un extracto de *Acacia farnesiana* de la siguiente manera:

1. Pesa 20-40 g de muestra seca y molida.
2. Coloca la muestra pesada en un matraz Erlen Meyer de 250 mL.
3. Adiciona 100-200 mL de la solución de extracción (solvente orgánico/agua (v/v)), para la muestra a analizar (mezcla de metanol: agua (80:20)
4. Agita en vórtex durante un minuto.
5. Sonica durante 30 minutos en un baño ultrasónico.
6. Coloca en agitador orbital durante 2 horas en ausencia de la luz.
7. Deja reposar en refrigeración durante 24 horas fuera del alcance de la luz.
8. Filtra sobre papel Whatman No. 41 y embudo de vidrio a un matraz bola con boca esmerilada y tarado para rotavapor, dentro de la campana para vapores orgánicos.
9. Coloca en rotavapor (bajo las condiciones de la sig. tabla) y evapora los solventes orgánicos (metanol: agua) hasta sequedad. Temperatura del agua (35 °C) y temperatura del refrigerante (1 °C).

| Rpm | Presión (psi) | Tiempo (min) |
|-----|---------------|--------------|
| 85 | 220 | 15 |
| 85 | 180 | 15 |
| 85 | 150 | 10 |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 10 DE: 35 |

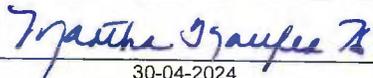
| Rpm | Presión (psi) | Tiempo (min) |
|-----|---------------|----------------|
| 50 | 100 | 5 |
| 20 | 80 | Hasta sequedad |

10. Evapora durante 90 minutos a baño maría y bajo atmosfera de nitrógeno los remanentes de metanol en el extracto (todo esto fuera del alcance de la luz).
11. Deja que el extracto se atempere y pesa.
12. Calcula el peso del extracto por diferencia gravimétrica.
13. Refrigera el extracto fuera del alcance de la luz hasta su análisis.

Obtención de un extracto de nopal:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la obtención de un extracto de nopal de la siguiente manera:

1. Pesa 25 g de harina de nopal.
2. Añade 200 mL de una mezcla etanol-agua destilada (50:50).
3. Deja reposar toda la noche, protegida de la luz y en refrigeración (4°C).
4. Agita la mezcla a 150 rpm por dos horas a temperatura ambiente.
5. Centrifuga a 3000 rpm por 15 min a 20 °C.
6. Filtra el sobrenadante y guardar a 4°C mientras que la pastilla se re-suspende en 200 mL de una mezcla de acetona-agua destilada (70:30) y repite el proceso de extracción a partir del reposo por toda la noche seguido de una centrifugación.
7. Reúne los sobrenadantes de la mezcla etanólica y de la acetónica y coloca en rotavapor para eliminar los disolventes orgánicos y mantener sólo la fase acuosa.
8. Revisa que los posibles disolventes remanentes, fueron eliminados con gas de N2 inyectando directamente a los matraces por 30 minutos. El extracto acuoso de nopal así obtenido (EAN), lo liofilizó para obtener de ese modo una reserva de extracto acuoso en forma liofilizada, para todo el experimento.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|----------------------------------|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 11 DE: 35 |



Preparación del extracto en solución:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la preparación del extracto en solución de la siguiente manera:

1. Resuspende el extracto en 50 mL de agua destilada a 35 °C.
2. Filtra a través de un filtro de 45 micras de poro.
3. Mantiene el filtrado tapado, en refrigeración y fuera del alcance de la luz.

Preparación de Reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la preparación de reactivos de la siguiente manera:

1. Pesa 100 mg del estándar de ácido gálico y lo disuelve en 10 mL de una mezcla metanol:agua (80:20) para tener una solución estándar de 10 mg/mL.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

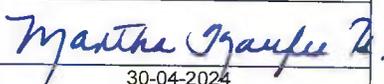
| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 12 DE: 35 |

2. Coloca diferentes volúmenes de la solución estándar en matraces volumétricos color ámbar de 10 mL, aforando a la marca con la mezcla metanol:agua (80:20) para obtener la siguiente curva:

| Volumen (µL) | Concentración (mg/mL) |
|--------------|-----------------------|
| 100 | 0.1 |
| 300 | 0.3 |
| 500 | 0.5 |
| 1000 | 1.0 |

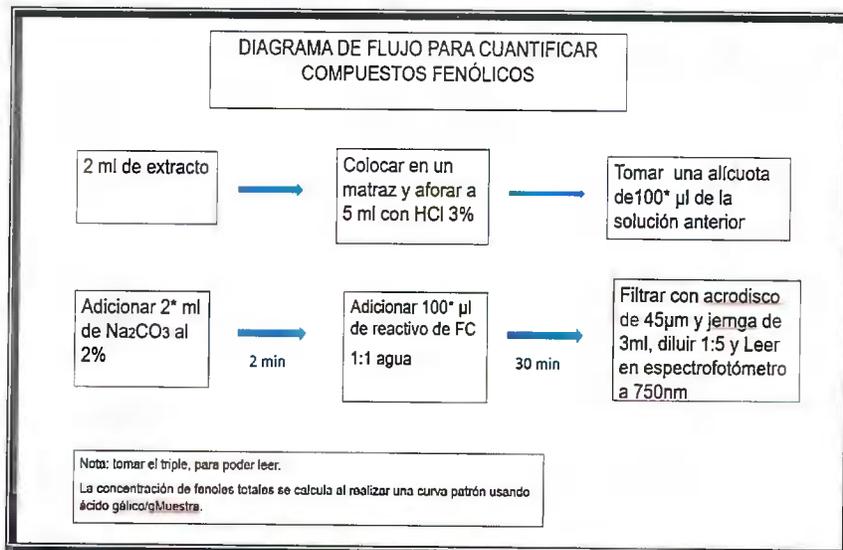
3. Prepara el reactivo de Folin–Ciocalteu (1:1) mezclando 5 mL del reactivo con 5 mL de agua destilada en un matraz volumétrico de 10 mL con tapa mezclando por inversión.
4. Prepara la solución de carbonato de sodio al 2 % pesando 2.01 g de carbonato de sodio y aforando con agua en un matraz volumétrico de 100 mL.

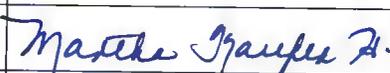
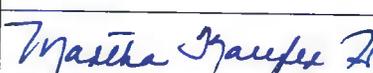


| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 13 DE: 35 |

Desarrollo del procedimiento:



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 14 DE: 35 |

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal obtiene una curva estándar con la que realiza los cálculos a partir de las lecturas de las muestras del espectrofotómetro, reportando los resultados finales como miligramos equivalentes de ácido gálico (mg EAG) considerando lo siguiente:

$$\text{mg EAG/mL de extracto} = [\text{mg EAG}] \times [\text{mg extracto/mL}] \times [\text{mL extracto}]$$

La Química o el Químico, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal controla los resultados cuando:

1. Realiza las curvas de ácido gálico correctamente.
2. Revisa que la temperatura del baño maría no sea mayor a 35°C.
3. Revisa la presión y rpm del rotavapor.

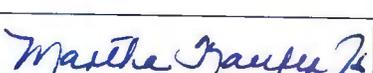
Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal vigila cuidadosamente el desarrollo de los siguientes pasos:

1. La preparación de reactivos.
2. La preparación de la curva patrón.
3. El incremento de la temperatura del baño maría para que no rebase los 35 ° C.
4. La temperatura del anticongelante (1°C).
5. La presión en la evaporación de solventes, no menor a 80 psi.
6. La calibración del espectrofotómetro.

Riesgos en el manejo de reactivos:

1. Metanol:

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 15 DE: 35 |

Contacto con los ojos: Produce irritación y conjuntivitis.

Ingestión: La ingestión de sólo 60 cc. puede provocar la muerte. En casos menos agudos puede provocar ceguera, daño al cerebro, al hígado o a los riñones.

Efectos de una sobreexposición crónica (largo plazo): No hay evidencia de que una exposición de largo plazo produzca daños permanentes en seres humanos.

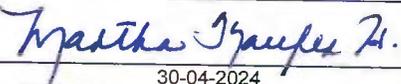
Condiciones médicas que se verán agravadas con la exposición al producto: Las personas con enfermedades preexistentes de la retina o del hígado no deben exponerse al producto.

2. Folin-Ciocalteu:

- a. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- b. R35 Provoca quemaduras graves.

3. Ácido gálico:

- a. P260. No respirar polvos, humos, gases, nieblas, vapores, aerosoles.
- b. P264. Lavarse la piel concienzudamente después de la manipulación.
- c. P270. No comer, no beber, no fumar mientras se manipula este producto.
- d. P273. No dispersar al medio ambiente.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 16 DE: 35 |

4. Ácido clorhídrico (HCL):

Es altamente corrosivo a la piel y membranas mucosas. Inhalación: En el caso de exposiciones agudas, los mayores efectos se limitan al tracto respiratorio superior. El gas causa dificultad para respirar, tos e inflamación y ulceración de nariz, tráquea y laringe. Exposiciones severas causan espasmo de la laringe y edema en los pulmones y cuerdas vocales. Una exposición prolongada y repetida puede causar decoloración y corrosión dental. En algunos casos, se han presentado problemas de gastritis y bronquitis crónica. Contacto con ojos: este ácido es un irritante severo de los ojos y su contacto con ellos puede causar quemaduras, reducir la visión o, incluso, la pérdida total de ésta. Contacto con la piel: en forma de vapor o disoluciones concentradas causa quemaduras serias, dermatitis y fotosensibilización. Las quemaduras pueden dejar cicatrices, que incluso pueden desfigurar las regiones que han sido dañadas. Ingestión: produce corrosión de las membranas mucosas de la boca, esófago y estómago. Carcinogenicidad: se ha observado alta mortalidad por cáncer de pulmón en trabajadores expuestos a neblinas de ácido. El HCL tiene que manejarse en la campana de extracción de ácidos, utilizando bata blanca abotonada y de manga larga, guantes resistentes al ácido, mascarilla contra ácidos o universal. Agregar el ácido lentamente al agua para evitar proyecciones del mismo, recordar que este genera una reacción exotérmica.

5. Carbonato de sodio:

- a. P305+P351+P338 en caso de contacto con los ojos: Enjuagar con agua cuidadosamente durante varios minutos. Quitar las lentes de contacto cuando estén presentes y pueda hacerse con facilidad. Proseguir con el lavado.
- b. P337+P313 si persiste la irritación ocular: Consultar a un médico.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD SECUESTANTE POR RADICAL DPPH+:

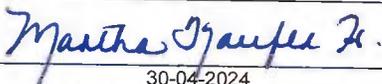
Fundamento:

Los antioxidantes reaccionan con el radical DPPH (color púrpura) para convertirlo a su forma reducida DPPH-H (color amarillo); el grado de decoloración que experimenta la reacción a 515 nm, depende del potencial secuestrante del compuesto antioxidante (Siddhuraju, 2002).

Obtención del extracto de nopal:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza las siguientes actividades para la obtención del extracto del nopal:

1. Pesa 25 g de harina de nopal.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 17 DE: 35 |

2. Añade 200 mL de una mezcla etanol-agua destilada (50:50).
3. Deja reposar toda la noche, protegida de la luz y en refrigeración (4 °C).
4. Posteriormente agita la mezcla a 150 rpm por dos horas a temperatura ambiente.
5. Transcurrido este tiempo centrifuga a 3000 rpm por 15 min a 20 °C.
6. Filtra el sobrenadante y guarda a 4 °C mientras que la pastilla se resuspende en 200 mL de una mezcla de acetona-agua destilada (70:30), repitiendo el proceso de extracción a partir del reposo por toda la noche seguido de una centrifugación.
7. Una vez reunidos los sobrenadantes de la mezcla etanólica y acetónica, los coloca en rotavapor para eliminar los disolventes orgánicos y mantener sólo la fase acuosa.
8. Inyecta gas de N₂ directamente a los matraces por 30 minutos a fin de que los posibles disolventes remanentes, sean eliminados. El extracto acuoso de nopal, así obtenido (EAN), se liofiliza, teniendo de ese modo, una reserva de extracto para todo el proyecto de investigación.

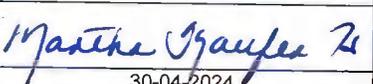
Preparación de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza los siguientes pasos para la preparación de reactivos:

1. Para la solución de etanol-agua destilada (50:50): Coloca 500 mL de etanol en un matraz volumétrico de 1L y afora a la marca con agua destilada.
2. Para la solución de acetona-agua destilada (70:30): Coloca 700 mL de acetona en un matraz volumétrico de 1L y afora a la marca con agua destilada.
3. Para la solución metanólica del radical-DPPH 3 x10⁻⁵ M: Pesa 0.0012 g de DPPH y los disuelve en un matraz volumétrico de 100 mL, aforando a la marca con metanol.

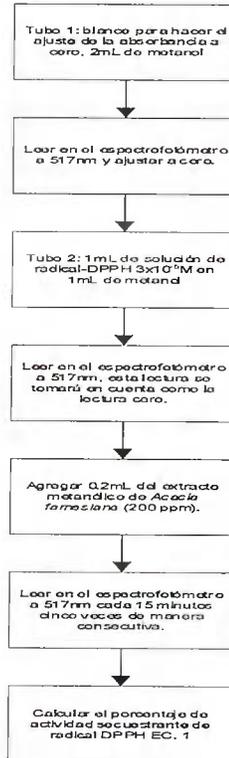
Desarrollo del procedimiento:

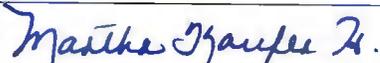
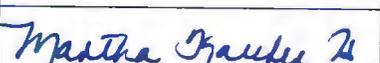
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza las siguientes actividades para el desarrollo del procedimiento:

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 18 DE: 35 |

1. Agrega en un tubo de ensayo 2 mL de metanol, éste será el blanco para hacer el ajuste de la absorbancia a cero.
2. Agrega en un segundo tubo de ensayo 1 mL de la solución de radical-DPPH 3×10^{-5} M en metanol.
3. Lee Inmediatamente en el espectrofotómetro a una absorbancia de 517 nm, asignándole a esta lectura el tiempo cero.
4. Posteriormente agrega 0.2 mL del extracto metanólico (200 ppm) al tubo con el DPPH y observa el comportamiento de la absorbancia cada 5 minutos en cinco tiempos sucesivos.
5. Usa como patrones de referencia α -tocoferol y catequina.
6. Calcula el porcentaje de actividad secuestrante del radical DPPH de acuerdo a las absorbancias obtenidas y a la ecuación 1.



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 19 DE: 35 |

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza el registro y el cálculo de los resultados de la siguiente manera:

$$\% \text{ Actividad secuestrante del radical DPPH}^+ = \frac{\text{Abs}_{\text{tiempo cero}} - \text{Abs}_{\text{tiempo final}}}{\text{Abs}_{\text{tiempo cero}}} * 100$$

$\text{Abs}_{\text{tiempo cero}}$ = Absorbancia inicial del DPPH⁺.

$\text{Abs}_{\text{tiempo final}}$ = Absorbancia del extracto transcurridos 75 min.

Puntos críticos:

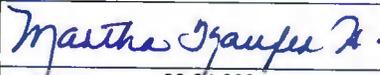
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal toma en cuenta los siguientes puntos críticos:

1. La preparación de reactivos.
2. La lectura de la absorbancia cada 5 minutos.
3. La calibración del espectrofotómetro.

Control de la técnica, equipo y analista:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos:

1. La preparación de soluciones.
2. Mantiene las muestras fuera del alcance de la luz.
3. Ajusta la absorbancia a cero.
4. Coloca las celdas de cuarzo en la posición correcta en el espectrofotómetro.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|----------------------------------|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 20 DE: 35 |

Riesgos en el manejo de reactivos:

1. DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidracilo):

- a. H317 provoca una reacción alérgica en la piel.
- b. H334 provoca síntomas de alergia, asma o dificultades respiratorias, en caso de inhalación.

2. Metanol:

- a. H225 líquido y vapores muy inflamables.
- b. H301 + H311 + H331 tóxico, en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.
- c. H370 provoca daños en los órganos (ojos, sistema nervioso central).

3. Catequina:

- a. H315 provoca irritación cutánea.
- b. H319 provoca irritación ocular grave.
- c. H335 puede irritar las vías respiratorias.

DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD SECUESTRANTE POR EL RADICAL ABTS (2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio):

Fundamento:

Este método implica la cuantificación de la decoloración del radical ABTS⁺, esto es por su reducción a ABTS por la acción de antioxidantes. El radical catiónico ABTS⁺ es un cromóforo verde azulado que absorbe a una longitud de onda de 734 nm y es generado por una reacción de oxidación del ABTS (2,2'-azino-bis-3-etil benzotiazolin-6-sulfonato de amonio) con persulfato de potasio. De esta manera el grado de decoloración como porcentaje de inhibición del radical ABTS⁺ está determinado en función a la concentración.

Obtención de extracto de nopal:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza los siguientes pasos para la obtención del extracto de nopal:

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 21 DE: 35 |

1. Pesa 25 g de harina de nopal.
2. Añade 200 mL de una mezcla de etanol-agua destilada (50:50).
3. Deja reposar toda la noche, protegida de la luz y en refrigeración (4°C).
4. Posteriormente agita por 2 horas la mezcla a 150 rpm a temperatura ambiente.
5. Transcurrido el tiempo centrifuga por 15 min a 3000 rpm a 20°C.
6. Filtra el sobrenadante y guarda a 4 °C mientras que la pastilla se resuspende en 200 mL de una mezcla de acetona-agua destilada (70:30), repitiendo el proceso de extracción a partir del reposo por toda la noche seguido de una centrifugación.
7. Coloca en rotavapor para eliminar los disolventes orgánicos los sobrenadantes de la mezcla etanólica y acetónica y mantiene sólo la fase acuosa.
8. Inyecta directamente a los matraces por 30 minutos a fin de que los posibles disolventes remanentes, fueron eliminados con gas de N₂. El extracto acuoso de nopal, así obtenido (EAN), se liofilizó y obtiene de ese modo una reserva de extracto acuoso en forma liofilizada para todo el proyecto de investigación.

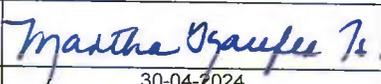
Preparación de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara los reactivos de la siguiente manera:

1. Del etanol-agua destilada (50:50). Coloca en un matraz volumétrico 500 mL de etanol y afora a 1000 mL con agua destilada.
2. De la acetona-agua destilada (70:30). Coloca en un matraz volumétrico 500 mL de acetona y afora a 1000 mL con agua destilada.

Desarrollo del procedimiento:

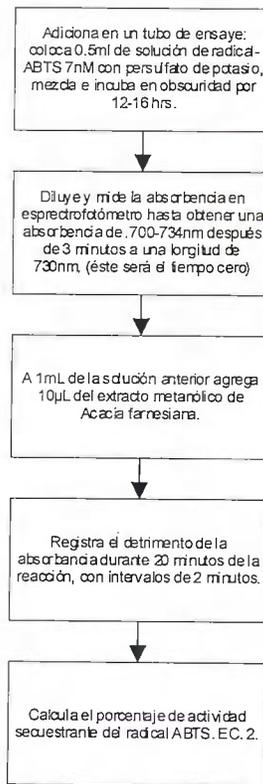
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal para realizar esta técnica utiliza el procedimiento descrito por Kuskoski (2005) y Turkmen (2006), que consiste en producir el radical ABTS⁺ mediante una solución de ABTS (ácido 2, 2'azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico, sal diamónica) 7 mM con persulfato de potasio (Grado analítico) 2.45 mM (concentración final).

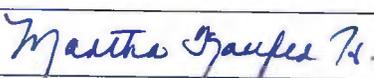
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 22 DE: 35 |

1. Mezcla en un tubo de ensayo e incuba en la obscuridad por 12-16 horas a temperatura ambiente.
2. Diluye una vez formado el radical hasta obtener una absorbancia de 700 a 734 nm en un espectrofotómetro.
3. Posteriormente toma 100 µL del extracto metanólico (200 ppm) y agrega 1 mL de la solución diluida de ABTS⁺.
4. Monitorea por 20 min. la reacción y usa como patrones de referencia α-tocoferol y catequina.
5. Calcula el porcentaje de actividad secuestrante del radical ABTS⁺ de acuerdo a las absorbancias y a la ecuación 2.

Determinación de la actividad secuestrante por radical ABTS:



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 23 DE: 35 |

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza el registro y el cálculo de los resultados de la siguiente manera:

$$\% \text{ Actividad secuestrante del radical ABTS} = \frac{\text{Abs}_{\text{ tiempo cero}} - \text{Abs}_{\text{ tiempo final}}}{\text{Abs}_{\text{ tiempo cero}}} * 1000$$

Abs tiempo cero = Absorbancia inicial del ABTS⁺.

Abs tiempo final = Absorbancia del extracto transcurridos 20 minutos

Control de la técnica, equipo y analista:

1. Calibración del espectrofotómetro.
2. Preparación de soluciones.

Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa el siguiente punto crítico:

1. El tiempo de incubación para formar el radical ABTS

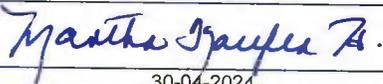
Riesgos en el manejo de reactivos:

ABTS (ácido 2, 2'azinobis-3-etilbenzotiazolin-6-sulfónico, sal diamónica).

No es considerado como peligroso por la Norma de Comunicación de Riesgos de la OSHA.

1. Persulfato de potasio:

- a. H302 Toxicidad aguda oral Categoría 4.
- b. H315 Corrosión o irritación cutáneas Categoría 2.
- c. Lesiones o irritación ocular graves Categoría 2 (H319).

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 24 DE: 35 |

- d. H334 Sensibilización respiratoria Categoría 1.
- e. H317 Sensibilización cutánea Categoría 1.
- f. H335 Toxicidad específica del órgano blanco (única exposición) Categoría 3.

2. Catequina:

- a. H315 Provoca irritación cutánea.
- b. H319 Provoca irritación ocular grave.
- c. H335 Puede irritar las vías respiratorias.

DETERMINACIÓN DE TANINOS:

Los taninos son compuestos polifenólicos con diferentes pesos moleculares, capaces de ligar proteínas en solución acuosa. Se clasifican en dos grupos principales: taninos condensados y taninos hidrolizables. Se considera que ambos poseen efectos tanto benéficos como adversos dependiendo de la concentración en la que estos se encuentren en el ingrediente o alimento, aunque esta concentración se ve afectada por diversos factores como la especie animal, estado fisiológico del animal y la composición de la dieta.

TANINOS CONDENSADOS:

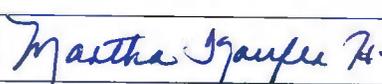
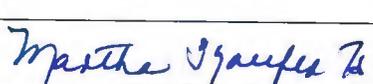
Fundamento:

El método está basado en la despolimerización oxidativa de taninos condensados usando butanol-ácido clorhídrico. La presencia de hierro es considerada para incrementar la reproducibilidad y la sensibilidad del ensayo.

Preparación de Reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara los reactivos de la siguiente manera:

1. Solución acetona:agua 70% v/v, coloca en un matraz volumétrico 500 mL de acetona y afora a 1000 mL con agua destilada.
2. Butanol-HCl (95:5) 950 mL n-butanol mezclados con 50 mL de HCl concentrado (37%): prepara la campana de extracción de gases.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

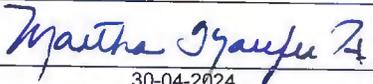
| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 25 DE: 35 |

- Sulfato Férrico de amonio 2% en HCl 2N 16.6 mL de HCl concentrado en aproximadamente 50 mL de agua destilada, completa en matraz aforado hasta 100 mL con agua destilada. Disuelve 2 g de sulfato férrico de amonio (dodecahidratado) en 100 mL de HCl 2N y almacena en frasco ámbar.

Extracción de Taninos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la extracción de taninos de la siguiente manera:

- Pesa 200 mg de muestra finamente molida en tubos de cuya capacidad sea de 30 mL.
- Identifica las muestras (incluir muestra patrón). Una vez identificadas las muestras las almacena en la oscuridad.
- Adiciona 10 mL de disolvente (acetona:agua 70 % v/v).
- Sella el tubo con papel parafinado.
- Coloca los tubos en un sonicador durante 20 min. el agua del baño cubre 2/3 del tubo (mantiene la temperatura del baño a temperatura ambiente).
- Traslada el contenido del tubo a tubos para centrífuga y enfriar a 4°C.
- Centrifuga a 1900 rpm durante 10 min.
- Coloca el sobrenadante en microtubos y lo guarda en congelación para posteriores determinaciones.
- Realiza una dilución del extracto anterior (depende del contenido aproximado de taninos condensados en la muestra), usando acetona al 70 %.
- Coloca 0.5 mL de extracto en tubos de ensayo (13 x 100 mm) y adiciona a cada muestra 3 mL de butanol-HCl y 0.1 mL de reactivo Férrico.
- Agita en vórtex cada uno de los tubos.
- Cubre cada tubo con papel parafinado y los coloca en baño de agua de 97°- 100 °C durante 60 min.
- Espera a que los tubos se enfríen.
- Lee la absorbancia a 550 nm (Proantocianidinas).

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 26 DE: 35 |

15. Determina primero la absorbancia del blanco y posteriormente la de cada una de las muestras.

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal registra y realiza el cálculo de los resultados de la siguiente manera:

La cantidad de taninos condensados, está dada por la siguiente fórmula:

$$\text{mg Leucocianidinas} = \frac{\text{Abs} \times 78.6 \times \text{Factor de dilución}}{\% \text{ materia seca}}$$

Donde el factor de dilución se obtiene considerando el volumen de la alícuota y el volumen final de reacción.

Control de la técnica, equipo y analista:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal vigila el desarrollo del análisis cuidando lo siguiente:

1. La calibración del espectrofotómetro.
2. La preparación de soluciones.

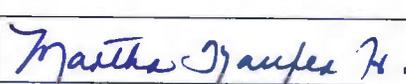
Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal cuida la ejecución de los puntos críticos de la técnica:

1. Pesa correctamente la cantidad de muestra.
2. Identifica correctamente las muestras (incluir muestra patrón) y las almacena en la oscuridad.

Riesgos en el manejo de reactivos:

1. N-butanol:

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 27 DE: 35 |

- a. H226 Líquidos y vapores inflamables.
- b. H302 Nocivo en caso de ingestión.
- c. H315 Provoca irritación cutánea.
- d. H318 Provoca lesiones oculares graves.
- e. H335 Puede irritar las vías respiratorias.
- f. H336 Puede provocar somnolencia o vértigo.

2. Ácido clorhídrico:

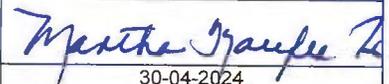
- a. H290 Puede ser corrosivo para los metales.
- b. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- c. H335 Puede irritar las vías respiratorias.

3. Sulfato férrico de amonio:

- a. H315 Irritación cutánea (Categoría 2).
- b. H319 Irritación ocular (Categoría 2A).
- c. H335 Toxicidad específica en determinados órganos-exposición única (Categoría 3), Sistema respiratorio.

4. Acetona:

- 1. H225 - Líquido y vapores muy inflamables.
- 2. H319 - Provoca irritación ocular grave.
- 3. H336 - Puede provocar somnolencia o vértigo.
- 4. EUH066 - La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 28 DE: 35 |

CUANTIFICACIÓN DE IODO EN HUEVO LIOFILIZADO POR MEDIO DE LA REACCIÓN DE PERSULFATO DE AMONIO EN MEDIO ÁCIDO:

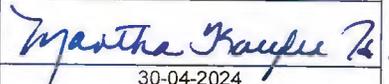
Fundamento:

Utilizando el persulfato de amonio, un químico no explosivo y no peligroso, como reactivo oxidante. El procedimiento de oxidación puede completarse en 30 minutos a una temperatura de 91-95 °C.

1. Pesa en una balanza analítica 10 mg de muestra en tubos de vidrio de 50 mL con tapón de rosca y septa de baquelita.
2. Adiciona 2 mL persulfato de amonio 1 mol/L en ácido sulfúrico al 10 M.
3. Agita por 1 min. en vórtex.
4. Calienta en un bloque a 100°C, por 2 horas.
5. Deja enfriar a temperatura ambiente y agrega 2 mL de ácido arsenioso al 0.0253 mol/L en ácido sulfúrico al 0.625 mol/L.
6. Adiciona 500 µL de ácido sulfúrico al 2.5N.
7. Agita por 1 min. en vórtex.
8. Introduce los tubos en baño maría a 42°C durante 15 min.
9. Retira las muestras del baño maría y agrega 300 µL de sulfato de amonio cérico (20g/ L).
10. Lee en un espectrofotómetro en modo transmitancia a 420 nm en celdas de 10 mm de cuarzo.
11. Realiza una curva con yodato de potasio (KIO₃) de acuerdo a la tabla siguiente:

Concentración (mg) KIO₃

0.00
0.02
0.04
0.06
0.08

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 29 DE: 35 |

Preparación de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza los siguientes puntos para la preparación de reactivos:

1. Ácido sulfúrico 2.5 mol/L en un matraz Erlenmeyer de 3000 mL, a baño frío, agrega 1000 mL de agua, 280 mL de ácido sulfúrico y diluye en 2000 mL de agua.
2. Sulfato de amonio cérico 0.0158 mol/L disuelve 10 g de sulfato de amonio cérico en 1000 mL de ácido sulfúrico al 1.25 mol/L.
3. Persulfato de amonio 1mol/L disuelve 228.2 g de persulfato de amonio en agua a volumen de 1000 mL.
4. Ácido arsenioso 0.0253 mol/L en un matraz Erlenmeyer de 3000 mL caliente en una parrilla la mezcla de 5 g de trióxido de arsénico, 25 g de cloruro de sodio, 200 mL de ácido sulfúrico al 2.5 mol/L deja enfriar, diluye en 1000 mL con agua.
5. Reactivo de emisión (screening reagent) disuelve 16 g sulfato cérico de amonio al 0.025 M en 1000 mL de ácido sulfúrico al 1.25 mol/L.
6. Del sulfato de amonio cérico 0.0316 mol/L disuelve 20 g de sulfato cérico de amonio en 1000 mL de ácido sulfúrico a 1.25 mol/L.

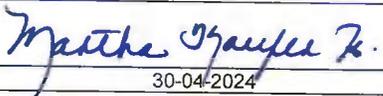
Preparación de estándares de yodo:

1. Del stock (A): en un matraz volumétrico de 100 mL con agua disuelve 168.6 mg de yodato de potasio, obteniendo una concentración de 78.74 mmol/L (1000 µg l/mL).
2. Del stock (B): diluye 1.0mL del stock A en 100 mL de agua, obteniendo una concentración de 78.74 µmol (10 µg l/mL).

Patrones de trabajo:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal diluye:

- a. 1 mL (0.02 µg l/0.2 mL).
- b. 2 mL (0.04 µg l/0.2 mL).

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 30 DE: 35 |

- c. 3 mL (0.06 µg l/0.2 mL)
- d. 4 mL (0.08 µg l/0.2 mL)
- e. 5 mL (0.10 µg l/0.2 mL) del stock B en 100 mL de agua.
- f. Usa el agua como standard cero.
- g. Persulfato de amonio 1 mol/L.
- h. Ácido arsenioso al 0.0253 mol/L.
- i. Ácido sulfúrico al 10 M.
- j. Ácido sulfúrico al 0.625 mol/l.
- k. Ácido sulfúrico al 2.5 N.
- l. Sulfato de amonio cérico (20 g/L).
- m. Curva de yodato de potasio (de 0.00-0.08 mg/mL).

Registro y cálculo de resultados:

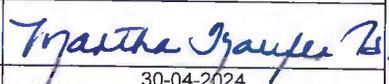
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza una curva de calibración con yodato de potasio (KIO₃) en modo transmitancia a 420 nm.

Grafica la transmitancia versus concentración en Excel hasta obtener una curva lineal en donde interpola la concentración de las muestras.

Control de la técnica, equipo y analista:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal lleva el control de la técnica de acuerdo con lo siguiente:

1. Prepara las soluciones de trabajo.
2. Prepara una curva de concentración conocida (0.00-0.08 mg/mL) de yodato de potasio con la cual calcula las muestras, lee en espectrofotómetro a 420 nm en celdas de cuarzo.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 31 DE: 35 |

3. Pesa el estándar y afora para obtener la concentración de cada dilución.
4. Trabaja en la campana.
5. Controla perfectamente la temperatura del bloque de calentamiento.

Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos críticos:

1. La preparación de reactivos y curva de calibración.
2. La temperatura de digestión.

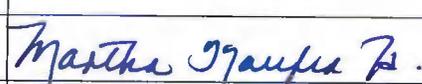
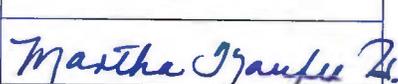
Riesgos en el manejo de reactivos:

1. Persulfato de amonio:

- a. H272. Puede agravar un incendio; comburente.
- b. H334. Puede provocar síntomas de alergia o asma o dificultades respiratorias en caso de inhalación.
- c. H335. Puede irritar las vías respiratorias.
- d. H315. Provoca irritación cutánea.
- e. H317. Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- f. H319. Provoca irritación ocular grave.
- g. H302. Nocivo en caso de ingestión Consejos de prudencia.

2. Trióxido de arsénico:

- a. H300 Toxicidad aguda, oral (Categoría 2).
- b. H314 Corrosiones cutáneas (Categoría 1 B).

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 32 DE: 35 |

- c. H318 Lesiones oculares graves (Categoría 1).
- d. H350 Carcinogenicidad (Categoría 1 A).
- e. Peligro a largo plazo (crónico) para el medio ambiente acuático (Categoría 1).

3. Ácido sulfúrico:

- a. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- b. H290 Puede ser corrosivo para los metales.

4. Yodato de potasio:

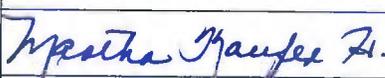
- a. H318 Provoca lesiones oculares graves.
- b. H272 Puede agravar un incendio; comburente.
- c. P210 Mantener alejado de llama abierta o superficies calientes. No fumar.
- d. P220 Mantener o almacenar alejado de la ropa y otros materiales combustibles.

5. Ácido arsenioso:

- a. H300 Toxicidad aguda, Oral (Categoría 2).
- b. H314 Corrosiones cutáneas (Categoría 1B).
- c. H318 Lesiones oculares graves (Categoría 1).
- d. H350 Carcinogenicidad (Categoría 1A).

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

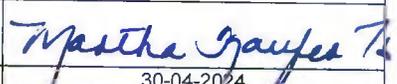
No Aplica.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 33 DE: 35 |

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Absorbancia:** También conocida como *densidad óptica*, es la cantidad de luz absorbida por una sustancia a determinada longitud de onda.
- 9.2 Carcinogenicidad:** Capacidad de un agente de producir neoplasias.
- 9.3 Cérico:** Ácido resultante de la oxidación de la cerina.
- 9.4 Despolimerización:** Degradación de un polímero con formación de compuestos de masas moleculares menores.
- 9.5 Diamónica:** Es una sal que contiene dos moléculas de amonio (NH_3^+).
- 9.6 Espectrofotometria:** Método instrumental basado en medir la cantidad de luz que absorbe una sustancia cuando un haz luminoso pasa a través de ésta.
- 9.7 Compuestos fenólicos:** Todos aquellos compuestos orgánicos cuyas estructuras moleculares contienen al menos un grupo fenol (hidroxibenceno) es decir, un anillo aromático de 6 carbonos unido a un grupo hidroxilo.
- 9.8 Fosfomolibdotungstato:** Es un heteropoliácido del fósforo y el tungsteno (o wolframio) con la fórmula química $\text{W}_{12}\text{O}_{40}\text{H}_3\text{P}$.
- 9.9 Gravimétrica:** Es una técnica de laboratorio que determina el contenido de diferentes compuestos en una muestra midiendo diferencias de peso.
- 9.10 Liofilización:** Proceso mediante el cual se deshidrata una muestra al congelarla y eliminar el contenido acuoso por calentamiento al vacío (elevando la presión).
- 9.11 Longitud de onda:** Es la distancia entre dos puntos máximos consecutivos en una onda de luz.
- 9.12 Patógenos:** Microorganismos potencialmente infecciosos capaces de provocar enfermedades a su huésped.
- 9.13 Polifenólicos:** Todos aquellos compuestos orgánicos cuyas estructuras moleculares contienen más de un grupo fenol (hidroxibenceno) es decir, un anillo aromático de 6 carbonos unido a un grupo hidroxilo.
- 9.14 Resuspender:** Colocar de nuevo en suspensión un sedimento, generalmente producto de una centrifugación o de un proceso de secado por evaporación.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 34 DE: 35 |

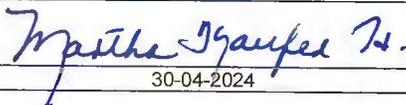
- 9.15 Rpm:** Revoluciones por minuto.
- 9.16 Septa de baquelita:** Resina sintética de gran dureza, químicamente estable y resistente al calor. Generalmente forma parte de los accesorios renovables de un equipo.
- 9.17 Sobrenadante:** Es el líquido sin precipitados que queda por encima de un sólido, generalmente producto de una centrifugación o precipitación por decantación.
- 9.18 Decantación:** Procedimiento para separar dos sustancias de diferente densidad mezcladas entre sí dejándolas reposar por un tiempo determinado.
- 9.19 Sonicar:** Es la aplicación de alta frecuencia que provoca ciclos continuos de presión alta y baja (frecuencias ultrasónicas) lo que provoca la vibración de las partículas de una solución facilitando la mezcla y/o limpieza de la misma.
- 9.20 Sonicador:** Equipo que genera ondas ultrasónicas en una solución.
- 9.21 Transmitancia:** Es la cantidad de luz que una sustancia permite pasar a través de ella a una longitud de onda determinada.
- 9.22 Vórtex:** Equipo de agitación a alta velocidad, permite la mezcla homogénea de una solución, generalmente contenida en tubos pequeños o viales.
- 9.23 Wolframatos:** También llamadas *tungstatos*, son las sales del ácido wolfrámico o tungstico.

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Díaz N, Bárcena J, Fernández E, Galván A, Jorrián J, Peinado J, Meléndez-Valdés F, Túnez I. 2005. Espectrofotometría: Espectros de absorción y cuantificación colorimétrica e biomoléculas. Sitio web: [https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMET \(18\) \(PDF\) Ley de Beer-Lambert - Práctica de Laboratorio](https://www.uco.es/dptos/bioquimica-biol-mol/pdfs/08_ESPECTROFOTOMET (18) (PDF) Ley de Beer-Lambert - Práctica de Laboratorio). Available from: https://www.researchgate.net/publication/354352388_Ley_de_Beer-Lambert_-_Practica_de_Laboratorio#fullTextFileContent [accessed Jun 27 2023].

Vernon L. Singleton, Rudolf Orthofer and Rosa M. Lamuela-Raventós. 1974. Analysis of Total Phenols and Other Oxidation Substrates and Antioxidants by Means of Folin-Ciocalteu Reagent. Polyphenoles and Flavonoids. Am. J. Enol Vític 25, 119 (1974).

Kuskoski, E.; Asuero, Agustín; Troncoso, Ana; Mancini-Filho, Jorge; Fett, Roseane (2005). Aplicación de diversos métodos químicos para determinar actividad antioxidante en pulpa de frutos. Ciênc. Tecnol. Aliment, 25(4), 726-732. <https://doi.org/10.1590/S0101-20612005000400016>

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 3. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas Espectrofotométricas | | HOJA: 35 DE: 35 |

Pino S, Fang S-L, Braverman.E. 1988. Ammonium persulfate: A new and safe method for measuring urinary iodine by ammonium persulfate oxidation. Exp Clin Endocrinol Diabetes 106 Suppl 3 (Schildrusse 1997).

Siddhuraju, P., Mohan, P. and Becker, K. (2002) Studies on the Antioxidant Activity of Indian Laburnum (Cassia fistula L.): A Preliminary Assesment of Crude Extracts from Stem Bark, Leaves, Flowers and Fruit Pulp. Food Chemistry, 79, 61-67.

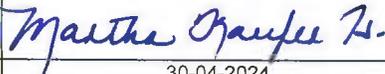
[http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146\(02\)00179-6](http://dx.doi.org/10.1016/S0308-8146(02)00179-6)

Turkmen, N., Sari, F. and Velioglu, S. (2006) Effect of Extraction Solvents on Concentration and Antioxidant Activity of Black and Black Mate Polyphenols Determined by Ferrous Tartrate and Folin-Ciocalteu Methods. Food Chemistry, 99, 838-841.

<http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.08.034>

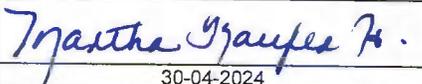
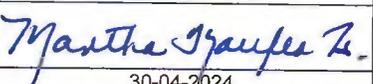
11.0 CAMBIOS EN ESTA VERSIÓN

| Número de revisión | Fecha de la actualización | Descripción del cambio |
|--------------------|---------------------------|------------------------|
| No Aplica | No Aplica | No Aplica |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|---|
|   | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 1 DE: 35 |

**4. PROCEDIMIENTO TÉCNICO DESARROLLAR TÉCNICAS ANALÍTICAS EN
CROMATOGRFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC)**

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 2 DE: 35 |

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

La cromatografía líquida de alta resolución, HPLC (High Performance Liquid Chromatography), es una técnica para separar los componentes de una mezcla, ya sea para la cuantificación, el aislamiento o la purificación de uno o varios de ellos.

2.0 OBJETIVO

Describir los pasos y las condiciones que permiten identificar, cuantificar y separar los compuestos presentes en una solución por medio de la Cromatografía Líquida de Alta Resolución.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPA

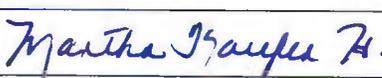
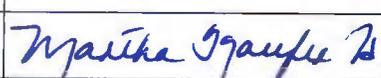
Las servidoras y los servidores públicos de salud que participan en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite desarrollar técnicas analíticas cromatográficas.

1. Química y/o Químico de Nutrición Animal.
2. Investigadora o Investigador de Nutrición Animal.
3. Investigadora y/o Investigador Asociado.
4. Técnica y/o Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

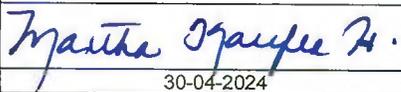
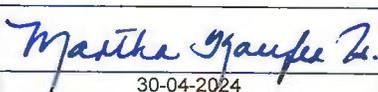
MATERIAL:

1. Acrodiscos de filtración de 0.22 µm tipo HVLP.
2. Barras magnéticas para agitación.
3. Columna Symmetry C18 (250 x 4.6 mm) de Waters (USA).
4. Columna Symmetry C8 marca Waters (USA).
5. Dosificador ajustable de varias capacidades: de 1 a 10 mL.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 3 DE: 35 |

6. Embudos de vidrio
7. Espátula de acero inoxidable.
8. Gradillas para tubos de 50 mL.
9. Jeringas desechables de 3 y/o 5 mL.
10. Matraz bola de 250 mL, con boca esmerilada
11. Matraz Erlen Meyer de 250 mL.
12. Matraz volumétrico de 1 L, clase A.
13. Matraz volumétrico de 100 mL, clase A.
14. Matraz de vidrio rojo aforado de 10 mL.
15. Membrana de filtración tipo HVLP de 35 mm.
16. Micropipeta automática de 20-100 µL.
17. Micropipeta automática de 200-1000 µL.
18. Micropipeta automática de 1-5 mL.
19. Papel filtro No. 41.
20. Pipeta Pasteur de vidrio, de vástago corto.
21. Pipeta serológica.
22. Probeta de vidrio de 500 mL.
23. Propipeta.
24. Puntas para micropipeta automática de 200-1000 µL.
25. Puntas para micropipeta automática de 20-100 µL.
26. Puntas para micropipeta automática de 1-5 mL.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

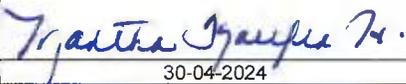
| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 4 DE: 35 |

- 27. Papel aluminio.
- 28. Tubos de vidrio de 10 mL, con boca roscada y tapa de baquelita.
- 29. Tubos de vidrio de 50 mL, con boca roscada y tapa de baquelita.
- 30. Vaso de precipitados de vidrio, clase A de 100, 250 y 500 mL.
- 31. Viales de vidrio de 1 mL.



EQUIPO NECESARIO:

- 1. Agitador orbital.
- 2. Balanza analítica
- 3. Baño ultrasónico
- 4. Baño María.
- 5. Agitador Vortex
- 32. Campana de extracción para solventes orgánicos.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 5 DE: 35 |

6. Centrífuga con rango de 3000 a 5000 rpm.
7. Campana de extracción de ácidos.
8. Rotavapor.
9. Cromatógrafo de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).
10. Detector UV/VIS.
11. Detector de fluorescencia.
12. Horno para columnas.
13. Llaves españolas de 3/4.
14. Equipo de filtración de borosilicato.
15. Parrilla de agitación magnética.
16. Refrigerador.

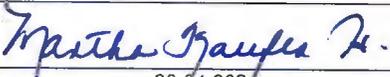
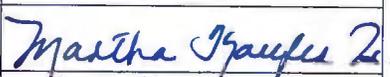


| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 6 DE: 35 |

REACTIVOS:

1. Acetonitrilo grado HPLC.
2. Acetato de etilo grado HPLC.
3. Ácido acético glacial 99.90%, grado HPLC.
4. Agua desionizada.
5. Agua destilada.
6. Ácido cafeico grado HPLC
7. Ácido cinámico grado HPLC
8. Ácido gálico
9. Ácido ferúlico
10. Ácido p-cumárico, grado HPLC
11. Ácido fosfórico, grado HPLC
12. Dimetil sulfóxido.
13. Estándar de catequina, 99.8% pureza.
14. Estándar de epicatequina, 99.8% pureza.
15. Estándar de quercetin,a 99.8% pureza.
16. Etanol.
17. Hidróxido de potasio.
18. Hexano HPLC.
19. Metanol grado HPLC
20. Gas nitrógeno grado NF.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 7 DE: 35 |

EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL:

1. Guantes de nitrilo.
2. Respirador con cartuchos para vapores orgánicos.
3. Respirador con cartuchos para vapores de ácidos.
4. Guantes para ácidos.
5. Bata blanca de algodón, abotonada y de manga larga.



5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

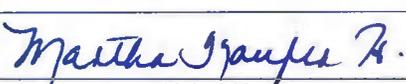
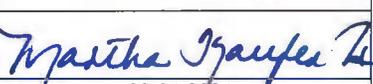
El procedimiento se realiza en un ambiente sin ruido y sin patógenos, en mesas de trabajo de acero inoxidable con tuberías de aire y vacío, con campana de extracción para solventes orgánicos.

El lugar tiene que contar con la ventilación suficiente alrededor del instrumento y con el espacio para acceder a las conexiones de comunicación. Debe contar con 10 a 15 cm a cada lado del instrumento.

La instalación eléctrica debe ser la adecuada para el equipo, el cual puede incluir un cable especial y requiere una toma de corriente conectada a tierra.

La línea de alimentación de energía del laboratorio tiene que estar conectada directamente del transformador principal de un circuito de suministro que no tenga cargas ni sobrecargas erráticas o interferencia electromagnética.

Las líneas de suministro reservadas para el instrumento tienen que contar con la capacidad de reserva adecuada. La carga normal no debe exceder el 50% de la capacidad nominal, permitir la carga de encendido y la adición de otros instrumentos.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 8 DE: 35 |

La computadora, impresora y los accesorios necesitan tomas de corriente adicional.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002. Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo.
D.O.F. 17-II-2003

Norma Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008. Equipo de protección personal, selección uso y manejo en los Centros de Trabajo.
D.O.F 09-XII-2008

Norma Oficial Mexicana NOM-030-STPS-2009. Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo- funciones y actividades
D.O.F. 22-XII-2009

Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEGOB-2011. Señales y avisos para protección civil, colores, formas y símbolos a utilizar.
D.O.F. 23-XII-2011 y sus reformas

Norma Oficial Mexicana NOM-019-STPS-2011. Constitución, integración, organización y funcionamiento de las comisiones de seguridad e higiene
D.O.F. 13-IV-2011

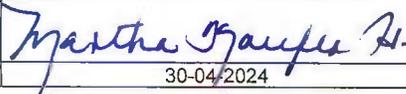
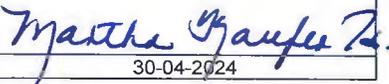
7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

FUNDAMENTO:

Una mezcla se transporta en una fase móvil a través de una fase estacionaria mediante la cual se identifican, separan y cuantifican sus diferentes componentes. Cuando está fluyendo la fase móvil se envía al equipo una señal que sólo da lugar a una línea en la pantalla (línea base), A medida que cada analito pasa a través de la celda del detector, se envía una señal diferente al equipo la cual genera una línea que se curva primero hacia arriba y después hacia abajo, en proporción a la concentración del analito. Esto crea un pico y todos los picos generados por las diferentes señales de los diferentes analitos, dan por resultado un cromatograma. Cada vez que termina de eluirse un analito la señal desaparece y el registro vuelve a la línea base.

Nota: El sistema para HPLC consiste en varios dispositivos:

1. Uno o varios recipientes que contienen los eluyentes (fase móvil).

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

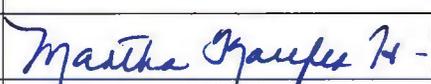
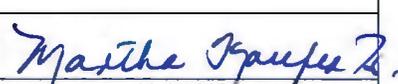
| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 9 DE: 35 |

2. Una bomba de alta presión para el suministro de eluyentes que genera y mide un flujo específico de éstos.
3. Un inyector (puede ser manual o automatizado) para introducir la muestra en la corriente de la fase móvil, la cual fluye continuamente y lleva la muestra a la columna del equipo.
4. La columna contiene el material necesario (fase estacionaria) para realizar la separación.
5. El detector cuenta con una celda que permite “ver” los diferentes compuestos (analitos) a medida que éstos se eluyen a través de la columna.

PROCEDIMIENTO PARA EL MANEJO DEL CROMATÓGRAFO HPLC (WATERS CON SOFTWARE EMPOWER 3):

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza los siguientes pasos para el manejo del cromatógrafo:

1. Verifica que todos los módulos del sistema cromatográfico estén conectados a la corriente regulada.
2. Instala la columna a utilizar para la separación cromatográfica.
3. Coloca en el horno la columna para cada determinación, teniendo especial cuidado en el atornillado ya que puede barrer la cuerda de los ferrules y provocar fugas en las tuberías (es importante utilizar las llaves correspondientes para este paso).
4. Cierra correctamente la puerta del horno de la columna.
5. Verifica que la tubería que viene del automuestreador se encuentre en la entrada y en la salida de la columna, a la entrada del detector correspondiente.
6. Coloca la columna en la dirección correcta. La columna cuenta con una flecha que marca el sentido de la misma.
7. Prepara la o las soluciones de la fase móvil.
8. Filtra la fase móvil con un equipo de borosilicato y membrana de 0.45 micras.
9. Desgasifica durante 10 minutos 1 L de fase móvil.
10. Coloca la fase móvil sobre el automuestreador y coloca dentro de estos recipientes las tuberías de las líneas que llevan la fase móvil por todo el sistema cromatográfico.
11. Enciende el equipo HPLC.

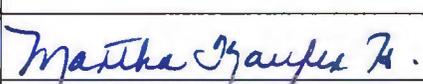
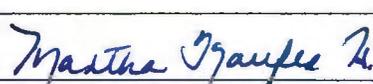
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 10 DE: 35 |

12. Enciende el automuestreador y espera a que éste haga el reconocimiento de sensores electrónicos.
13. Enciende el detector (UV/Vis o Fluorescencia).
14. En caso de requerirse, ajusta a cero el detector con el botón de auto cero.
15. Purga el equipo en seco.
16. En Menú principal. Direct functions, dry prime. Adapta la jeringa en la válvula de purga, gira la perilla media vuelta a la izquierda y jala el émbolo hasta sacar fase móvil, teniendo cuidado de que el émbolo de la jeringa no regrese.
17. Una vez llena la jeringa, cierra hacia la derecha la perilla y repite el procedimiento de purga en seco al menos 3 veces.
18. Realiza una purga húmeda cuando se cambia de fase móvil o cuando el equipo ha estado sin trabajar por un periodo de 2 o más días.
19. En Menú principal: purgar líneas de A-D, Direct functions, Wet prime, ok.
20. Realiza una purga del inyector para eliminar restos del eluyente anterior, eliminar aire de la trayectoria de la aguja o cuando se cambia a un eluyente nuevo.
21. En Menú principal: Direct functions, purge inyector, ok.
22. Realiza purga de lavado de sellos para eliminar restos de eluyente del análisis anterior, eliminar aire de la trayectoria de la aguja del inyector y cuando se cambia a un eluyente nuevo.
23. En Menú principal: Diagnostics, Prime seal wash, start.
24. Purga la bomba de lavado de la aguja del inyector:
25. En Menú principal: Diagnostics, Prime needle wash, start.
26. Pasa el solvente al detector con ayuda de la bomba.

En la Estación de trabajo:

1. Enciende el CPU y el monitor.
2. Entra a Empower con doble click.
3. Accesa con usuario:

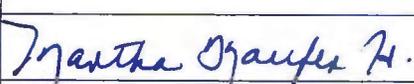
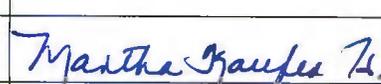
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 11 DE: 35 |

- a. System.
- b. Pasword: manager.
- c. Aparece una ventana con diferentes iconos.
4. Configure the System, Run Samples, Browse Projects.
5. Ingresas al proyecto correspondiente o en su caso crea un nuevo proyecto (ver creación de proyectos).
6. Configura el nuevo Sistema en *Configuration Manager* o indica el o los modulo que utilizará.
7. Desarrolla el *Intrument Method* (ver desarrollo de método de instrumento).
8. Incluye el nuevo *Instrument Method* en el Method Set (ver method set).
9. Optimiza el *Processing Method* (ver método de proceso según detector que se tenga configurado).
10. Ejecuta la secuencia de inyecciones. (Ver ejecución del sample set).
11. Optimiza el *Report Method*.

Las condiciones de separación que provea el mejor resultado en el análisis de las muestras están en función del tipo de muestra analizada, por lo que cada método se estandariza y se valida.

12. Elige el indicado para el trabajo a realizar. (Run samples).
13. Escoge el proyecto existente para inyectar.
14. Activa con doble clic el *proyecto* con el cual desea trabajar (ácidos hidroxicinámicos, vitaminas, etc.). Los *proyectos* tienen programadas las condiciones necesarias para trabajar.
15. Elige del lado derecho de la ventana, el detector a utilizar y el automuestreador y da ok.
16. Aparece una tabla (*sample set*) la cual llena, indicando la posición del vial, el volumen de inyección, el nombre la muestra o estándar, función, method set y el tiempo de corrida.
17. Inyecta el estándar por triplicado en cada serie de muestras al inicio de cada corrida.
18. Selecciona el primer renglón de la tabla y da nombre a la corrida.
19. Da nombre a la tabla *sample set*.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 12 DE: 35 |

20. Corre el *sample set*.
21. Verifica la temperatura de la columna, volumen de solventes de la FM y reservorio correspondiente para los residuos.
22. Verifica cuánto tiempo dura el ensayo y el volumen necesario de la FM.
23. Verifica los contenedores a fin de que no queden sin FM, la cual tiene que estar por encima de los filtros que se encuentran en cada reservorio. Si esto sucede, entra aire y se forman burbujas en las líneas afectando la corrida cromatográfica y todo el sistema ya que son difíciles de eliminar.
24. Verifica que el contenedor que recibe los residuos del sistema tiene el tamaño adecuado para recibirlos en su totalidad; de otro modo se corre el riesgo de que se derramen.

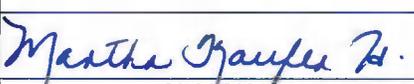
Revisión y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes datos:

1. Browse proyect.
2. Resultados.
3. En chanel.
4. Enter.

Elige el proyecto: *Default* para tomarlo como ejemplo (esta opción jala todas las plantillas).

1. Chanel, doble click en la muestra seleccionada y aparece el cromatograma.
2. Calcula en *process method* (icono de la calculadora) qué algoritmo utilizar:
 - a. Si son picos pequeños y grandes en la muestra utiliza Apex Track.
 - b. Integra en cada cambio que se haga.
 - c. Fija los tiempos donde salen los picos de interés.
 - d. Hace zoom en la línea base.
3. Selecciona el icono de integrar y luego el de calibrar.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 13 DE: 35 |

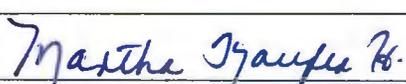
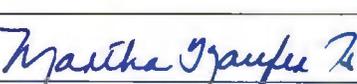
4. Revisa que el porcentaje de "espacio no detectado" (% *lit off*) sea el adecuado. De no ser así, se baja o se sube; es decir, se define cuando comienza la integración de los picos.
5. Determina los valores del tiempo final (End time, Touchdown) para delimitar el final del pico (lado derecho de la campana para ajustar los valores).
6. Señala el pico más pequeño entre los que sean de interés, y determina su área y altura.
7. Integra para descartar los que sean de menor tamaño a éste, que no son de nuestro interés (es decir, picos más pequeños que el pico del estándar más pequeño, aunque se detecten, no se nombran ni se cuantifican).
8. Nombra los picos de interés.
9. Calcula componentes, Options, Flim from result: No.
10. Cambia nombre a los picos de interés, integra y calibra.
11. Verifica que aparezcan los nombres de los picos deseados.

Procesamiento de los datos:

1. Suitability: Si.
2. Volumen muerto de la columna = 1.
3. Click derecho, propiedades de la tabla.
4. Deseleccionamos los parámetros que no sean de utilidad y definir el número de decimales.
5. Una vez que está el método de proceso: File, [salvar como]: Ej. Capacitación 1.

Cuantificación:

1. Curva, chanel.
2. Selecciona el punto más pequeño al más alto de la curva.
3. Da click en el botón derecho y selecciona alter sample (lápiz).
4. *Amount* Da los valores del estándar.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 14 DE: 35 |

5. Edit Components from process Method.
 - a. Desde [nuestros resultados].
 - b. Da valores (Ej. 0.1, 0.2, 0.3) de cada estándar y cada analito.
6. Coloca el símbolo < y las unidades, [Salvar], [Enter].
7. All samples.
8. Unidades: %, mg, mL, etc.
 - a. Ejemplo %
9. Cierra, (Update).
10. Selecciona curva de calibración.
11. Selecciona icono de process.
12. Método de proceso: capacitación 1.
13. Clear calibración, Ok, Curvas update.

Resultados:

1. Selecciona datos, update, result, select.
2. Preview, elige una existente, ok.
3. LC calibration (curva), ok.
4. Obtiene una curva para cada pico.

Muestras:

1. Canales, alter sample, sample weight y datos del peso y factor de dilución.
2. Salva, cierra y actualiza (update).
3. Selec, inyecta muestra, click botón derecho, process o calculadora, ok.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 15 DE: 35 |

4. Results, ok, update.
5. Selecciona muestras, botón derecho, preview, default, ok.
6. Peak summary report.

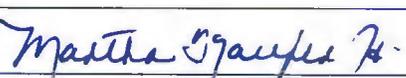
CUANTIFICACIÓN DE COMPUESTOS POLIFENÓLICOS FLAVONOIDES (CATEQUINA, EPICATEQUINA Y QUERCETINA) POR HPLC.

Obtención del extracto:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la obtención del extracto de la siguiente manera:

1. Pesa 20 g de muestra seca y molida.
2. Coloca en un papel Whatman No. 41 y sobre un embudo de vidrio.
3. Adiciona 100 mL de la mezcla metanol: agua (80:20).
4. Agita en vórtex durante un minuto.
5. Coloca en un agitador orbital durante 2 horas en ausencia de la luz.
6. Sonica durante 30 minutos en un baño ultrasónico.
7. Deja en reposo durante 24 horas protegido de la luz.
8. Filtra a través de papel Whatman No. 41 y embudo de vidrio a un matraz bola con boca esmerilada para rotavapor, cuyo peso registra previamente.
9. Coloca el matraz en el rotavapor bajo las condiciones de la sig. tabla y evapora los solventes (metanol:agua) hasta sequedad.

| rpm (psi) | Tiempo (min) |
|-----------|----------------|
| 220 | 15 |
| 180 | 15 |
| 150 | 10 |
| 100 | 5 |
| 80 | hasta sequedad |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 16 DE: 35 |

10. Revisa que la temperatura del agua sea 35°C y la del refrigerante sea 1°C.
11. Evapora durante 90 minutos a baño maría y bajo atmósfera de nitrógeno los remanentes de metanol en el extracto protegiendo el matraz de la luz.
12. Permite que el matraz alcance la temperatura ambiente y registra el peso del matraz con el extracto.
13. Calcula el peso del extracto por diferencia gravimétrica.
14. Refrigerera el extracto protegiéndolo de la luz hasta su análisis.

Preparación del extracto para la inyección en el HPLC:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza los siguiente para la preparación del extracto:

1. Pesa 10 mg del extracto.
2. Coloca cada muestra en un matraz aforado de 10 mL color ámbar.
3. Afora con metanol grado HPLC.
4. Filtra a través de un acrodisco 0.22 µm tipo HVLP.
5. Coloca en un vial de vidrio de 1mL.
6. Inyecta 5 µL de cada muestra por duplicado en el HPLC.

Condiciones cromatográficas:

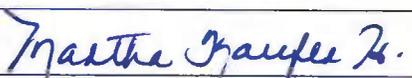
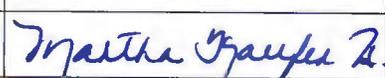
Fase móvil: H2O/acetonitrilo/metanol/acetato de etilo/ácido acético glacial (89:6:1:3:1 v/v/v/v/v).

Flujo: 1 mL/min

Temperatura: 25°C

Detector: UV/Vis 280 nm

Volumen de inyección: 1,3,5 y10 µL

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 17 DE: 35 |

Tiempo de corrida: 30 minutos

Columna: Symmetry C18 (250 x 4.6mm) marca Waters.

Preparación de Reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la preparación de los reactivos necesarios siguiendo los siguientes pasos:

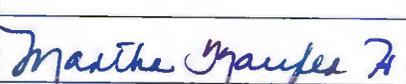
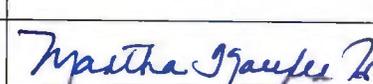
1. Mezcla metanol:agua desionizada 80:20, 100 mL.
2. Mide 80 mL de metanol, los adiciona a un matraz volumétrico de 100 mL y afora con agua destilada.

Fase móvil: H2O desionizada/acetoneitrilo/metanol/acetato de etilo/ácido acético glacial (89:6:1:3:1 v/v/v/v/v).
3. Mide 6 mL de acetoneitrilo, 1 de metanol, 3 de acetato de etilo y 1 de ácido acético glacial y afora a 100 mL con agua desionizada.

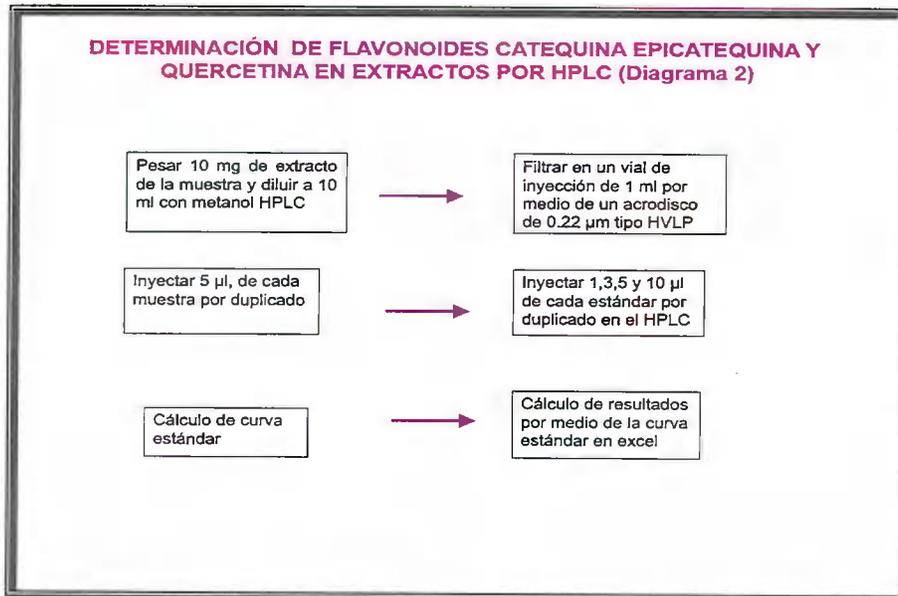
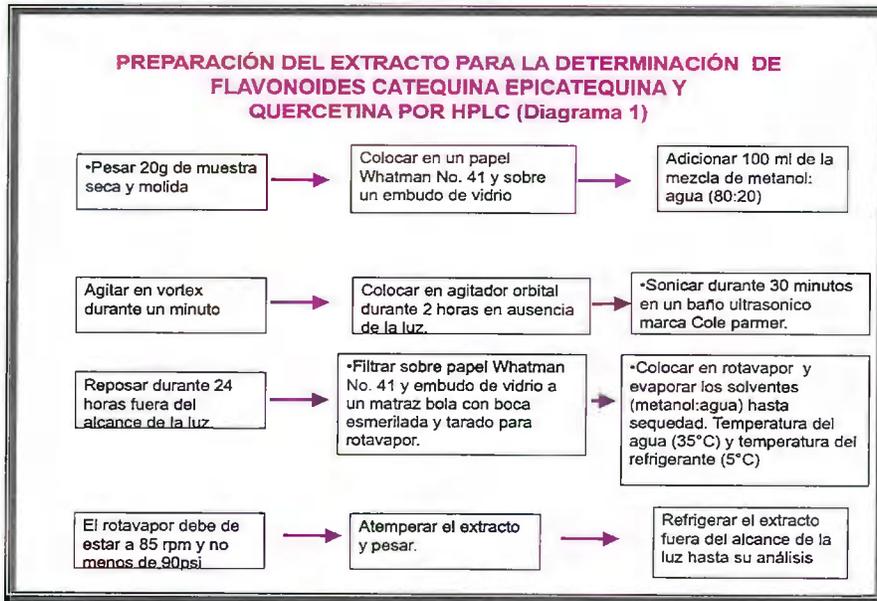
Preparación de estándares:

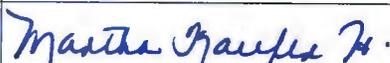
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara los estándares de acuerdo con los siguientes pasos:

1. Pesa 10 mg de cada uno de los estándares (catequina, epicatequina y quercetina).
2. Coloca cada estándar en un matraz aforado de 10 mL color ámbar.
3. Afora con metanol grado HPLC.
4. Trabaja una mezcla de estándares y la inyecta por triplicado al inicio de cada corrida cromatográfica.
5. Verifica la caducidad de los reactivos.
6. Prepara correctamente la fase móvil.
7. Degasifica la fase móvil.
8. Revisa que el sistema no quede sin fase móvil.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 18 DE: 35 |



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 19 DE: 35 |

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal utiliza el programa Empower para realizar los cálculos como se describe al inicio del procedimiento.

Control de la técnica, equipo y analista:

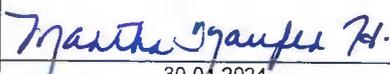
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal controla la realización de la técnica de la siguiente manera:

1. Realiza la calibración del detector.
2. Realiza el purgado de líneas de solventes.
3. Realiza el purgado de la aguja de inyección.
4. Verifica que la presión interna de la columna no sea mayor a 3500 psi.

Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos críticos:

1. La desgasificación adecuada de la FM.
2. La preparación de los reactivos.
3. La preparación de los estándares.
4. La temperatura de la columna.
5. La temperatura en la evaporación de solventes (no mayor a 35°C).
6. La presión en la evaporación de solventes (no debe ser menor a 80 psi).
7. El tiempo de corrida.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 20 DE: 35 |

Riesgos en el manejo de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los riesgos en el manejo de los reactivos siguientes:

1. Metanol:

Inhalación: Disturbios visuales, dolor abdominal, diarrea, vómito, inconsciencia.

En casos graves: coma, paro respiratorio, ceguera, convulsiones, acidosis metabólica severa y muerte.

Ingestión: Puede producir ceguera y sordera.

Contacto directo: Se absorbe por la piel presentando efectos iguales a la inhalación, produciendo resequedad, enrojecimiento y dolor.

Los efectos crónicos de sobreexposición pueden incluir daños a los riñones y el hígado.

La exposición repetida o prolongada en contacto con la piel conduce a dermatitis.

2. Acetonitrilo:

Indicaciones de peligro:

- a. H225. Líquido y vapores muy inflamables.
- b. H302 + H312 + H332. Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.
- c. H319. Provoca irritación ocular grave.

3. Catequina:

Notas generales:

- a. Quitar las prendas contaminadas.
- b. En caso de inhalación proporcionar aire fresco.
- c. Si aparece malestar o en caso de duda consultar a un médico.
- d. En caso de contacto con la piel enjuagar con agua/ducharse.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 21 DE: 35 |

- e. Si aparece malestar o en caso de duda consultar a un médico.
- f. En caso de contacto con los ojos enjuagar cuidadosamente con agua durante varios minutos.
- g. Si aparece malestar o en caso de duda consultar a un médico.
- h. En caso de ingestión enjuagarse la boca.
- i. Llamar a un médico si la persona se encuentra mal.

4. Epicatequina:

Notas generales:

- a. Quitar las prendas contaminadas.
- b. En caso de inhalación proporcionar aire fresco.
- c. En caso de contacto con la piel enjuagar con agua/ ducharse.
- d. En caso de contacto con los ojos enjuagarse cuidadosamente con agua durante varios minutos.
- e. En caso de ingestión, enjuagarse la boca. Llamar a un médico si la persona se encuentra mal.

5. Quercetina:

- a. Peligros para la salud.
- b. Toxicidad aguda oral.

6. Acetato de etilo:

Indicaciones de peligro:

- a. H225. Líquido y vapores muy inflamables.
- b. H319. Provoca irritación ocular grave.
- c. H336. Puede provocar somnolencia o vértigo.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 22 DE: 35 |

d. EUH066. La exposición repetida puede provocar sequedad o formación de grietas en la piel.

7. Ácido acético glacial:

Indicaciones de peligro:

- a. H226. Líquidos y vapores inflamables.
- b. H314. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Manejo de residuos químicos:

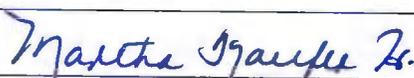
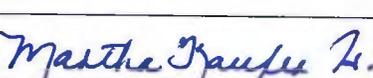
Para conocer las normas que tienen que seguir en el manejo de residuos químicos véase el Documento Normativo del Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez Gil-Romo.

DETERMINACIÓN DE ÁCIDOS HIDROXICINÁMICOS (ÁCIDO CLOROGÉNICO, CAFEICO Y GÁLICO) POR HPLC

Preparación del extracto:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la preparación del extracto de la siguiente manera:

1. Pesa 20 g de muestra seca y molida.
2. Coloca en un papel Whatman No. 41 y sobre un embudo de vidrio.
3. Adiciona 100 mL de la mezcla metanol: agua (80:20).
4. Agita en vórtex durante un minuto.
5. Coloca en un agitador orbital durante 2 horas en ausencia de la luz.
6. Sonica durante 30 minutos en un baño ultrasónico
7. Deja reposar durante 24 horas protegido de la luz.
8. Filtra sobre papel Whatman No. 41 y embudo de vidrio a un matraz bola con boca esmerilada para rotavapor cuyo peso registra previamente.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 23 DE: 35 |

9. Coloca el matraz en el rotavapor bajo las condiciones de la sig. tabla y evapora los solventes (metanol:agua) hasta sequedad.

| rpm (psi) | Tiempo (min) |
|-----------|----------------|
| 220 | 15 |
| 180 | 15 |
| 150 | 10 |
| 100 | 5 |
| 80 | hasta sequedad |

10. Revisa que la temperatura del agua permanezca en 35°C y la del refrigerante en 1°C.

11. Evapora durante 90 minutos a baño maría y bajo atmósfera de nitrógeno los remanentes de metanol en el extracto protegiendo el matraz de la luz.

12. Permite que el matraz alcance la temperatura ambiente y registra el peso del matraz con el extracto.

13. Calcula el peso del extracto por diferencia gravimétrica.

14. Refrigerera el extracto protegiéndolo de la luz hasta su análisis.

Preparación de Reactivos:

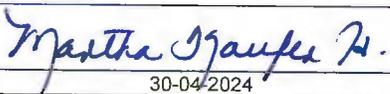
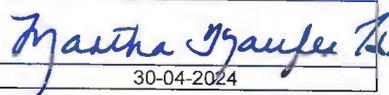
Para la preparación de los estándares de ácidos hidroxicinámicos (ácido cafeico, ácido cinámico, ácido gálico, ácido ferúlico y ácido p-cumárico) la Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal sigue los pasos descritos a continuación:

1. Pesa 10 mg de cada uno de los estándares por separado en matraces volumétricos de 10 mL de color ámbar, y afora con metanol (1mg/mL).
2. Coloca en un vial 1 mL de cada uno de los estándares.

Desarrollo del procedimiento:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza los siguientes pasos:

1. Coloca en un tubo de vidrio con boca roscada 0.5 mL de extracto y lo lleva a un volumen de 10 mL con metanol.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 24 DE: 35 |

- De la dilución anterior toma 1 mL de extracto alcohólico y lo filtra con jeringa y filtro (25 µm, 0.45 µm).
- Recupera el filtrado en un vial de inyección para su análisis en el HPLC.

Condiciones cromatográficas del HPLC:

Columna Symmetry C18 (250 x 4.6 mm) de Waters (USA).

Fase móvil: metanol-ácido fosfórico 0.001M (23:77 v/v).

Temperatura constante.

Flujo de 1 mL/min.

Detector UV/Vis a 280 nm.

Volumen de inyección: 3, 5 y 10 µL.

Tiempo de corrida de 20 minutos.

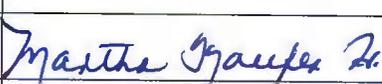
Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal utiliza el programa Empower para realizar los cálculos como se describe al inicio del procedimiento.

Control de la técnica y analista:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal controla la técnica de la siguiente manera:

- Trabaja una mezcla de estándares. y la inyecta por triplicado al inicio de cada corrida cromatográfica.
- Verifica la vigencia de los reactivos.
- Vigila que el sistema nunca debe quedarse sin fase móvil (FM).
- Prepara la fase móvil.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 25 DE: 35 |

5. Desgasifica correctamente la fase móvil.
6. Seguirá la metodología descrita ya que si se omite o altera algún paso la técnica puede no ser efectiva.

Control del equipo:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal cuida los siguientes controles:

1. Calibración del detector.
2. Purgado de líneas de solventes.
3. Purgado de la aguja de inyección.
4. Presión interna de la columna (no mayor a 3500 psi).

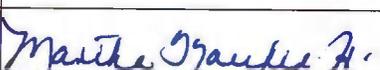
Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos críticos:

1. La desgasificación adecuada de la FM.
2. La preparación de reactivos.
3. La preparación de estándares.
4. La temperatura en el baño maría para la evaporación de solventes orgánicos (no mayor a 35°C).
5. La presión en la evaporación de solventes en el rotavapor (no menor a 80 psi).
6. El tiempo de corrida.

Riesgos en el manejo de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los riesgos en el manejo de los reactivos siguientes:

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 26 DE: 35 |

1. Metanol:

Inhalación: Disturbios visuales, dolor abdominal, diarrea, vómito, inconsciencia.

En casos graves: coma, paro respiratorio, ceguera, convulsiones, acidosis metabólica severa y muerte.

Ingestión: Puede producir ceguera y sordera.

Contacto directo: Se absorbe por la piel presentando efectos iguales a la inhalación, produciendo resequeadad, enrojecimiento y dolor.

Los efectos crónicos de sobreexposición pueden incluir daños a los riñones y el hígado.

La exposición repetida o prolongada en contacto con la piel conduce a dermatitis.

2. Ácido cafeico:

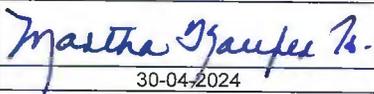
- a. H315 Provoca irritación cutánea.
- b. H319 Provoca irritación ocular grave.
- c. H335 Puede irritar las vías respiratorias.
- d. H351 Se sospecha que provoca cáncer (en caso de exposición).
- e. H361f Se sospecha que perjudica a la fertilidad (en caso de exposición).

3. Ácido cinámico:

- a. H318 Provoca lesiones oculares graves.

4. Ácido gálico:

- a. H315 Provoca irritación cutánea.
- b. H319 Provoca irritación ocular grave.
- c. H335 Puede irritar las vías respiratorias

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 27 DE: 35 |

5. Ácido ferúlico:

- a. H315 Provoca irritación cutánea.
- b. H319 Provoca irritación ocular grave.
- c. H335 Puede irritar las vías respiratorias.

6. Ácido p-cumárico:

- a. H315 Provoca irritación cutánea.
- b. H319 Provoca irritación ocular grave.
- c. H335 Puede irritar las vías respiratorias.

7. Ácido fosfórico:

- a. H290 Puede ser corrosivo para los metales.
- b. H302 Nocivo en caso de ingestión.
- c. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

Manejo de residuos químicos:

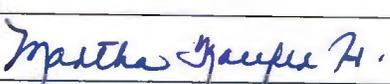
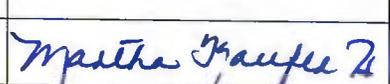
Para conocer las normas que tienen que seguir en el manejo de residuos químicos véase el Documento Normativo del Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez Gil-Romo.

DETERMINACIÓN DE VITAMINAS LIPOSOLUBLES A Y E (RETINOL Y TOCOFEROL) EN MUESTRAS DE ALIMENTOS POR HPLC.

Descripción de la técnica:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza el análisis de la siguiente manera:

1. Pesa por duplicado de 0.5-1 g de muestra en balanza analítica, en tubo de vidrio con tapón de rosca de baquelita de 16 x 150 mm (tubo # 1).

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 28 DE: 35 |

2. Adiciona 4 mL de potasa alcohólica, agita por 1 min en vórtex e incuba durante 10 min a 58° C.
3. Enfría y agrega 400 µL de dimetilsulfóxido y agita en vórtex.
4. Adiciona 5 mL de agua desionizada y agita en vórtex.
5. Agrega 5 mL de n-hexano y agita varias veces por inversión.
6. Espera a que se separen las fases.
7. Separa la fase de hexano en un tubo de vidrio de 13 x 100 (tubo # 2).
8. Lava el tubo # 1 tres veces con hexano y lo transfiere al tubo # 2.
9. Evapora a sequedad en atmósfera de nitrógeno a temperatura ambiente.
10. Reconstituye en 1 mL de fase móvil.
11. Transfiere a un vial de inyección de vidrio color ámbar.
12. Inyecta en HPLC con un detector UV/Vis a 254 nm.

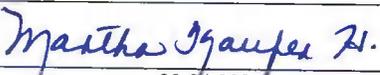
Preparación de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la preparación de los reactivos necesarios siguiendo los siguientes pasos:

1. Potasa alcohólica: Pesa 40 g de KOH, los disuelve con metanol y afora a 100 mL.
2. Fase móvil: metanol/acetoneitrilo/agua (50:48:2).
3. Mezcla y filtra en membrana tipo HVLP. para preparar 100 mL: mide 50 mL de metanol, 48 mL de acetoneitrilo y 2 mL de agua en equipo de borosilicato con vacío y sónica. durante 20 min para eliminar las burbujas de aire.

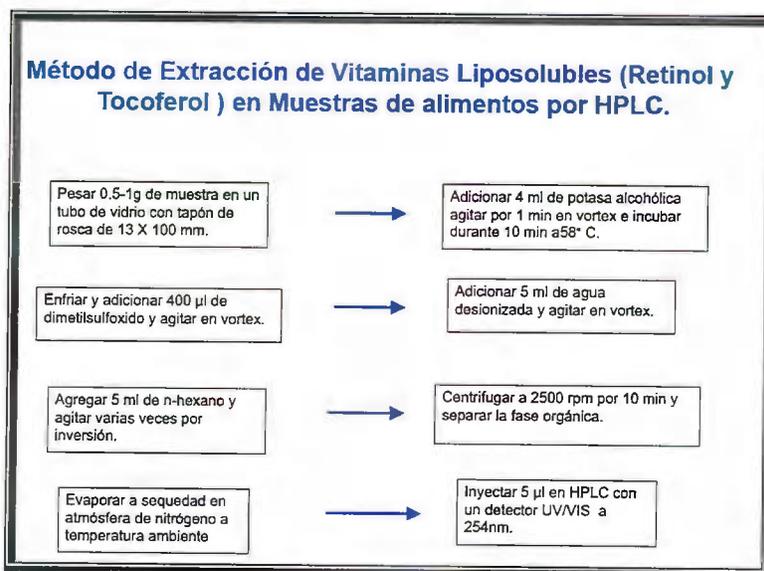
Preparación de estándares:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara los estándares de acuerdo con los siguientes pasos:

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|----------------------------------|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 29 DE: 35 |

1. Prepara una mezcla de concentración (10 mg/mL) de retinol y tocoferol.
2. Inyecta por duplicado diferentes volúmenes (3, 5 y 10 µL) de la mezcla al equipo de HPLC, para realizar una curva con la cual se van a calcular las muestras.
3. Inyecta por duplicado las muestras.



Condiciones cromatográficas:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal verifica las siguientes características del proceso:

1. Columna C-8, 3.9 mm X 150 mm, marca Waters.
2. Fase móvil: metanol/acetronitrilo//agua (50:48:2).
3. Longitud de onda: 254 nm.
4. Volumen de inyección 5 µL.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 30 DE: 35 |

5. Tiempo de corrida: 20 min.

6. Temperatura: ambiente.

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal utiliza el programa Empower para realizar los cálculos, descrito al inicio del procedimiento.

Control de la técnica, equipo y analista:

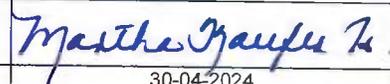
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal controla la realización de la técnica de la siguiente manera:

1. Pesa los estándares.
2. Afora para obtener la concentración correcta a cada dilución.
3. Prepara la Fase Móvil.
4. Trabaja en ausencia de luz.

Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos críticos:

1. La preparación de reactivos.
2. La preparación de la fase móvil.
3. La preparación de la curva.
4. La temperatura para la preparación de la muestra (58 °C).
5. La separación de la fase orgánica.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 31 DE: 35 |

Riesgos en el manejo de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos críticos:

1. Etanol:

- a. H225 Líquido y vapores muy inflamables.
- b. H319 Provoca irritación ocular grave. Declaración (es) de prudencia.
- c. P210 Mantener alejado de fuentes de calor, chispas, llama abierta o superficies calientes. No fumar.

2. Hidróxido de potasio:

Corrosivo para los metales:

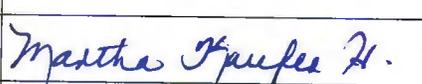
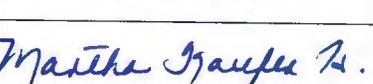
- a. H290. Toxicidad aguda (oral) (Acute Tox. 4).
- b. H302 corrosión o irritación cutáneas (Skin Corr. 1A).
- c. H314. Lesiones oculares graves o irritación ocular.

3. Dimetil sulfóxido:

- a. Información toxicológica Toxicidad aguda: DL50 (oral, rata): 14500 mg/kg.
- b. Contacto con la piel: Irritaciones.
- c. Riesgo de absorción por la piel.
- d. Contacto con los ojos: Irritaciones.

4. Hexano:

- a. H225 Líquido y vapores muy inflamables.
- b. H304 Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 32 DE: 35 |

- c. H315 Provoca irritación cutánea.
- d. H336 Puede provocar somnolencia o vértigo.
- e. H361 Se sospecha que perjudica a la fertilidad.
- f. H373 Puede provocar daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

5. Metanol:

- a. Inhalación: Disturbios visuales, dolor abdominal, diarrea, vómito, inconsciencia.
- b. En casos graves: coma, paro respiratorio, ceguera, convulsiones, acidosis metabólica severa y muerte.
- c. Ingestión: Puede producir ceguera y sordera.
- d. Contacto directo: Se absorbe por la piel presentando efectos iguales a la inhalación, produciendo resequedad, enrojecimiento y dolor.
- e. Los efectos crónicos de sobreexposición pueden incluir daños a los riñones y el hígado.
- f. La exposición repetida o prolongada en contacto con la piel conduce a dermatitis.

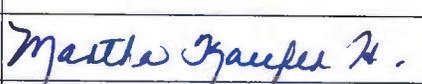
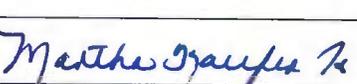
6. Acetonitrilo:

Indicaciones de peligro:

- a. H225 - Líquido y vapores muy inflamables.
- b. H302 + H312 + H332 - Nocivo en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.
- c. H319 - Provoca irritación ocular grave.

Manejo de residuos químicos:

Para conocer las normas que tienen que seguir en el manejo de residuos químicos véase el Documento Normativo del Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez Gil-Romo.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|--------------------------------------|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 33 DE: 35 |

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

No Aplica.

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Analitos:** Componente de interés analítico de una muestra que se separa de la Matriz. Es una especie química cuya presencia o contenido se desea conocer, identificable y cuantificable, mediante un proceso de medición química.
- 9.2 Automuestreador:** Un muestreador automático es comúnmente un dispositivo que está acoplado a un instrumento analítico que proporciona muestras periódicamente para su análisis
- 9.3 Corrida analítica (sample set):** Listado de estándares y muestras que serán inyectadas en el equipo de HPLC
- 9.4 Degasifica:** Elimina el oxígeno disuelto que puede provocar la degradación oxidativa de la muestra y las fases móviles.
- 9.5 Detector:** Dispositivo que permite medir, a la salida de la columna, una propiedad física de la muestra, que deberá depender de la composición de la misma
- 9.6 Eluyente o Fase Móvil:** La fase móvil es un solvente o mezcla de solventes en la cual va disuelta la muestra que es llevada a la columna en donde se separa y finalmente al detector para su análisis.
- 9.7 Ferrules:** Tipo de tornillo de acero inoxidable o de teflón utilizado en cromatografía para evitar fuga de solventes
- 9.8 Gravimétrica:** Es una técnica de laboratorio que determina el contenido de diferentes compuestos en una muestra midiendo diferencias de peso.
- 9.9 Hidroxicinámicos:** Grupo de compuestos de la pared celular vegetal; los más abundantes son el ácido ferúlico y el ácido p-cumárico. También incluye al ácido cafeico y al ácido sinápico.
- 9.10 HPLC:** La cromatografía líquida de alta resolución (high performance liquid chromatography) es un tipo de cromatografía en columna utilizada frecuentemente en bioquímica y química analítica, para separar los componentes de una mezcla con el objetivo de cuantificarlos, purificarlos o aislarlos

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 34 DE: 35 |

- 9.11 Method set:** Condiciones del equipo para detectar y/o cuantificar uno o varios compuestos específicos en una muestra determinada.
- 9.12 Proyecto:** Programa interno del equipo de HPLC que incluye uno varios *Métodos*.
- 9.13 Purgado:** Eliminar las burbujas de aire en las tuberías por medio del solvente que pasa a través de ellas con ayuda de una jeringa y aguja de punto roma.
- 9.14 Reservorio:** Contenedor de plástico resistente que recibe los desechos de los solventes utilizados por el equipo de HPLC
- 9.15 Rotavapor:** Evaporador rotativo que se emplea para la eliminación o recuperación de solventes a baja presión
- 9.16 Sonicar:** Es la aplicación de alta frecuencia que provoca ciclos continuos de presión alta y baja (frecuencias ultrasónicas) lo que provoca la vibración de las partículas de una solución facilitando la mezcla y/o limpieza de la misma.
- 9.17 Tiempo de corrida:** Lapso de tiempo que el equipo de HPLC tarda en analizar una muestra o estándar de acuerdo con un *Método*.

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

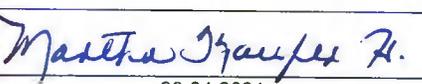
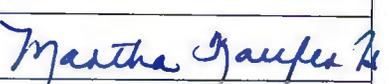
Revisión Los flavonoides: propiedades y acciones antioxidantes S. Martínez-Flórez, J. González-Gallego, J. M. Culebras* y M.^a J. Tuñón.

Hernández, J M (2005). Cromatografía líquida de alta eficiencia. Educación continua del laboratorio Clínico, 8, 49-62. Nutr. Hosp. (2002) XVII (6) 271-278 ISSN 0212-1611 • CODEN NUHOEQ S.V.R. 318.

Yamilet Irene Gutiérrez Gaitén, Migdalia Miranda Martínez, Amelia Teresina Henriques, Gloria del Barrio Alonso. 2010. Análisis de flavonoides en una fracción butanólica obtenida de *Phyllanthus orbicularis* HBK. Revista Cubana de Farmacia.2010; 44(3)367-373

Amairani Ramírez Rodríguez. Efecto de los frutos de *Acacia farnesiana* en la dieta caprina: presencia de compuestos bioactivos y actividad antioxidante de la leche. Tesis de licenciatura, Facultad de Química UNAM, CDMX.

<https://www.waters.com/nextgen/mx/es/education/primers/beginner-s-guide-to-liquid-chromatography/how-does-high-performance-liquid-chromatography-work.html>.

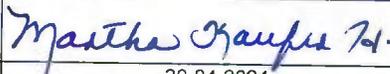
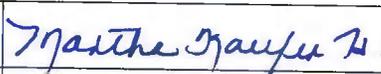
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 4. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas en Cromatografía Líquida de Alta Resolución (HPLC) | | HOJA: 35 DE: 35 |

DOCTA. Universidad Complutense de Madrid. <https://docta.ucm.es/entities/publication/043e9965-5239-4521-8776-9510b5ab3bfc>.

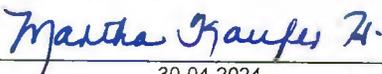
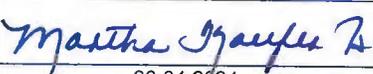
11.0 CAMBIOS EN ESTA VERSIÓN

| Número de revisión | Fecha de la actualización | Descripción del cambio |
|--------------------|---------------------------|------------------------|
| No Aplica | No Aplica | No Aplica |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|-------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 1 DE: 26 |

5. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA DESARROLLAR TÉCNICAS ANALÍTICAS DE CROMATOGRFÍA DE GASES (CG)

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 2 DE: 26 |

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

Es una técnica analítica que permite identificar, separar y cuantificar los componentes individuales volátiles o semivolátiles y térmicamente estables de una mezcla.

2.0 OBJETIVO

Describir los pasos y las condiciones para reducir la complejidad de la matriz de una muestra sólida o líquida con el fin de identificar y cuantificar sus componentes por cromatografía de gases.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPAN

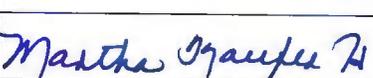
Las servidoras y servidores públicos de salud que participan en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite desarrollar técnicas analíticas cromatográficas.

1. Química y/o Químico de Nutrición Animal.
2. Técnica y/o Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal.
3. Investigadora y/o Investigador de Nutrición Animal.
4. Investigadora y/o Investigador Asociado.

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

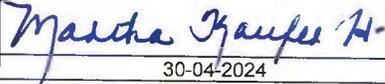
MATERIAL:

1. Acrodiscos de filtración de 0.22µm tipo HVLP.
2. Barras magnéticas para agitación.
3. Columna capilar DB-23 (50%-cianopropil)- metilpolisiloxano de 30 metros de longitud, 0.25 mm d.i. y 0.25 µm de película.
4. 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
5. Embudos de vidrio de 5 cm de diámetro de tallo corto.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 3 DE: 26 |

6. Espátula de acero inoxidable.
7. Gradillas para tubos de 50 mL.
8. Jeringas desechables de 3 y/o 5 mL.
9. Matraz volumétrico de 50 y 100 mL, clase A.
10. Membrana de filtración tipo HVLP de 35 mm.
11. Micropipeta automática de 100 µL.
12. Micropipeta automática de 200-1000 µL.
13. Micropipeta automática de 1-5 mL.
14. Papel filtro No. 4.
15. Pipeta Pasteur de vidrio.
16. Pipeta serológica de 10 mL.
17. Probeta de vidrio de 500 mL.
18. Propipeta de hule con 3 vías.
19. Puntas para micropipeta automática de 200-1000 µL.
20. Puntas para micropipeta automática de 100 µL.
21. Puntas para micropipeta automática de 1-5 mL.
22. Tubos de vidrio de 50 mL, de boca roscada y tapa de baquelita
23. Vaso de precipitados de vidrio, clase A de 100 mL y 150 mL.
24. Viales de vidrio ámbar de 2 mL con boca ancha de rosca con tapón de polipropileno con septa integrada de PTFE/silicona roja.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

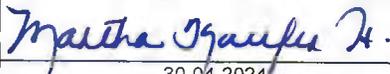
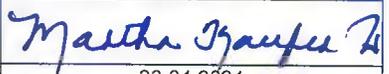
| | | | |
|--|---|---|---|
|   | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 4 DE: 26 |



EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL:

1. Bata blanca de algodón, abotonada y de manga larga.
2. Respirador con cartuchos para vapores orgánicos.
3. Guantes de nitrilo.
4. Goggles de seguridad.



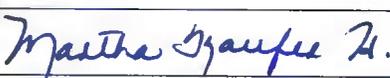
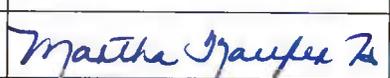
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 5 DE: 26 |

EQUIPO:

1. Balanza analítica.
2. Baño maria
3. Campana de extracción para ácidos
4. Campana de extracción para solventes orgánicos
5. Centrífuga con rango de 3000 a 5000 rpm
6. Estufa de secado
7. Cromatógrafo de Gases con automuestreador.
8. Refrigerador
9. Agitador Vórtex



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 6 DE: 26 |

REACTIVOS:

1. Ésteres metílicos de ácidos grasos (fatty acids methyl esters; F.A.M.E.): mezcla C4-C24; ampula con 100 mg.
2. Esteres metílicos de ácido miristoleico (Methyl myristoleate frasco ampula con 100 mg (99%).
3. Cloroformo grado reactivo.
4. Etanol grado reactivo.
5. Hidróxido de sodio.
6. Hexano grado HPLC.
7. Hexano grado reactivo.
8. Heptano grado reactivo.
9. Metanol grado reactivo.
10. Trifluoruro de Boro en Metanol al 14%.
11. Gas nitrógeno grado NF.
12. Gas nitrógeno grado cromatográfico.
13. Aire extra seco grado cromatográfico.

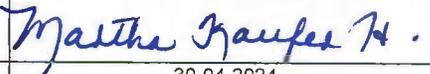
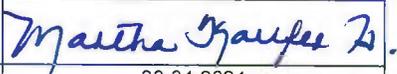
5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

El procedimiento se realiza en un ambiente sin ruido y sin patógenos, en mesas de trabajo de acero inoxidable con tuberías de aire y vacío, con campana de extracción para solventes orgánicos.

El lugar tiene que contar con la ventilación suficiente alrededor del instrumento y con el espacio para acceder a las conexiones de comunicación. Debe contar con 10 a 15 cm a cada lado del instrumento.

La instalación eléctrica tiene que estar de acuerdo a las especificaciones del equipo, el cual puede incluir un cable especial y requiere una toma de corriente conectada a tierra.

La línea de alimentación de energía del laboratorio tiene que estar conectada directamente del transformador principal de un circuito de suministro que no tenga cargas ni sobrecargas erráticas o interferencia electromagnética.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 7 DE: 26 |

Las líneas de suministro reservadas para el instrumento tienen que contar con la capacidad de reserva adecuada. La carga normal no debe exceder el 50% de la capacidad nominal, permitir la carga de encendido y la adición de otros instrumentos.

La computadora, impresora y los accesorios necesitan tomas de corriente adicional.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Oficial Mexicana NOM-087-SEMARNAT-SSA1-2002, Protección ambiental-salud ambiental-residuos peligrosos biológico-infecciosos-clasificación y especificaciones de manejo.

D.O.F. 17-II-2003

Norma Oficial Mexicana NOM-017-STPS-2008, Equipo de protección personal, selección uso y manejo en los Centros de Trabajo.

D.O.F 09-XII-2008

Norma Oficial Mexicana NOM-030-STPS-2009, Servicios preventivos de seguridad y salud en el trabajo- funciones y actividades.

D.O.F. 22-XII-2009

Norma Oficial Mexicana NOM-003-SEGOB-2011, Señales y avisos para protección civil, colores, formas y símbolos a utilizar.

D.O.F. 23-XII-2011 y sus reformas

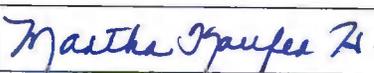
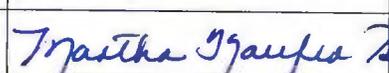
Norma Oficial Mexicana NOM-019-STPS-2011, Constitución, integración, organización y funcionamiento de las comisiones de seguridad e higiene.

D.O.F. 13-IV-2011

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

Fundamento:

Para realizar el análisis de un compuesto mediante cromatografía de gases, tiene que contar con una volatilidad y una estabilidad térmica adecuadas. El equipo vaporiza la muestra y la transporta al interior de una columna por medio de un gas acarreador. Los componentes a identificar atraviesan la columna a distinta velocidad en función de sus propiedades. Dichos componentes tienen que ser volátiles a una temperatura igual o inferior a los 400 °C y no descomponerse a dicha temperatura. Una vez eluidos, los componentes entran en un detector que genera una señal electrónica cuya intensidad dependerá de la cantidad del compuesto presente en la muestra. El programa de análisis de datos (software) registra la intensidad de las señales y la representa frente al tiempo transcurrido para generar un cromatograma.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|-------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 8 DE: 26 |

Manejo del Cromatógrafo de gases Varian CP3380 y el automuestreador CP8400:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza los análisis vigilando el cumplimiento de cada una de las siguientes consideraciones:

1. Reconocimiento de partes:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal identifica claramente los componentes del equipo:

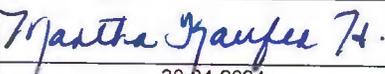
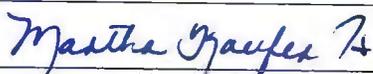
- a. Cromatógrafo.
- b. Gases.
- c. Columna.
- d. Inyector.
- e. Detector FID.
- f. En la jaula se encuentran los gases. Checa que el llenado de cada uno de los tanques esté arriba de 20 kg/cm². Si está más abajo solicita a mantenimiento que surtan un cilindro lleno.
- g. Los gases se abren en el siguiente orden:
 1. Nitrógeno (salida de 6 kg/cm²).
 2. Aire comprimido (salida de 6 kg/cm²).
 3. Hidrógeno (salida de 3 kg/cm²).

2. Operación del equipo:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza en la computadora y en el cromatógrafo la secuencia descrita a continuación para el análisis de una muestra por cromatografía de gases.

a. Para encender la computadora y el equipo:

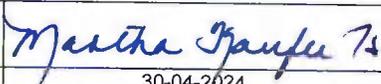
1. Enciende el multicontacto.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 9 DE: 26 |

2. Teclea el usuario y contraseña para acceder a WINDOWS.
3. Enciende el cromatógrafo con el interruptor en la parte superior del equipo.
4. Abre los tanques de los gases en el siguiente orden, confirmando las presiones de salida de cada uno:
 - I. Nitrógeno (salida de 6 kg/cm²).
 - II. Aire extra seco (salida de 6 kg/cm²).
 - III. Hidrógeno (salida de 3kg/cm²).
5. Da click en la esquina superior izquierda "system control/automation", espera que inicialice el cromatógrafo y en pantalla aparezcan 2 ventanas: 3800.44 (SYSTEM) y 8400 (SAMPLE LIST).
6. Activa el método seleccionando File/activate method/ (escoge el método a usar) /Star/Rosa Ma/MÉTODO.
7. Espera a que la columna y el detector alcancen la temperatura programada (tanto la pantalla del equipo como la ventana 3800.44 le permiten monitorear el incremento en la temperatura).
8. En la ventana de 8400 SAMPLE LIST, registra la lista de muestras a inyectar, especificando cada uno de los parámetros en la tabla.
9. Identifica cada vial como estándar, solvente o muestra, según sea el caso.
10. Programa el número de inyecciones que el equipo realizará de cada vial.
11. Captura la posición de cada vial en el carrusel del automuestreador.
12. Determina el volumen de inyección de cada vial.
13. Programa la inyección del solvente (se recomienda el mismo en el que se encuentran reconstituidos muestras y estándares) antes de iniciar la corrida.

Nota: cuando inyecta un solvente y la respuesta no es mayor o igual a 15 volts, es posible que la jeringa esté tapada o sucia. Se recomienda suspender la corrida eligiendo [Automation] del menú superior y eligiendo [Stop automation] para dar paso al Lavado/Cambio de jeringa (descrito más adelante).
14. Programa la inyección del estándar (por triplicado) al inicio de cada corrida.
15. Programa el guardado de los resultados seleccionando el botón en la parte baja de la pantalla DATA FILE/DATA/NEW FOLDER. Se recomienda generar una "carpeta" (folder) por mes y año. Selecciona [OK].

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 10 DE: 26 |

16. Confirma en el automuestreador que el vial en la posición I de la zona de lavado de la jeringa tenga solvente para hacer suficiente y coloca un vial vacío en la posición II.

17. Inicia el análisis dando click en [BEGIN] en la parte inferior izquierda de la pantalla SAMPLE LIST.

b. Para apagar el equipo:

1. Selecciona File/[activate method]/Star del menú de la ventana 3800.44.
2. Selecciona el método "Apagar".
3. Espera a que la temperatura del inyector y del detector sea menor a 150 °C (tanto la pantalla del equipo como la ventana 3800.44 le permiten monitorear el descenso de la temperatura).
4. Apaga el cromatógrafo.
5. Cierra todas las ventanas abiertas.
6. Apaga la computadora.
7. Cierra los tanques de cada gas en el siguiente orden: hidrógeno, aire, nitrógeno.

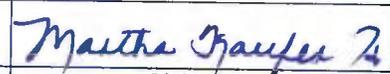
c. Para la calibración del equipo con estándar de referencia:

1. Programa 3 inyecciones del estándar o mezcla de estándares.
2. Verifica que todos los picos estén identificados.
3. Va a "edit method".
4. Guarda el Método con el nombre correspondiente.

d. Cálculos en un cromatograma:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza el análisis de los resultados mediante el programa Star Chromatography Workstation vs 6.3 Varian Associates, Inc. (programa descargado en la computadora del equipo) apegándose a la siguiente secuencia:

1. Selecciona FILE/[view/edit chromatogram] del menú de la ventana 3800.44 (SYSTEM).

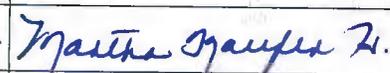
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 11 DE: 26 |

2. Abre el cromatograma del estándar para verificar que cada uno de los picos estén identificados.
3. Abre el cromatograma de la muestra.
4. Abre el método para hacer cálculos: File/Open method /" Cálculos AG".
5. Del menú superior selecciona [Results]/Reintegration list.
6. Quita la flecha roja del cromatograma correspondiente al estándar.
7. En la columna "Internal standard" selecciona "amount" e ingresa la cantidad de estándar interno adicionado a la muestra.
8. Ingresar los datos correspondientes en "multiplier" y "divisor", dependiendo de cómo se quieran reportar los datos (mg AG/100 g de muestra o en porcentaje).
9. Da click en "calculate results".
10. Verifica que cada uno de los picos del cromatograma de la muestra esté identificado correctamente con respecto al estándar de referencia.
11. En caso de que alguno no esté identificado correctamente, mueve la barra en la base del cromatograma en la que aparece el nombre del pico a identificar, para hacer coincidir el pico sin nombre con el pico del estándar.
12. Esta operación la realiza con cada inyección.

Nota: Se recomienda hacer esta operación con cada cromatograma de las muestras teniendo abierto y seleccionado un solo cromatograma del estándar o estándares.



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 12 DE: 26 |

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa periódicamente cada parte del equipo teniendo en cuenta las siguientes consideraciones:

1. El mantenimiento y remplazo de partes:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal monitorea la funcionalidad de las partes del cromatógrafo y de los accesorios que se tiene que remplazar periódicamente.

a. Septa:

Cambia la septa del inyector aproximadamente cada 30 inyecciones destornillando la parte superior del inyector para retirar la septa usada y colocar la nueva. Atornilla nuevamente sin apretar demasiado y verifica con una aguja de jeringa que el paso está libre y sin fugas.

No. de parte CR298713 CrossLab Non-stick BTO inlet de Agilent Technologies.

b. Inserto o Liner:

Cambia el inserto de vidrio o liner aproximadamente cada 200 inyecciones, cuando cambia la columna o si cambia de método. Destornilla la parte superior del inyector para retirar la septa. Retira la placa hasta ver el inserto de vidrio y lo retira con una pinza. Coloca el nuevo inserto con un anillo de ajuste nuevo para que selle perfectamente.

No. de parte Agilent 5181-1270.

c. Columna:

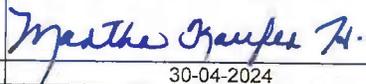
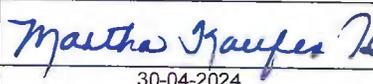
Utiliza una columna J&W DB-23 (Agilent 122-2332) de 30 m de largo, 0.25 mm D.I. y 0.25 micrómetros de película para cuantificar ácidos grasos.

Utiliza una columna J&W DB-5 (Agilent 122-5512UI) para cuantificar colesterol.

Para colocarla requiere de un cortador de columna, una lupa, una regla, corrector blanco líquido y metanol o hexano.

Sigue los pasos que a continuación se describen, apegándose a la secuencia:

1. Hace un corte suave con el cortador de columna en cada extremo de ésta y verifica con la lupa que el corte sea recto, perfecto. De no ser así habrá fugas.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 13 DE: 26 |

2. Coloca la tuerca y la férula y marca con el corrector líquido la distancia indicada.
En el cromatógrafo 3380 de VARIAN la distancia al inyector es de 3.5 cm y al detector es de 9.5 cm.
3. Abre el tanque de nitrógeno.
4. Conecta al inyector el extremo correspondiente de la columna y el otro extremo lo introduce a un solvente (hexano o metanol) para verificar que esté pasando el gas (se observa un burbujeo).
5. Conecta al detector el extremo correspondiente.
6. Checa en ambas conexiones que no hay fugas poniendo un poco de solvente con una pipeta Pasteur sobre la tuerca. Si observa un burbujeo aprieta un poco más las tuercas de la conexión. En caso de que el burbujeo continúe desconecta y repite la secuencia.

2. Acondicionamiento de la columna:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal NUNCA CALIENTA EL HORNO SIN GAS ACARREADOR (abre el tanque correspondiente).

Cuando coloca una columna, la deja acondicionándose de 4 a 6 horas.

Si la columna no es nueva, el acondicionamiento se lleva al menos 24 horas.

Al terminar ese tiempo verifica que la línea base sea estable (lineal).

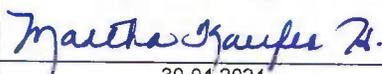
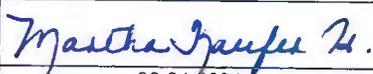
En caso de que el flujo del gas acarreador genere presencia de "picos" y no una línea base recta; puede ser indicativo de contaminación o de un "sangrado de la columna", por lo que se tiene que remplazar.

Calienta la columna 10°C abajo del límite máximo que señala el fabricante o 10°C arriba de lo que indica el método cromatográfico que se va a usar.

Usa la temperatura del detector y del inyector como lo indica el método que va a usar para terminar el acondicionamiento.

3. Ajuste de gases en el cromatógrafo:

Cuando la Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal va a utilizar un método nuevo, checa el flujo de los gases en el equipo usando un flujómetro. Este se coloca en la salida del detector EN FRIO.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 14 DE: 26 |

Cierra todas las válvulas (lado izquierdo del cromatógrafo) y abre una por una, cerrando la anterior cada vez (cierran a la derecha, abren a la izquierda).

Introduce un pequeño destornillador y gira el tornillo para ajustar hasta que las lecturas del flujómetro sean las siguientes:

Make up = 30 mL/min
 Hidrógeno = 20 mL/min
 Aire = 200 mL/min
 PSI Para ajustar la presión simplemente girar la perilla "Pressure reg".

El venteo lo mide en la pequeña manguera de salida que está al costado izquierdo del equipo. El flujo tiene que ser de 60 mL/min excepto para los analitos que requieran otra velocidad.

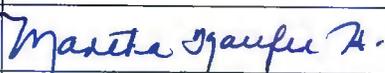
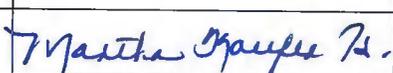
Revisa que el color del material secante de los filtros de salida sea el adecuado.

4. Lavado/Cambio de jeringa:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza lo siguiente para el lavado y el cambio de jeringa:

Lava la jeringa cada vez que inicie una serie de muestras apegándose a la siguiente secuencia:

- a. En la pantalla del equipo presiona [INSTRUMENT].
- b. Elige Menú/CP 8400/Miscelánea/Cambio de jeringa.
- c. Espera a que la torre gire para poder desmontar la jeringa.
- d. Desmonta la jeringa abriendo la puerta de acrílico transparente y liberándola girando la tuerca de ajuste y levantando la pestaña de seguridad.
- e. Lava la jeringa con solvente y confirma que la aguja no está obstruida.
- f. En caso de que la aguja esté tapada toma una jeringa nueva y realiza la misma verificación.
- g. Una vez confirmado el flujo de la aguja la coloca en la torre verificando el ajuste de los puntos de aseguramiento (tuerca y pestaña de seguridad).
- h. En la pantalla del equipo selecciona [CAMBIO REALIZADO].

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 15 DE: 26 |

i. Espera a que la torre regrese a la posición de inicio.

5. Calibración del carrusel del automuestreador:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza cuando el equipo permanece apagado por un periodo prolongado o cuando por alguna circunstancia se ha movido el carrusel apegándose a la siguiente secuencia:

- a. Selecciona INSTRUMENT en la pantalla del cromatógrafo y va a INICIO.
- b. Selecciona CALIBRACIÓN y sigue las indicaciones en pantalla.
- c. Elige DONE.

PERFIL DE ÁCIDOS GRASOS POR CROMATOGRFÍA DE GASES:

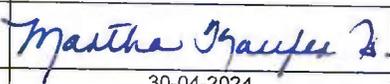
Fundamento:

Los lípidos son insolubles en el agua, se disuelven bien en disolventes no polares, como el cloroformo. Para cuantificar los ácidos grasos, es necesario realizar primero la extracción de los lípidos totales, lo cual se puede llevar a cabo empleando una mezcla de disolventes a fin de separar los lípidos que se encuentran unidos a las proteínas. Posteriormente, los lípidos se saponifican con hidróxido de sodio metanólico y se metilan obteniendo ésteres de los ácidos grasos por reacción con el trifluoruro de boro/metanol. Estos ésteres se cuantifican por cromatografía de gases, como se describió anteriormente.

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la extracción de los lípidos totales de la muestra siguiendo cuidadosamente la secuencia descrita a continuación.

Obtención del extracto lipídico:

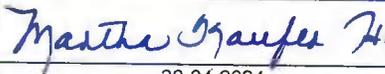
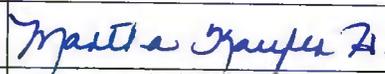
1. Pesa (por triplicado) 4 g de muestra en tubo de centrifuga de 50 mL.
2. Adiciona 25 mL de mezcla de solventes de 5 en 5 mL, agitando en vórtex 30 segundos después de cada adición.
3. Pasa la muestra a un matraz volumétrico de 100 mL, enjuagando el tubo al menos 3 veces con 10 mL de la mezcla de solventes.
4. Agrega 50 mL de la mezcla de solventes y agita cada 5 minutos durante una hora.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 16 DE: 26 |

5. Afora a 100 mL con la mezcla de solventes, agita nuevamente y deja reposar hasta tener una solución clara (aproximadamente 24 horas).
6. Transfiere una alícuota de 50 mL a un vaso de precipitado de 150 mL.
7. Evapora a sequedad en baño María a 70°C.
8. Pasa a estufa de secado a 100°C durante 10 minutos para evaporar cualquier residuo de agua.
9. Disuelve el extracto seco con 10 mL de cloroformo y lo filtra a través de papel filtro Watman # 4 a un vaso de precipitado de 100 mL pesado previamente.
10. Lava 2 veces con 5 mL de cloroformo.
11. Evapora a sequedad en baño María a 70°C.
12. Pasa a la estufa de secado a 100°C hasta obtener peso constante (aproximadamente 90 minutos).
13. Deja enfriar a temperatura ambiente (30 minutos).
14. Registra el peso del vaso con lípidos calcula el % de lípidos totales por diferencia.



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|----------------------------------|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 17 DE: 26 |

Preparación de soluciones:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara la solución de la siguiente manera:

1. Mezcla cloroformo:etanol 1:1 v/v.
2. Coloca en un matraz volumétrico de 1L 500 mL de cloroformo y afora con etanol.

Preparación de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara los reactivos de la siguiente manera:

1. Estándar interno; ácido miristoleico concentración 1 mg/mL.
Disuelve con hexano grado HPLC el contenido del vial de ácido miristoleico de 100 mg en un matraz volumétrico de 100 mL.
2. Mezcla de estándares Supelco® 18919 FAME Mix C4-C24.
Disuelve con hexano grado HPLC el contenido del vial de 100 mg de mezcla de estándares (FAME) en un matraz volumétrico de 5 mL.
3. Prepara la sosa Metanólica al 2%.
 - a. Disuelve 2 g de hidróxido de sodio en 100 mL de metanol grado reactivo.
4. Prepara una solución saturada de cloruro de sodio:
 - a. Pesa 37.5 g de NaCl (cloruro de sodio) y agita hasta disolver en 100 mL de agua destilada.
 - b. Añade sal hasta que la solución no permita más soluto.

Registro y cálculo de resultados:

$$\% \text{ Lípidos totales} = \frac{(\text{Peso vaso con lípidos} - \text{peso vaso vacío}) \times \text{vol. total}}{\text{Peso muestra} \times \text{alícuota}} \times 100$$

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|--|
|   | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 18 DE: 26 |

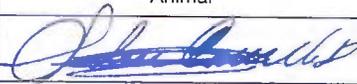
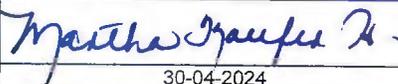
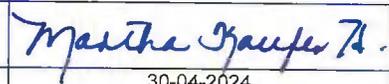
Preparación de los lípidos para determinar el perfil de ácidos grasos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal determina el perfil de ácidos grasos de la siguiente manera:

Redisuelve la muestra de grasa con hexano y afora a 10 mL.

1. Saponificación de los lípidos:
 - a. Toma 1 mL de la muestra reconstituida y la coloca en un tubo con 3 mL de hexano (tubo 1).
 - b. Agita con vórtex hasta la disolución completa de los lípidos.
 - c. Agrega 0.1 mL de estándar interno (ácido miristoléico, 1 mg/mL).
 - d. Adiciona 2 mL de solución de sosa metanólica al 2%.
 - e. Agita en vórtex durante 30 segundos.
 - f. Lleva los tubos a ebullición en baño María durante 10 minutos a 80°C.
 - g. Los retira del baño María y espera a que se enfríen a temperatura ambiente.

2. Metilación de los lípidos para la obtención de los esteres metílicos de los ácidos grasos:
 - a. Adiciona 1 mL de trifluoruro de Boro en Metanol 14%.
 - b. Agita en vórtex durante 30 segundos.
 - c. Lleva a ebullición por 2 minutos en baño María (aprox. 80°C).
 - d. Los retira del baño María y espera a que se enfríen a temperatura ambiente.
 - e. Agrega 5 mL de heptano.
 - f. Agita en vórtex 30 segundos.
 - g. Lleva a ebullición por 2 minutos en baño María (Aprox. a 80°C).
 - h. Los retira del baño María y espera a que se enfríen a temperatura ambiente.
 - i. Adiciona 3 mL de solución saturada de cloruro de sodio.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 19 DE: 26 |

- j. Agita 1 minuto en vórtex.
- k. Centrifuga durante 10 minutos a 1200 rpm para separar las fases.
- l. Pasa el sobrenadante (la fase superior) a un tubo limpio (tubo 2).
- m. Guarda la fase inferior, residuo de trifluoruro de boro, metanol, heptano y cloruro de sodio, en un frasco bien etiquetado que lleva a confinamiento de acuerdo con la reglamentación del INCMNSZ.
- n. Evapora a sequedad el contenido del tubo 2 en baño María a 60°C con flujo de nitrógeno.
- o. Reconstituye con 1 mL de hexano grado HPLC y coloca en un vial para inyección.

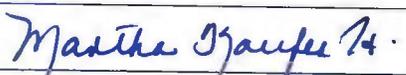
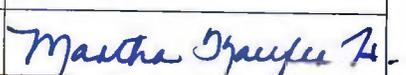
Condiciones cromatográficas:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa las condiciones cromatográficas de la siguiente manera:

1. Temperatura del inyector 250 °C.
2. Temperatura de la columna: inicial = 120 °C, aumenta 10 °C/min hasta 200°C, mantiene 5 min, aumenta 10°C/min hasta 220°C, mantiene 5 min, aumenta 5°C/min hasta 230°C y mantiene 9 minutos (tiempo de corrida = 35 min.).
3. Temperatura del detector 280°C.
4. Gas acarreador: nitrógeno.

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal realiza la cuantificación de los ácidos grasos con el programa Star Chromatography Workstation vs 6.3 Varian Associates, Inc mediante la integración de los resultados después de identificar los tiempos de retención de cada pico de interés del cromatograma.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 20 DE: 26 |

Riesgos en el manejo de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o Investigador Asociado o la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos críticos:

1. Ácido miristoleico (estándar interno):

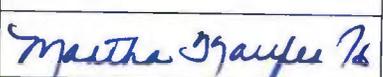
- a. No es una sustancia o mezcla peligrosa de acuerdo con el Sistema Globalmente Armonizado (SGA).

2. Cloroformo:

- a. H302 Nocivo en caso de ingestión.
- b. H315 Provoca irritación cutánea.
- c. H319 Provoca irritación ocular grave.
- d. H331 Tóxico en caso de inhalación.
- e. H351 Se sospecha que provoca cáncer.
- f. H361 Se sospecha que daña al feto (en caso de exposición).
- g. H372 Provoca daños en los órganos tras exposiciones prolongadas o repetidas.

3. Etanol:

- a. H227 Líquido combustible.
- b. H301 H331 Tóxico en caso de ingestión o inhalación.
- c. H310 Mortal en contacto con la piel.
- d. H315 Provoca irritación cutánea.
- e. H317 Puede provocar una reacción alérgica en la piel.
- f. H318 Provoca lesiones oculares graves.
- g. H361 Se sospecha que puede perjudicar la fertilidad o dañar el feto.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 21 DE: 26 |

h. H373 Puede provocar daños en los órganos (Higado, Corazón) tras exposiciones prolongadas o repetidas en caso de ingestión.

4. Hidróxido de sodio:

- a. H290 Puede ser corrosivo para los metales.
- b. H314 Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.

5. Hexano:

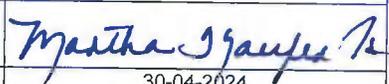
- a. H225 Líquido y vapores muy inflamables.
- a. H304 Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.
- b. H315 Provoca irritación cutánea.
- c. H336 Puede provocar somnolencia o vértigo.
- d. H361 Se sospecha que puede perjudicar la fertilidad o dañar el feto.
- e. H373 Puede provocar daños en los órganos (sistema nervioso) tras exposiciones prolongadas o repetidas si se inhala.

6. Heptano:

- a. H225 Líquido y vapores muy inflamables.
- b. H304 Puede ser mortal en caso de ingestión y penetración en las vías respiratorias.
- c. H315 Provoca irritación cutánea.
- d. H336 Puede provocar somnolencia o vértigo.

7. Metanol:

- a. Inhalación: Disturbios visuales, dolor abdominal, diarrea, vómito, inconsciencia.
- b. En casos graves: coma, paro respiratorio, ceguera, convulsiones, acidosis metabólica severa y muerte.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 22 DE: 26 |

- c. Ingestión: Puede producir ceguera y sordera.
- d. Contacto directo: Se absorbe por la piel presentando efectos iguales a la inhalación, produciendo resequedad, enrojecimiento y dolor.
- e. Los efectos crónicos de sobreexposición pueden incluir daños a los riñones y el hígado.
- f. La exposición repetida o prolongada en contacto con la piel conduce a dermatitis.

8. Mezcla de estándares F.A.M.E C4, C24:

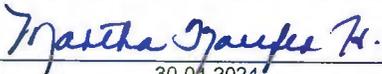
- a. H225 Líquidos inflamables Categoría 2.
- b. H315 Corrosión o irritación cutáneas Categoría 2.
- c. H361d Toxicidad para la reproducción Categoría 2.
- d. H336 Toxicidad específica en determinados órganos (stot) exposición única (efectos narcóticos) Categoría 3.
- e. H373 Toxicidad específica en determinados órganos (stot) exposiciones repetidas Categoría 2.
- f. H304 Peligro por aspiración Categoría 1.

9. Nitrógeno gaseoso:

- a. **Ingestión:** Sin efectos negativos.
- b. **Inhalación:** Altas concentraciones pueden causar asfixia. La asfixia puede causar la inconsciencia tan inadvertida y rápidamente que la víctima puede ser incapaz de protegerse. La exposición a una atmósfera con deficiencia de oxígeno puede causar los siguientes síntomas: vértigo, salivación, náusea, vómito, pérdida de movilidad/consciencia.
- c. **Contacto:** sin efectos negativos.

10. Trifluoruro de Boro en Metanol al 14%:

- a. H225. Líquido y vapores muy inflamables.
- b. H301 + H311 + H331. Tóxico en caso de ingestión, contacto con la piel o inhalación.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 23 DE: 26 |

- c. H314. Provoca quemaduras graves en la piel y lesiones oculares graves.
- d. H370. Provoca daños en los órganos.

11. Aire extra seco grado cromatográfico

- a. H280. Contiene gas a presión; puede explotar si se calienta.

Manejo de residuos químicos:

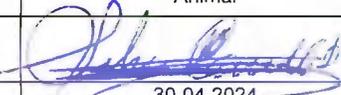
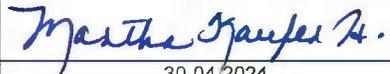
Para conocer las normas que tienen que seguir en el manejo de residuos químicos véase el Documento Normativo del Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez Gil-Romo.

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

No Aplica.

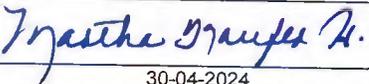
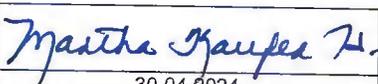
9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Acondicionamiento de la columna:** Proceso mediante el cual se prepara la columna del equipo para trabajar en las condiciones específicas del método programado.
- 9.2 Adsorbente:** Sustancia sólida que atrae y retiene moléculas en su superficie.
- 9.3 Analitos:** Son los componentes (elemento, compuesto o ion) de interés analítico de una muestra.
- 9.4 Automuestreador:** Parte de un equipo de análisis que permite programar la inyección automática de múltiples muestras.
- 9.5 Carrusel:** Dispositivo giratorio con espacios numerados en el que se colocan los viales de inyección.
- 9.6 Columnas cromatográficas:** Dispositivos cilíndricos, generalmente contruidos de acero inoxidable, cobre o vidrio, cuya función principal es llevar a cabo, en su interior, la separación de componentes de una mezcla.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|--------------------------------------|
|   | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 24 DE: 26 |

- 9.7 Corrida:** Conjunto de muestras que se analizan a un mismo tiempo bajo las mismas condiciones.
- 9.8 Cromatografía de gases:** Técnica analítica que permite separar mezclas de compuestos fácilmente volatilizables y térmicamente estables en sus componentes individuales.
- 9.9 Detector FID:** El detector de ionización de flama es un detector utilizado en cromatografía de gases. Es uno de los detectores más usados y versátiles. Básicamente es un quemador de hidrógeno/oxígeno, donde se mezcla el efluente de la columna con hidrógeno.
- 9.10 Detector:** Componente del cromatógrafo de gases que se encarga de determinar cuándo ha salido el analito por el final de la columna.
- 9.11 Elución:** Es el proceso mediante el cual una sustancia (analito) se separa de otra (fase estacionaria) con la ayuda de un extractor (fase móvil).
- 9.12 Eluidos:** Son las sustancias (analitos) separadas de una mezcla o de una solución mediante el uso de un extractor apropiado (fase móvil).
- 9.13 Estacionaria:** Es la fase hecha de material que permanece inmóvil durante la transportación de la muestra y que permite la separación de sus componentes.
- 9.14 Ésteres:** Sustancia química que se forma cuando se combina un ácido con un alcohol, y se le extrae el agua.
- 9.15 Gas acarreador:** Fase móvil de la cromatografía de gases. Sirve para transportar los componentes de la muestra, y crear una matriz adecuada para el detector. Un gas portador debe reunir ciertas condiciones: Debe ser inerte para evitar interacciones (tanto con la muestra como con la fase estacionaria).
- 9.16 Gas inerte:** Que no reacciona con las sustancias que lo rodean.
- 9.17 Inyector:** Parte del cromatógrafo donde se introduce la muestra vaporizada en la corriente del gas acarreador. Los inyectores más comunes son los puertos de inyección y las válvulas de muestreo.
- 9.18 Liner o inserto:** Es un accesorio de vidrio, parte del sistema de inyección.
- 9.19 Matriz de muestra:** Todas las especies químicas (sustancias) presentes en una muestra que no son el analito de interés.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

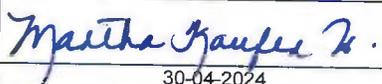
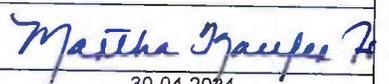
| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 25 DE: 26 |

- 9.20 Metanólico:** Es un compuesto disuelto en metanol o que tiene su origen en una extracción realizada con metanol.
- 9.21 Metilación:** Adición de grupos metilo (-CH₃) a una molécula.
- 9.22 Metilar:** Es la acción de adicionar grupos metilo a un compuesto para hacerlo detectable por la formación de un éster, el cual es detectable mediante cromatografía de gases.
- 9.23 Móvil:** Es la fase que actúa de portadora de la muestra.
- 9.24 Sangrado de la columna:** Desprendimiento del material de la columna que se caracteriza por generar una señal de fondo, alterando la línea base.
- 9.25 Saponificación** Reacción química entre un lípido y una base fuerte en la que se obtiene como principal producto la sal de dicho ácido y de dicha base.
- 9.26 Semivolátiles:** Son los compuestos que pueden existir en estado gaseoso a temperaturas mayores que la del ambiente.
- 9.27 Septa:** Es un sello de silicón o goma que permite el acceso a o la toma de una solución a su interior mediante una inyección y al mismo tiempo provee la hermeticidad hacia el interior, ya sea de un vial o de un sistema más complejo, como el sistema de inyección de un cromatógrafo de gases.
- 9.28 Soluto:** Componente que se encuentra en menor proporción, puede ser un sólido y se disuelve dentro del solvente.
- 9.29 Venteo:** Es la liberación de presión por la salida de gases al ajustar la presión de las diferentes líneas del cromatógrafo de gases.
- 9.30 Volátiles:** Cualquier compuesto orgánico (que contiene carbón) que se evapora con facilidad hacia la atmósfera a temperatura ambiente.

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Método AOAC Oficial Method 923.07 (2005 AOAC International).

Método AOAC Oficial Method 969.33 (2005 AOAC International).

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 5. Procedimiento Técnico para Desarrollar Técnicas Analíticas de Cromatografía de Gases (CG) | | HOJA: 26 DE: 26 |

<https://www.sigmaaldrich.com/MX/es/applications/analytical-chemistry/gas-chromatography>

<https://cai.ucm.es/ciencias-tierra-arqueometria/tecnicas-geologicas/tecnicas/cromatografia-de-gases-masas-gc-ms/38/>

<https://www.csic.es/es>

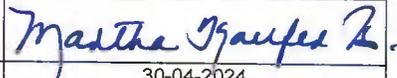
<https://www.equiposylaboratorio.com/portal/articulo-ampliado/saponificacion>

<https://www.todoluzygases.es/gas/diccionario/g/gas-inerte>

<https://www.um.es/documents/4874468/11830096/tema-1.pdf/1c49a077-8b02-405d-9100-ee5f7f1b1b7b>

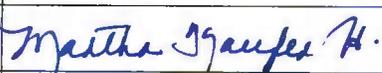
11.0 CAMBIOS EN ESTA VERSIÓN

| Número de revisión | Fecha de la actualización | Descripción del cambio |
|--------------------|---------------------------|------------------------|
| No Aplica | No Aplica | No Aplica |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|-------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 1 DE: 17 |

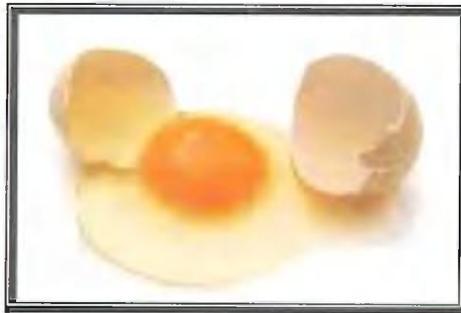
6. PROCEDIMIENTO TÉCNICO PARA EVALUAR LA CALIDAD FÍSICA, EXTERNA E INTERNA, DEL HUEVO PARA CONSUMO

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 2 DE: 17 |

1.0 DEFINICIÓN DEL PROCEDIMIENTO TÉCNICO

Es el conjunto de análisis que se realizan para determinar la calidad del huevo por sus características físicas, sanitarias y químicas, las cuales permiten clasificarlo de acuerdo con las normas establecidas y declarar si es apto o no para consumo humano.



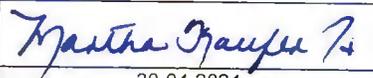
2.0 OBJETIVO

Describir los métodos que se utilizan en el laboratorio del Departamento para evaluar las características externas e internas del huevo, del cascarón, yema y clara, indicadoras de la calidad del huevo para consumo.

3.0 SERVIDORAS Y SERVIDORES PÚBLICOS DE SALUD QUE PARTICIPAN

Las servidoras y servidores públicos de salud que participa en el procedimiento cuentan con las competencias cognitivas, el conocimiento de los procesos, la actitud y las habilidades que les permite obtener, procesar y analizar muestras de huevo para determinar su calidad.

1. Química y/o Químico de Nutrición Animal.
2. Técnica y/o Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal.
3. Investigadora o Investigador de Nutrición Animal.
4. Investigadora y/o Investigador Asociado.

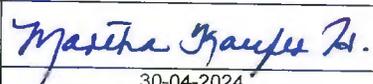
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 3 DE: 17 |

4.0 MATERIAL Y EQUIPO NECESARIO

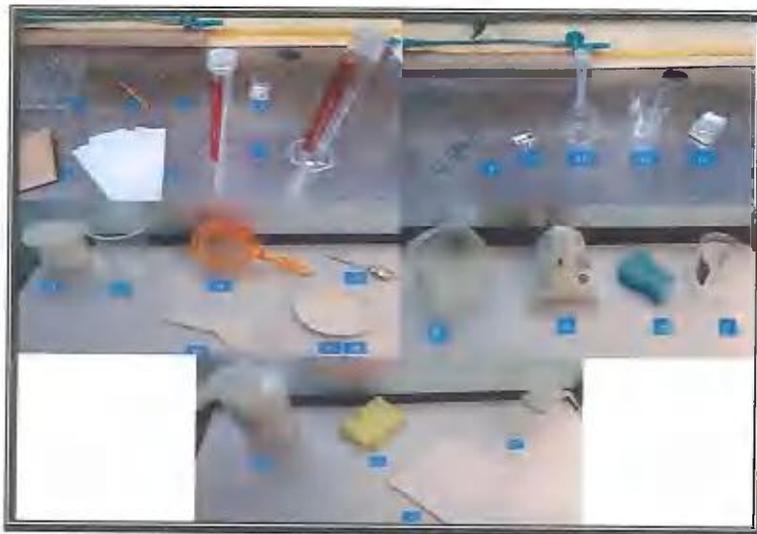
MATERIAL:

1. Cartones/conos para transporte de huevo.
2. Lápices de grafito suave (no. 2).
3. Espátula de acero inoxidable.
4. Agua potable para enjuagar los cascarones.
5. Papel estraza.
6. Toallas de papel desechables.
7. Probeta 250 y 500 mL.
8. Agitadores de vidrio.
9. Agitador magnético.
10. Matraces volumétricos de 1 L.
11. Vasos de precipitados de 2 L.
12. Charolas para pesar sólidos.
13. Recipiente plástico 1L para recolectar las muestras analizadas.
14. Coladera de plástico, de malla de 1mm, aproximadamente.
15. Cuchara desechable de plástico.
16. Espátula de silicón.
17. Plato de 15 cm de diámetro para pesar el huevo entero.
18. Plato de plástico para manipular la yema en el colorímetro.
19. Recipiente de plástico para capturar las yemas.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|---|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 4 DE: 17 |

20. Jabón líquido o en polvo.
21. Esponja para lavado de utensilios.
22. Recipiente plástico 500 mL para preparar solución jabonosa.
23. Toallas húmedas.
24. Tela de gasa o trapo limpio.
25. Solución de hipoclorito de sodio para limpieza final.
26. Hojas de papel bond para impresora (se recomienda reutilizar el papel).



REACTIVOS:

1. Cloruro de sodio (NaCl, granular, grado ACS).
2. Agua destilada.

EQUIPO:

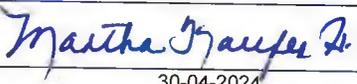
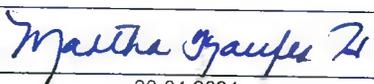
1. Balanza granataria.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|---|
|   | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 5 DE: 17 |

1. Vernier
2. Regla
3. Palillos de madera
4. Ovoscopio
5. Equipo automatizado QCM/QCD/EQM Eggware Manual. Software versión 1.06 – Release 04C9 (Technical Service and Supplies, Inc., England). Consta de varias partes
 - a. Balanza digital para peso de huevo y peso de cascarón
 - b. Mesa plana de vidrio para evaluar las características internas
 - c. Trípode con micrómetro para medir la altura de albúmina
 - d. Color de yema
 - e. Abanico colorimétrico DSM
 - f. Micrómetro electrónico para medir el grosor del cascarón
 - g. Cerebro del equipo
 - h. Estación de trabajo



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 6 DE: 17 |

EQUIPO DE PROTECCIÓN PERSONAL:

1. Guantes desechables de látex o nitrilo.
2. Cubrebocas desechables.
3. Lentes de protección.
4. Bata de algodón.



5.0 INSTALACIONES FÍSICAS

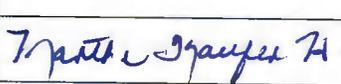
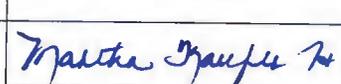
El procedimiento se realiza en un ambiente sin ruido y sin patógenos, en mesas de trabajo de acero inoxidable con la ventilación e iluminación adecuadas.

La instalación eléctrica tiene que ser la adecuada para el equipo y con conexiones suficientes.

6.0 NORMATIVIDAD ESPECÍFICA Y DOCUMENTOS RELACIONADOS

Norma Mexicana NMX-FF 127-SCFI-2016. Productos Avícolas-Huevo Fresco de Gallina–Especificaciones y Métodos De Prueba.

D.O.F. 24-XI-2016

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|---|---|
|   | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  <small>INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN</small> | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 7 DE: 17 |

7.0 DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA

Fundamento:

La calidad del huevo se determina por la evaluación de características internas y externas del producto, a través de la apreciación visual directa y en otros casos por la medición con equipos específicos.

Preparación u obtención de la muestra:

Las piezas de huevo se evalúan el mismo día que fueron puestas por la gallina.

Desarrollo del procedimiento:

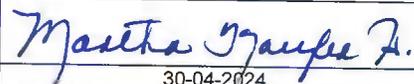
La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado, la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal evalúa la calidad de huevo registrando las observaciones y/o datos que obtiene al inspeccionar y/o medir sus características físicas tanto externas como internas apegándose cuidadosamente a la secuencia descrita a continuación:

Características externas del huevo:

- 1. Color del cascarón:** lo determina mediante apreciación visual, describiéndole como: blanco, café, perla, rosa, azul, verde.



- 2. Limpieza del cascarón:** verifica que las muestras estén limpias sin presencia de sangre, tierra, excremento, plumas pegadas o cualquier otro material extraño.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|-------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 8 DE: 17 |



3. **Textura del cascarón:** verifica que el cascarón esté liso. La textura rugosa puede deberse a alteraciones en el suministro de minerales, principalmente de calcio, en la dieta de las gallinas.



4. **Integridad del cascarón:** la determina por apreciación visual, verificando que el cascarón se encuentre íntegro, sin grietas ni roturas.

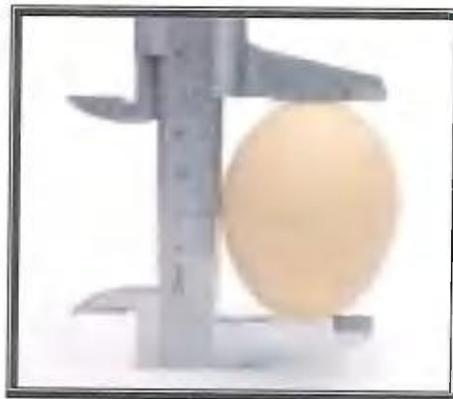
| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 9 DE: 17 |

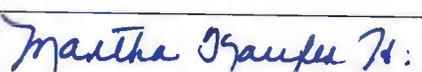


5. **Índice de forma del huevo:** utiliza un Vernier para medir el ancho y el largo del huevo. Calcula el "Índice de forma" mediante la siguiente fórmula:

$$\text{Índice de largo} = (\text{ancho/largo}) * 100.$$



6. **Cámara de aire:** realiza la medición utilizando un ovoscopio, colocando el huevo con la punta aguda sobre el orificio de apoyo/soporte, encendiendo la luz en la parte posterior y midiendo la altura de la cámara de aire en el interior (espacio interior el cascarón y el contenido del huevo), delimita el contorno con un lápiz, para luego medir con una regla o con un Vernier.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 10 DE: 17 |

Nota: un huevo fresco o recientemente puesto tiene una altura de cámara de aire menor a 3.2 mm. Entre mayor sea la altura de la albúmina, mayor será la edad del huevo.

El cálculo de la edad del huevo se puede inferir sumergiendo el huevo en un recipiente con agua y de acuerdo al tamaño de la cámara de aire el huevo tomará diferentes posiciones y/o flotará. Si la cámara de aire es muy pequeña (3.2 mm aprox.) el huevo se va al fondo del recipiente e indica que el huevo es fresco, mientras que si la cámara de aire es mayor a 4 mm el huevo flotará indicando que la pieza ya es "vieja".



7. Peso del huevo entero: coloca el huevo entero en la balanza digital del equipo y registra el peso antes de iniciar con la evaluación de las características internas del huevo.



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 11 DE: 17 |

Características internas del huevo:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado, la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal rompe el cascarón y coloca el contenido sobre la mesa de vidrio del equipo para evaluar las siguientes características:

1. Registra la presencia/no presencia de manchas de sangre o de carne en la yema o en la clara.
2. Identifica si la clara próxima a la yema (clara densa) es firme y/o si predomina la clara acuosa.

Nota: conforme avanza la edad del huevo o si las condiciones de almacenamiento no son las adecuadas, la clara pierde firmeza y se distribuye fácilmente en una superficie plana.

3. Mide la altura de la clara densa con el micrómetro situado en el trípode del equipo, colocándolo a un cm lateral de la yema y bajándolo con suavidad hasta tocar ligeramente la superficie de la albumina densa. La lectura se registra instantáneamente en el sistema.
4. Calcula las Unidades Haugh (UH) aplicando la siguiente fórmula:

$$UH = 100 \log_{10} (A + 7.57 - 1.7 P)$$

A = altura de la albúmina (mm).
P = peso del huevo (g).

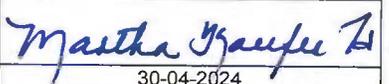
Nota: El equipo puede realizar este cálculo de forma automática.

5. Registra la presencia/ No presencia de chalazas.

Nota: su presencia es indicativo de que el huevo es fresco o de reciente puesta. Su función es mantener la yema suspendida en el centro del huevo.

6. Revisa la integridad de la yema por observación directa para detectar que ésta no se encuentre rota o se rompa al momento de abrir el huevo.
7. Identifica el disco germinal de la yema a simple vista (es un pequeño círculo blanco) y lo mide con ayuda de una regla para verificar que éste no rebasa los 3 mm de diámetro.
8. Determina el color de yema con ayuda de un abanico colorimétrico (DSM) integrado al software del equipo y lo calibra con una placa blanca de porcelana, siguiendo las instrucciones antes de hacer la lectura.

Nota: El instrumento mide la proporción de luz roja, verde y azul que refleja la yema, cuando es iluminada por una luz blanca brillante y los valores se comparan con porcentajes conocidos de los 15 colores del Abanico que están pre-cargados en el colorímetro.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--------------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 12 DE: 17 |

9. Enjuaga todo el cascarón bajo el chorro suave de agua de la llave para eliminar la albúmina que queda adherida en el interior del cascarón y lo coloca en el mismo lugar del cartón donde venía la pieza evaluada para evitar se desprenda o se pierda alguna parte del cascarón. Lo deja secar durante 24 horas a temperatura ambiente y pesa el cascarón completo en la misma balanza digital que se utilizó para pesar el huevo entero.
10. Toma una pequeña muestra del ecuador del cascarón y lo coloca entre las puntas del micrómetro electrónico para registrar el grosor.

Grosor del cascarón:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado, la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal mide el grosor de cascarón ya que si el cascarón es muy delgado aumenta el riesgo de rotura y pérdida de humedad.

Existen varios métodos para medir el grosor del cascarón, algunos de ellos son:

1. Grosor del cascarón con un micrómetro
2. Resistencia de cascarón.
3. Gravedad específica.

La gravedad específica, es la relación o cociente entre la densidad de una sustancia (sólida o líquida) y la densidad de otra usada como referencia. En este caso es la relación existente entre la densidad del agua y la densidad del cascarón.

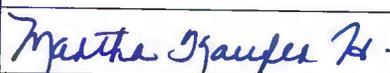
Nota: los dos primeros métodos son invasivos, mientras que el último no invasivo.

Preparación de reactivos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado, la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal prepara una solución de agua con cloruro de sodio, como se describe a continuación:

1. Solución salina a diferentes concentraciones:

- a. Obtiene cinco soluciones con las siguientes densidades: 1.070, 1.075, 1.080, 1.085, 1.90.
- b. Adiciona en cinco matraces volumétricos un litro de agua destilada en cada uno y las siguientes cantidades de NaCl: 52 g, 65 g, 100 g, 102 g y 126 g, respectivamente.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 13 DE: 17 |

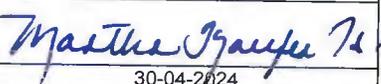
- c. Coloca los matraces sobre parrillas de calentamiento, manteniendo la temperatura de las soluciones a 18.5°C, hasta que todo el NaCl esté completamente disuelto.
- d. Vierte las soluciones de Cloruro de Sodio (NaCl) en vasos de precipitados de 1.50 – 2.0 L, una vez disuelto el NaCl.
- e. Mide la densidad de las soluciones con un densitómetro, asegurándose de obtener las densidades antes mencionadas.
- f. Sumerge las piezas de huevo en las cinco soluciones, iniciando con la que tiene la gravedad específica más baja, contar los huevos que flotan en cada solución y retirarlos.

Nota: los huevos con mayor grosor de cascarón, son los que flotan en una densidad cercana a 1.1 y se hunden en soluciones menos densas.

| Gravedad específica de la solución salina | Gramos de sal (NaCl) en un litro de agua destilada | Clasificación del huevo según flote en las soluciones |
|---|--|---|
| 1.070 | 52 | 1 (cascarón más delgado) |
| 1.075 | 65 | 2 |
| 1.080 | 100 | 3 |
| 1.085 | 102 | 4 |
| 1.090 | 126 | 5 (cascarón más grueso) |

Nota: un cascarón delgado supone un riesgo de fractura.



| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|--|---|--|--|
| | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS | | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 14 DE: 17 |

Registro y cálculo de resultados:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado, la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal registra en su bitácora los datos obtenidos, apoyándose con tablas como las que se sugieren a continuación:

| Características externas del huevo | | |
|------------------------------------|-------------------------------|---|
| Procedencia: _____ | | |
| Fecha: _____ | | |
| Clave asignada a la pieza: _____ | | |
| Analista: _____ | | |
| Característica | Opciones | Observaciones |
| Color | Blanco/café/perla/ verde/azul | Elija el color que observa. |
| Limpieza | Limpio / Con material extraño | Mencione si el cascarón está limpio o si observa: sangre, tierra, heces, plumas pegadas, etc. |
| Textura | Liso | Señale si el cascarón presenta rugosidades, o depósitos de calcio. |
| Integridad | Sin grietas y/o roturas | Indique si el cascarón presenta alguna grieta o rotura. |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | | | |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 15 DE: 17 |

| Características internas del huevo | | |
|------------------------------------|--------------------------|--|
| Procedencia: _____ | | |
| Fecha: _____ | | |
| Clave asignada a la pieza: _____ | | |
| Analista: _____ | | |
| Característica | Clara | Yema |
| Integridad | Firme / acuosa | Íntegra o rota |
| Color | Transparente / Opaca | [Usar el abanico colorimétrico DSM de Roche] |
| Disco germinal (mm) | No aplica | Medir con regla |
| Chalaza | Sí presenta /No presenta | No aplica |
| Sangre o carnosidad | Sí presenta /No presenta | Sí presenta /No presenta |

Control de la técnica, equipo y analista:

Puntos críticos:

La Química o el Químico de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador de Nutrición Animal, la Investigadora o el Investigador Asociado, la Técnica o el Técnico de Laboratorio de Nutrición Animal revisa los siguientes puntos críticos:

1. Realiza la evaluación del huevo el mismo día de la puesta.
2. Asigna una clave a cada pieza donde incluye letras y números que permitan a las servidoras y los servidores públicos involucrados identificarlas fácilmente.
3. Marca el cascarón con la clave asignada con lápiz para evitar que ésta se borre o la tinta se corra.

Nota: el valor del "Índice de forma" es importante para efectos del empaquetado; en el caso de tener producto irregular pueden presentarse roturas durante su transporte o manejo.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|--|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 16 DE: 17 |

Riesgos en el manejo de reactivos:

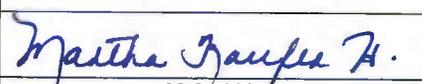
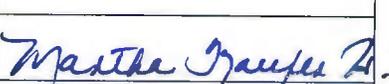
No Aplica.

8.0 MEDIDAS DE CONTROL PARA ELEVAR LA CALIDAD Y SEGURIDAD DE LAS PERSONAS BENEFICIARIAS

No Aplica.

9.0 GLOSARIO DE TÉRMINOS

- 9.1 Abanico colorimétrico:** Es un instrumento que identifica un color y su matiz; se utiliza obtener para una medida objetiva de un color.
- 9.2 Albúmina:** Es la principal proteína de la clara de huevo, en la que representa alrededor del 55% del total de proteínas.
- 9.3 Chalazas:** Son un par de bandas helicoidales de un color transparente-blanquecino, compuestos principalmente por albúmina y situados en los polos del huevo; sirven para fijar a la yema en el centro de éste.
- 9.4 Clara acuosa:** Es la albúmina más cercana al cascarón; su proporción crece con el paso del tiempo.
- 9.5 Clara densa:** Es la albúmina del huevo más cercana a la yema, tiene mayor concentración de proteínas. Su presencia en mayor proporción sirve como indicativo de un "huevo fresco".
- 9.6 Disco germinal de la yema:** Es una estructura que parece una pequeña depresión y se ubica Sobre la superficie de la yema. Su dimensión y desarrollo se relacionan con el huevo fértil y el desarrollo embrionario.
- 9.7 Gravedad específica:** Es la densidad de un líquido comparada con la del agua pura cuyo valor se considera igual a 1.
- 9.8 Hidrómetro:** Es un instrumento que se utiliza para medir la densidad de líquidos y sólidos. También se le conoce como densímetro.
- 9.9 Micrómetro:** Es un instrumento con el que se realizan medidas de precisión muy pequeñas del orden de centésimas de milímetro (0.01 mm) o de milésimas de milímetro (0.001 mm). Estas últimas son conocidas como micras en el sistema métrico decimal.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Dominguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|----------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | 6. Procedimiento Técnico para Evaluar la Calidad Física, Externa e Interna, del Huevo para Consumo | | HOJA: 17 DE: 17 |

9.18 Ovoscopio: Es un aparato que se utiliza en la revisión de los huevos para identificar la cámara de aire dentro de éstos mediante la traslucidez del cascarón.

9.19 Vernier: Pieza auxiliar en una regla de medición que consta de una parte fija y una móvil que se utiliza para registrar lecturas menores a la escala principal (hasta 0.05-0.02 mm).

10.0 REFERENCIA BIBLIOGRÁFICA

Commercial chicken and egg production (5th). Bell Donald B. y Weaver, William D (Eds). Kluwer Academic Publishers. USA, 2001

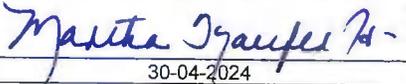
Avitecnia, Manejo de las aves domésticas más comunes. José Antonio Quintana López. Editorial Trillas

<https://avinews.com/determinacion-de-la-calidad-de-la-cascara/>

https://weblab.deusto.es/olarex/cd/UD/Incubator_ES_final/partes_del_huevo.html

11.0 CAMBIOS EN ESTA VERSIÓN

| Número de revisión | Fecha de la actualización | Descripción del cambio |
|--------------------|---------------------------|------------------------|
| No Aplica | No Aplica | No Aplica |

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Sívila Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Autorización | | HOJA: 1 DE: 3 |

El presente documento fue autorizado por el Comité de Mejora Regulatoria en la cuarta sesión extraordinaria de fecha 07/05/2024.

AUTORIZACIÓN

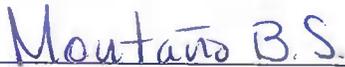
ELABORADO POR:



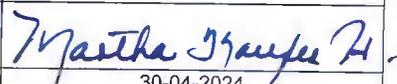
Dra. Silvia Carrillo Domínguez.
Jefa del Departamento de Nutrición Animal.



Q.F.B Margarita Díaz Martínez.
Investigadora Asociada.



Q.F.B. Sara Montaña Benavides.
Química.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Autorización | | HOJA: 3 DE: 3 |

AUTORIZADO POR:

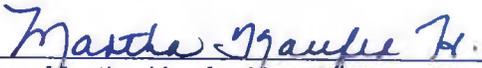
Martha Kaufer H.
 Dra. Martha Kaufer Horwitz.
 Directora de Nutrición.

[Signature]
 Dr. José Sifuentes Osornio.
 Director General.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|----------------------------|----------------------------|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: | <u>[Signature]</u> | <u>Martha Kaufer H.</u> | <u>Martha Kaufer H.</u> |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |

| | | | |
|---|---|---|---------------------------------|
|  | MANUAL DE PROCEDIMIENTOS TÉCNICOS |  | CÓDIGO: M.T./ 0.5.0.1 |
| | Departamento de Nutrición Animal Dr. Fernando Pérez-Gil Romo | | REV: 00 |
| | Autorización | | HOJA: 2 DE: 3 |

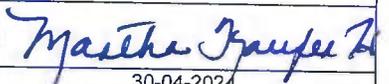
REVISADO POR:


 Dra. Martha Kaufer Horwitz.
 Directora de Nutrición.

REVISIÓN METODOLÓGICA:


 Mtra. Merit Fabiola Morales.
 Jefa del Departamento de Organización y Modernización Administrativa.


 Pas. L.I.A. Perla Donaji Cedillo Miralrio.
 Analista Especializado de Organización y Modernización.

| CONTROL DE EMISIÓN | | | |
|--------------------|---|--|---|
| | Elaboró: | Revisó: | Autorizó: |
| Nombre: | Dra. Silvia Carrillo Domínguez | Dra. Martha Kaufer Horwitz | Dra. Martha Kaufer Horwitz |
| Cargo-puesto: | Jefa del Departamento de Nutrición Animal | Directora de Nutrición | Directora de Nutrición |
| Firma: |  |  |  |
| Fecha: | 30-04-2024 | 30-04-2024 | 30-04-2024 |