

**NORMA
VENEZOLANA**

**COVENIN
948-83**

**ALIMENTOS.
DETERMINACION DE ARSENICO.**

(1^{ra.} REVISION)



PROLOGO

La presente norma sustituye a la Norma Venezolana COVENIN 948 Alimentos.
Determinación de arsénico del año 1977.

TRAMITE

COMITE: CT10 ALIMENTOS
PRESIDENTE: Dr. Horacio Rosales
SECRETARIA: Ing. Milagros Díaz
SUBCOMITE: CT10/SC2 ADITIVOS Y CONTAMINANTES
COORDINADORA: Lic. Omeira Guaita

PARTICIPANTES

ENTIDAD

MINISTERIO DE SANIDAD Y ASISTENCIA SOCIAL
DIVISION HIGIENE DE LOS ALIMENTOS
UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS
FACULTAD DE FARMACIA
FACULTAD DE AGRONOMIA
MINISTERIO DE AGRICULTURA Y CRIA
CENTRO TOXICOLOGICO DE SERVICIOS
DIVISION MEDICINA DEL TRABAJO (I.V.S.S.)
ESPECIALIDADES ALIMENTICIAS S.A. (ESPALSA)
CENTRO DE INVESTIGACIONES
FARMACEUTICAS Y ALIMENTARIAS
INSTITUTO NACIONAL DE HIGIENE "Rafael Rangel"
ASOCIACION NACIONAL DE INDUSTRIALES DE
LA CARNE (AICAR)
INSTITUTO NACIONAL DE NUTRICION

REPRESENTANTES

Ofelia Herrera
Ute Morris
Antonieta Roye de Algarbe
José Cegarra
Elsa Key
Fernando Asuaje
Beranice Chandler de García
Scarlett de Navarro
Peter Robl
Nelly Salas
Haydée Rosas de Figueroa
Gladys de Anderson
Milagros Polanco
Luis Heredia
José Félix Chávez

FUNDACION CENTRO DE INVESTIGACIONES
DEL ESTADO PARA LA PRODUCCION EXPE-
RIMENTAL AGROINDUSTRIAL

Reinaldo Lagonelli

CAMARA VENEZOLANA DE LA INDUSTRIA
DE ALIMENTOS (CAVIDEA)

Manuel Cole Páez

UNIVERSIDAD SIMON BOLIVAR

José Luis Vidaurreta

INDUSTRIAS SAVOY

Eduardo Corona

ALIVEN, S.A.

Ane Cristina de Rodríguez
Miraly Sánchez

DISCUSION PUBLICA

FECHA DE ENVIO: 07-07-81

DURACION: 45 días

FECHA DE APROBACION POR EL COMITE: 19-05-83

FECHA DE APROBACION POR LA COVENIN: 09-08-83

NORMA VENEZOLANA
ALIMENTOS
DETERMINACION DE ARSENICO

COVENIN
948-83
(1ra revisión)

1 NORMAS COVENIN A CONSULTAR

Esta norma es completa.

2 OBJETO Y CAMPO DE APLICACION

Esta norma contempla dos métodos de ensayo para la determinación de arsénico en alimentos.

3 METODOS DE ENSAYO

3.1 METODO -1-

3.1.1 Principio del ensayo

El método se basa en la reducción del arsénico en medio ácido con la formación de arsina, la absorción de la arsina en una solución de dietilditiocarbamato de plata en piridina y la medición fotométrica del color rojo púrpura producido por la plata dispersa en forma coloidal a una longitud de onda de 540 nm.

3.1.2 Equipo de ensayo

3.1.2.1 Aparato de generación de arsina (ver figura 1)

3.1.2.2 Desecador de vidrio, con aditamento para vacío, con gel de sílice como elemento desecante.

3.1.2.3 Kitasato de 500 ml.

3.1.2.4 Embudo filtrante. Tipo Buchner.

3.1.2.5 Espectrofotómetro, con celdas de 1 cm.

3.1.2.6 Plancha de calentamiento eléctrico, regulable.

3.1.2.7 Matraz Erlenmeyer, de 300 ml.

3.1.2.8 Pipetas graduadas, de 1,5 y 10 ml.

3.1.3 Reactivos

Todos los reactivos, y el zinc en particular, deberán estar libres de arsénico o tener un contenido muy bajo.

3.1.3.1 Acido perclórico al 70% (HClO_4). Debe manipularse con todas las precauciones necesarias.

3.1.3.2 Acido nítrico concentrado, (HNO_3) ($d = 1,42$ g/ml), para análisis.

3.1.3.3 Acido sulfúrico concentrado, (H_2SO_4) ($d = 1,84$ g/ml), para análisis.

3.1.3.4 Acido clorhídrico concentrado, (HCl) ($d = 1,19$ g/ml), para análisis.

3.1.3.5 Piridina anhidra para análisis ($d = 0,98$ g/ml). Debido a su toxicidad y olor desagradable se recomienda manipular con cuidado y bajo campana de extracción.

Nota 1: El Instituto de Investigaciones de Ciencia de los Alimentos propone: cloroformo conteniendo 0,51% de hexametilentetramina.

3.1.3.6 Zinc metálico en lentejas, (contenido máximo de arsénico: 15 g/100 g).

3.1.3.7 Trióxido de arsénico. Estándar primario (As_2O_3), secado a 105 °C durante una hora.

PRECAUCION: Es muy venenoso.

NOTA 2: Se recomienda usar trióxido de arsénico sublimado por ser más puro.

3.1.3.8 Acetato de plomo trihidratado, en cristales, para análisis $[\text{Pb}(\text{C}_2\text{H}_3\text{O}_2)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}]$.

3.1.3.9 Ioduro de potasio en cristales (KI) para análisis.

3.1.3.10 Cloruro estannoso en cristales (SnCl_2) para análisis.

3.1.3.11 Algodón hidrófilo.

3.1.3.12 Solución saturada de acetato de plomo. Se disuelven 17 g de acetato de plomo trihidratado en agua para obtener 100 ml de solución.

3.1.3.13 Solución saturada de yoduro de potasio. Se disuelven 15 g de KI en agua destilada para obtener 100 ml de solución.

3.1.3.14 Solución de cloruro estannoso. Se disuelven por calentamiento suave 40 g de SnCl_2 en 80 ml de HCl concentrado, se enfría y se completa a volumen de 100 ml con HCl concentrado.

3.1.3.15 Algodón con acetato de plomo. El algodón hidrófilo usado en medicina se embebe en una solución saturada de acetato de plomo, se deja escurrir el exceso de solución, se coloca extendido en un vidrio de reloj, o en una cápsula de Petri, y se seca en una estufa a 100°C, teniendo cuidado de retirarlo tan pronto esté seco. Si el algodón se torna amarillo por exceso de calentamiento se debe descartar. Se guarda en un desecador.

3.1.3.16 Dietilditiocarbamato de plata $\left[(\text{C}_9\text{H}_{22}\text{N}_2\text{S}) \text{Ag} \right]$

3.1.3.17 Solución de Dietilditiocarbamato de plata en Piridina.

a) Se disuelven 0,5 g de la sal de plata (3.1.3.16) en suficiente cantidad de piridina anhidra (3.1.3.5) para obtener 100 ml de solución. Esta solución es estable y se debe guardar en frasco ámbar. Se puede usar hasta 6 meses después de preparada.

b) El frasco usado y la pipeta de medición del reactivo deben estar completamente secos ya que si están húmedos se forma un compuesto de color rosado parecido a la arsina que impide la lectura en el espectrofotómetro.

3.1.3.18 Solución de hidróxido de sodio al 40%

3.1.3.19 Solución patrón de arsénico (1 mg/ml).

3.1.3.19.1 Se disuelven 1,320 gramos de trióxido de arsénico en 10 ml de solución de NaOH al 40% y luego se diluye con agua destilada hasta 1 litro.

3.1.19.2 A partir de ésta solución se preparan las diluciones requeridas.

NOTA: Estas soluciones deben prepararse diariamente
La solución patrón dura 1 mes aproximadamente.

3.1.4. Procedimiento

3.1.4.1 Preparación de la muestra.

3.1.4.1.1 Se pesa una cantidad adecuada de la muestra, de acuerdo al contenido aproximado de arsénico.

3.1.4.1.2 Se transfiere al matraz Erlenmeyer de 300 ml.

3.1.4.1.3 Se agregan 5 ml de ácido sulfúrico (3.1.3.3), 10 ml de ácido nítrico (3.1.3.2) y 6 gotas de ácido perclórico (3.1.3.1).

3.1.4.1.4 Se evapora en una plancha de calentamiento eléctrico hasta la aparición de humos de SO_3 .

3.1.4.1.5 Se enfría y si la solución aún no está incolora y transparente, se agregan 5 ml más de ácido nítrico (3.1.3.2), y se calienta nuevamente hasta la aparición de humos blancos.

3.1.4.1.6 Cuando la solución se haga incolora, se mantiene humeante 30 minutos más, para asegurar la total eliminación del ácido nítrico (3.1.3.2) y luego se deja enfriar.

3.1.4.1.7 Paralelamente a la muestra se prepara un blanco de reactivos con 20 ml de agua destilada, la cual se somete al proceso indicado anteriormente.

3.1.4.2 Determinación

3.1.4.2.1 Se añade a cada muestra 50 ml de agua destilada, 25 ml de ácido clorhídrico concentrado y 1 ml de solución de yoduro de potasio (KI). Se agita y se deja en reposo por 2 minutos.

3.1.4.2.2 Se añade luego a cada muestra 1 ml de solución de cloruro estannoso, se mezcla y se deja en reposo durante 15 minutos.

3.1.4.2.3 Se coloca una pequeña porción de algodón tratado con acetato de plomo (3.1.3.15) en el tubo de desprendimiento de la arsina (ver figura 1).

El tapón de algodón retiene el hidrógeno sulfurado (H_2S) que pueden desprender algunas muestras.

3.1.4.2.4 Se ensambla el aparato de generación de arsina y se coloca en el tubo de burbujeo 3 ml de solución de dietilditiocarbamato de plata en piridina.

3.1.4.2.5 Después que han transcurrido los 15 minutos de reposo (3.1.4.2.2.), se agrega al Erlenmeyer, en una sola operación 10 lentejas de zinc e inmediatamente se tapa.

3.1.4.2.6 Se deja generar durante 35 minutos o hasta que todo el zinc reaccione y luego se transfiere la solución a celdas de vidrio de 1 cm.

3.1.4.2.7 El color de la solución es estable en ausencia de la luz durante 2 h y las mediciones deben hacerse en este intervalo. Se lee la transmitancia o absorbancia de la solución a 540 nm.

3.1.4.3 Preparación de la curva patrón

3.1.4.3.1 A partir de la solución de arsénico (3.1.3.19) se prepara una serie de diluciones que contengan 0,2,4,6,8, 10, y 14 microgramos de arsénico respectivamente, y se sigue el procedimiento descrito en el punto 3.1.4.2.

3.1.4.3.2 Se lee la transmitancia de las diferentes diluciones (0, 2, 4, 6, 8, 10, 12 y 14) a 540 nm en celdas de vidrio de 1 cm.

3.1.4.3.3 Con los valores de absorbancia obtenidos para los patrones se construye un gráfico de absorbancia contra microgramos de arsénico en papel milimetrado. Si las lecturas son en porcentaje de transmitancia se usa papel semilogarítmico y se grafica T sobre la escala logarítmica.

3.1.5 Expresión de los resultados

3.1.5.1 Con los valores de las lecturas obtenidas para la muestra y mediante la curva patrón, se determina la concentración de arsénico correspondiente.

3.1.5.2 El contenido de arsénico presente en la muestra se calcula mediante la siguiente expresión:

$$\frac{\mu\text{g Arsénico}}{100 \text{ g muestra}} = \frac{C}{P} \times 100$$

Donde:

C = Concentración de arsénico en la muestra determinada a partir de la curva patrón, en microgramos.

P = Masa de la muestra, en gramos.

3.2 METODO -2-

3.2.1 Principio del ensayo

Este método se basa en la disolución de la muestra con ácido clorhídrico y adición de borohidruro de sodio, el cual origina el desprendimiento de Arsina (AsH_3), la cual es liberada en la llama de un espectrofotómetro de absorción atómica. En el caso de muestras que contengan materias orgánicas, es necesario un proceso de digestión previo, con ácido nítrico.

3.2.2 Equipo de ensayo.

- 3.2.2.1 Espectrofotómetro de absorción atómica con sus aditamentos.
- 3.2.2.2 Envase de reacción, de teflón con una manta de acero inoxidable.
- 3.2.2.3 Matraces de reducción (matraces Erlenmeyers con cuello esmerilado).
- 3.2.2.4 Micropipetas, de 20 50 y 100 μ l.
- 3.2.2.5 Cilindros graduados, de 5,25, 50 y 100 ml.
- 3.2.2.6 Matraces aforados, de 100 y 1000 ml.
- 3.2.2.7 Pipetas, de 2 y 10 ml.
- 3.2.2.8 Frascos de polietileno, de 100 y 1000 ml.

Nota: Estos frascos deberán ser tratados con ácido nítrico por algunas horas y lavado con agua destilada.

- 3.2.2.9 Balanza analítica, con precisión de 0,001 g.
- 3.2.2.10 Baño - maría.
- 3.2.2.11 Mortero.
- 3.2.3 Reactivos
 - 3.2.3.1 Acido nítrico concentrado (HNO_3 65% de pureza) ($d = 1,40$ g/ml), para análisis.
 - 3.2.3.2 Acido clorhídrico concentrado (HCl , min 37% de pureza) ($d = 1,19$ g/ml) , para análisis.
 - 3.2.3.3 Solución de ácido clorhídrico (4,5 M). Se transfieren 375 ml de ácido clorhídrico (3.2.3.2), a un matraz de 1000 ml y se lleva a volumen con agua destilada.
 - 3.2.3.4 Borohidruro de sodio (NaBH_4), en pastillas.
 - 3.2.3.5 Trióxido de arsénico (As_2O_3), para análisis.

3.2.3.6 Solución patrón de arsénico ($500 \mu\text{g/ml}$).

Se pesan 0,660 g de trióxido de arsénico (3.2.3.5), se llevan a un matraz aforado de 1000 ml, se añaden 25 ml de ácido clorhídrico (3.2.3.2) y se lleva a volumen con agua destilada.

3.2.3.7 Solución de Trabajo ($10 \mu\text{g/ml}$).

Se añaden 2 ml de la solución patrón (3.2.3.6) en un matraz aforado de 100 ml y se lleva a volumen con agua destilada.

NOTA: Estas soluciones deben conservarse en frascos de polietileno.

3.2.4 Procedimiento

3.2.4.1 En el caso de muestras con materia orgánica presente se sigue de la siguiente forma:

3.2.4.1.1 Digestión

- a) Se pesan exactamente 0,500 g de muestra en un envase de teflón.
- b) Se añaden 3 ml de ácido nítrico (3.2.3.1), se introduce el envase en una manta de acero inoxidable, se tapa con una lámina de aluminio y se deja toda la noche a temperatura ambiente.
- c) Al día siguiente se tapa el envase y se coloca en un baño de agua hirviendo, de tal manera que solamente la parte inferior esté en el agua.
- d) Se calienta durante 15-20 min, preferiblemente bajo campana de extracción y se deja enfriar a temperatura ambiente.
- e) Se abre el envase y se transfiere el contenido cuantitativamente a un matraz de reducción (A) (ver figura 2), lavado el envase con agua destilada.
- f) Se añaden 18 ml de ácido clorhídrico (3.2.3.2) y se diluye con 50 ml de agua destilada.

3.2.4.2 En el caso de muestras que no tienen materia orgánica presente ej: Sales minerales y otras sustancias tales como: ácido cítrico, láctico, tartárico y sus sales, azúcares, úrea etc, la digestión no es necesaria, en este caso se sigue de la siguiente forma:

a) Se pesan exactamente 1,000 g de muestra, se introduce en un matraz de reducción (A) (ver figura 2) y se diluye con 50 ml de solución de ácido clorhídrico (3.2.3.3).

3.2.4.3 Preparación de la curva patrón.

3.2.4.3.1 En una serie de matraces de reducción (A) (ver figura 2) se añaden 0; 20; 50; 100 y 150 μ l respectivamente de la solución de trabajo (3.2.3.7) y 50 ml de la solución de ácido clorhídrico (3.2.3.3), estos volúmenes corresponden a 0; 0,2; 0,5; 1,0 y 1,5 μ g de arsénico respectivamente. Si la muestra ha sido digerida se añaden adicionalmente 3 ml de ácido nítrico (3.2.3.1) en cada matraz.

3.2.4.4 Determinación

3.2.4.4.1 Se instala el sistema de acuerdo a las instrucciones del equipo (ver figura 2).

3.2.4.4.2 Se sustituye el aire en el matraz y en el bulbo por Argón y se abre la llave de 4 pasos (B) por 30 seg. (ver figura 2).

3.2.4.4.3 Se introduce una pastilla de borohidruro de sodio (3.2.3.4) en la llave C (ver figura 2).

3.2.4.4.4 Se gira la llave para dejar caer la pastilla en la solución, se agita manualmente o con un agitador magnético, se deja reaccionar y se libera el gas del bulbo a la llama por medio de la llave de 4 pasos (B) (ver figura 2). Se observa una llama amarillenta.

Estas condiciones varían de acuerdo al equipo utilizado.

3.2.5 Expresión de resultados

3.2.5.1 Generalmente no es necesario calcular el contenido exacto de arsénico, es suficiente comparar las alturas de los picos de la muestra y del patrón registrados $>0,5 \mu\text{g/ml}$ ó $<1 \mu\text{g/ml}$.

NOTA: Si el pico de la muestra es mayor de $1 \mu\text{g}$ de arsénico, la determinación debe repetirse con una muestra más pequeña.

3.2.5.2 Si es necesario determinar el contenido exacto, se utiliza la curva patrón (3.2.4.3), y mediante la siguiente fórmula:

$$\mu\text{g/ml As} = L \times 2$$

Donde:

L = lectura en la curva patrón en μg de arsénico presente en 0,5 g de muestra.

Los resultados se expresan con 2 cifras significativas o con 2 decimales.

3.2.5.3 La diferencia entre los resultados de dos determinaciones efectuadas por el mismo analista con la misma muestra no debe exceder de $0,1 \mu\text{g/ml}$ en un rango de 0,1 - 2,0 $\mu\text{g/ml}$.

4 INFORME

El informe del ensayo debe contener como mínimo la siguiente información:

4.1 Ensayo realizado según la Norma COVENIN Nº 948.

4.2 Fecha en la cual se realizó el ensayo

4.3 Identificación de la muestra

4.4 Resultados del ensayo

4.5 Observaciones

4.6 Realizado por:

BIBLIOGRAFIA

- Nitric Acid mineralization of foodstuffs in closed Teflon lined vessels. T-Lab. Contr. Be/ba/Mc 28.4.1976
- ISO 2590-73 (International Organization for Standardization).



FIGURA 1
ESQUEMA DE UN VASO DE LABORATORIO

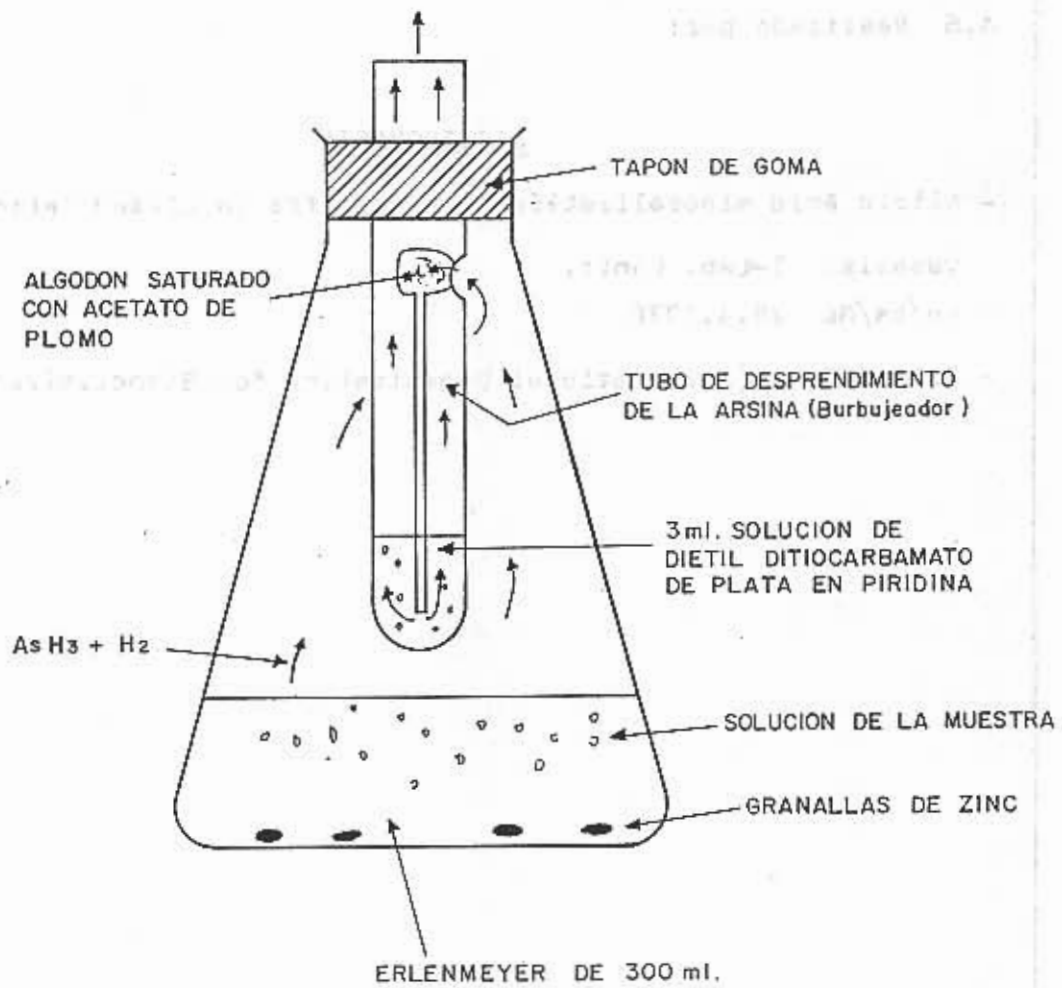
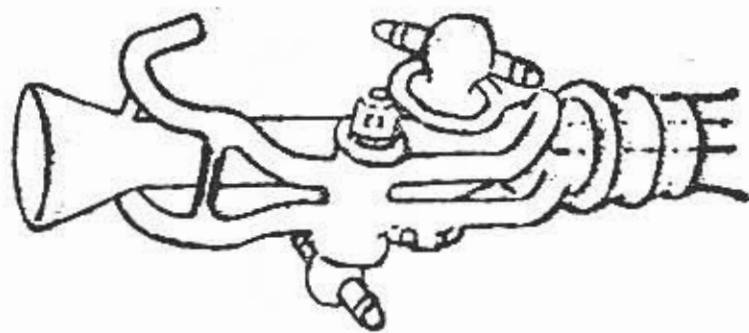
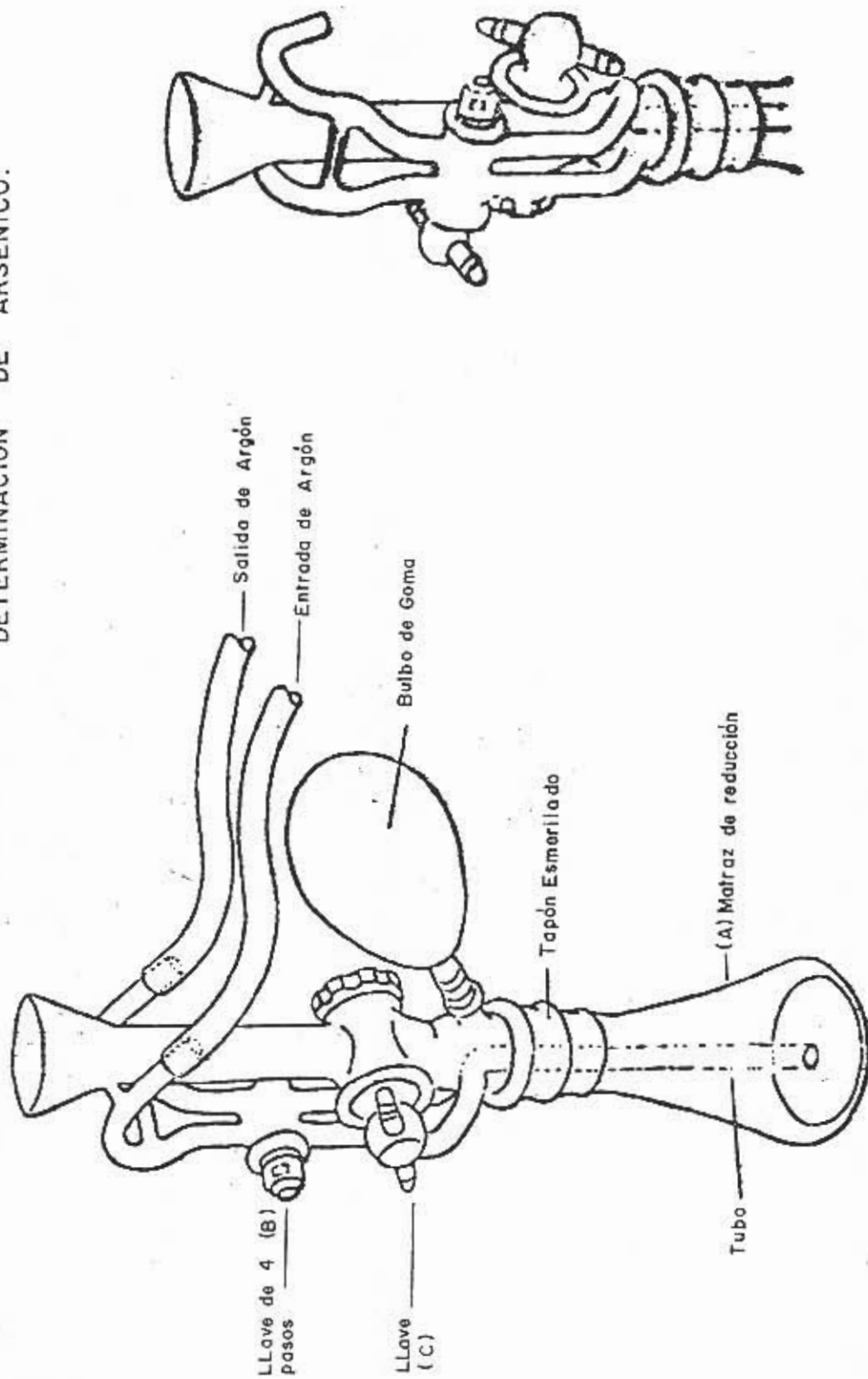


FIGURA I
 SISTEMA DE GENERACION DE ARSINA

FIGURA. 2 MODELO DE ACCESORIO PARA LA DETERMINACION DE ARSENICO.



COVENIN
948-83

CATEGORIA
C

**COMISION VENEZOLANA DE NORMAS INDUSTRIALES
MINISTERIO DE FOMENTO**

Av. Andrés Bello Edif. Torre Fondo Común Pisos 11 y 12

Telf. 575. 41. 11 Fax: 574. 13. 12

CARACAS

publicación de:



CDU : 641 : 546.19 : 543.42

RESERVADOS TODOS LOS DERECHOS .
Prohibida la reproducción total o parcial, por cualquier medio.
