



PROGRAMA CONJUNTO FAO/OMS SOBRE NORMAS ALIMENTARIAS COMITÉ DEL CODEX SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS Y TOMA DE MUESTRAS

Cuadragésima primera reunión
Budapest (Hungría), 11-15 de mayo de 2020

RATIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE ANÁLISIS Y MUESTREO PARA LAS DISPOSICIONES DE LAS NORMAS DEL CODEX

1. En el presente documento figuran los métodos de análisis (Apéndices I, II, III y IV) propuestos por los comités siguientes:

- Comité Coordinador FAO/OMS para África (métodos de análisis para las disposiciones del Anteproyecto de norma para la carne seca)
- Comité Coordinador FAO/OMS para América del Norte y el Pacífico Sudoccidental (métodos de análisis para las disposiciones del Anteproyecto de norma regional para el zumo [jugo] fermentado de fruto de noni y el Anteproyecto de norma regional para los productos a base de kava que se utilizan como bebida mezclados con agua)
- Comité Coordinador FAO/OMS para el Cercano Oriente (métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma regional para la mezcla *zaatar*)

y

- Comité del Codex sobre Nutrición y Alimentos para Regímenes Especiales (métodos de análisis para las disposiciones de la Norma para preparados para lactantes y preparados para usos medicinales especiales destinados a los lactantes)

COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA ÁFRICA (23.ª reunión del CCAFRICA)¹

Métodos de análisis para las disposiciones del Anteproyecto de norma para la carne seca

2. **Se invita** al Comité **a ratificar** los métodos de análisis del Apéndice I.

COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA AMÉRICA DEL NORTE Y EL PACÍFICO SUDOCCIDENTAL

(15.ª reunión del CCNASWP)²

Métodos de análisis para las disposiciones del Anteproyecto de norma regional para el zumo [jugo] fermentado de fruto de noni y el Anteproyecto de norma regional para los productos a base de kava que se utilizan como bebida mezclados con agua

3. **Se invita** al Comité **a ratificar** los métodos de análisis del Apéndice II.

COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA EL CERCANO ORIENTE (10.ª reunión del CCNE)³

*Métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma regional para la mezcla *zaatar**

4. **Se invita** al Comité **a ratificar** los métodos de análisis del Apéndice III.

COMITÉ DEL CODEX SOBRE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS PARA REGÍMENES ESPECIALES (41.ª reunión del CCNFSDU)

Métodos de análisis para las disposiciones de la Norma para preparados para lactantes y preparados para usos medicinales especiales destinados a los lactantes (CXS 72-1981)⁴

¹ REP20/AFRICA, párr. 102 ii) y Apéndice V

² REP20/NASWP, párrs. 83 ii), 96 iii) y Apéndices II, III

³ REP20/NE, párr. 87 ii) y Apéndice IV

⁴ REP20/NFSDU, párr. 197

5. El Comité acordó remitir al CCMAS los métodos para la tiamina, la riboflavina, la niacina, la vitamina B₆, la colina, la carnitina, el betacaroteno, el licopeno, los fructanos y la biotina para su examen, ratificación e inclusión en los *Métodos de análisis y de muestreo recomendados* (CXS 234-1999), y solicitó a dicho Comité que clasificara de nuevo los métodos de Tipo II vigentes para los mencionados nutrientes como Tipo III en la Norma CXS 234-1999; e informó al CCMAS de que podía incluir el método AOAC 2011.14/ISO 15151|IDF 229 para el calcio, el cobre, el hierro, el magnesio, el manganeso, el fósforo, el potasio, el sodio y el zinc como métodos de Tipo III en el documento CXS 234-1999.

6. **Se invita** al Comité **a ratificar** los métodos de análisis y estudiar la posibilidad de clasificar de nuevo los métodos vigentes del Apéndice IV.

APÉNDICE I

COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA ÁFRICA (23.ª reunión del CCAFRICA)***Métodos de análisis para las disposiciones del Anteproyecto de norma para la carne seca*****10. MÉTODOS DE ANÁLISIS Y MUESTREO**

Método	Título	PRINCIPIOS	TIPO
AOAC 988.05	Determinación del contenido de humedad	Gravimetría	I
ISO 1443 (AOAC 960.39)	Determinación de la materia grasa cruda	Gravimetría	I
AOAC 928.08	Determinación de la proteína bruta	Kjeldhal	II
ISO 937	Determinación de la proteína bruta	Valorimetría	II
ISO 1841-1 e ISO 1841-2	Determinación de la sal comestible	Método potenciométrico o de Volhard	II
AOAC 940.26	Determinación del contenido de ceniza	Gravimetría	I
ISO 18787	Determinación de la actividad del agua	Método potenciométrico	II

APÉNDICE II

COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA AMÉRICA DEL NORTE Y EL PACÍFICO SUDOCCIDENTAL***(15.ª reunión del CCNASWP)******Métodos de análisis para las disposiciones del Anteproyecto de norma regional para el zumo [jugo] fermentado de fruto de noni*****10. MÉTODOS DE ANÁLISIS Y MUESTREO****10.1 Métodos de análisis**

Disposición	Método	Principio	Tipo	Notas
Valor Brix	AOAC 983.17	Refractometría	I	Aprobado para jugos y néctares de frutas
Valor de pH	NMKL 179	Potenciometría	II	Aprobado para jugos y néctares de frutas
Etanol	IFUMA 52	Determinación enzimática	II	Aprobado para jugos y néctares de frutas
Identificación de la escopoletina	Anexo A*	Cromatografía en capa fina	IV	
Identificación del ácido deacetilasperulosídico	Anexo B*	Cromatografía en capa fina	IV	

ANEXO A

IDENTIFICACIÓN DE LA ESCOPOLETINA**1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

- 1.1 Se machaca el fruto de noni. Se extraen dos gramos de fruto machacado dos veces con 125 ml de metanol. El extracto de metanol se concentra mediante evaporación al vacío del solvente. A continuación, el extracto se vuelve a disolver en una pequeña cantidad de metanol, por ejemplo, 10 ml.
- 1.2 El jugo de noni se pasa por un filtro de membrana de 0,45 µm y, a continuación, se purifica por extracción en fase sólida con cartuchos de extracción Waters OASISS® o cartuchos de extracción en fase sólida similares. [Los cartuchos de extracción en fase sólida se equilibran con agua y luego metanol. A continuación, las muestras se cargan en el cartucho y se lavan con metanol al 5 %, seguido de metanol al 100 %. El eluido de metanol queda retenido para el análisis por cromatografía en capa fina.]
- 1.3 Se extrae 1 g de fruto de noni en polvo con 5 ml de metanol. El extracto de metanol se filtra y evapora hasta que esté seco al vacío y a 50 °C. El extracto se disuelve en un 1 ml de metanol.

2. PREPARACIÓN DE LA REFERENCIA

- 2.1 Se prepara una referencia disolviendo 1 mg de escopoletina en 1 ml de metanol.
- 2.2 De manera alternativa, el material vegetal de referencia certificado de *Morinda citrifolia* se puede preparar de la misma forma que las muestras que se van a analizar. El material de referencia certificado de *Morinda citrifolia* debería proceder de la misma parte de la planta que las muestras objeto de análisis.

3. IDENTIFICACIÓN**3.1 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**

Ponga 5 µL de las soluciones de muestra y de la solución de referencia en una placa de gel de sílice [60 F254] para cromatografía en capa fina, secada previamente a 110 °C durante 15 minutos en un horno de secado. [Eluya la placa con una fase móvil que contenga una solución más baja de diclorometano y metanol (19:1, v/v).] Observe los colores azules fluorescentes brillantes en la placa bajo una lámpara ultravioleta de 365 nm. Identifique la escopoletina en las muestras comparando los colores y los valores del factor de retención con la referencia.

REFERENCIAS

1. Deng S, West BJ, Jensen J. A Quantitative Comparison of Phytochemical Components in Global Noni Fruits and Their Commercial Products. *Food Chemistry* 2010, 122 (1): 267-270.
2. Potterat O, et al. Identification of TLC markers and quantification by HPLC-MS of various constituents in noni fruit powder and commercial noni-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55(18):7489–7494.
3. Basar S, Westendorf J. Identification of (2E, 4Z, 7Z)-Decatrienoic Acid in Noni Fruit and Its Use in Quality Screening of Commercial Noni Products. *Food Analytical Methods* 2011, 4(1):57-65. DOI: 10.1007/s12161-010-9125-9.
4. Chan-Blanco Y, et al. The ripening and aging of noni fruits (*Morinda citrifolia* L.): microbiological flora and antioxidant compounds. *Journal of the Science of Food and Agriculture* 2007, 87:1710 – 1716.
5. West BJ, Deng S. Thin layer chromatography methods for rapid identity testing of *Morinda citrifolia* L. (noni) fruit and leaf. *Advance Journal of Food Science and Technology* 2010, 2(5):298-302.

ANEXO B**IDENTIFICACIÓN DEL ÁCIDO DEACETILASPERULOSÍDICO****1. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS**

- 1.1 Se machaca el fruto de noni. Se extraen dos gramos de fruto machacado dos veces con 125 ml de metanol. El extracto de metanol se concentra mediante evaporación al vacío del solvente. A continuación, el extracto se vuelve a disolver en una pequeña cantidad de metanol, por ejemplo, 10 ml.
- 1.2 El jugo de noni se pasa por un filtro de membrana de 0,45 µm y, a continuación, se purifica por extracción en fase sólida con cartuchos de extracción Waters OASISS® o cartuchos de extracción en fase sólida similares. [Los cartuchos de extracción en fase sólida se equilibran con agua y luego metanol. A continuación, las muestras se cargan en el cartucho y se lavan con metanol al 5 %, seguido de metanol al 100 %. El eluido de metanol queda retenido para el análisis por cromatografía en capa fina.]
- 1.3 Se extrae 1 g de fruto de noni en polvo con 5 ml de metanol. El extracto de metanol se filtra y evapora hasta que esté seco al vacío y a 50 °C. El extracto se disuelve en un 1 ml de metanol.

2. PREPARACIÓN DE LA REFERENCIA

- 2.1 Se prepara una referencia disolviendo 1 mg de ácido deacetilasperulosídico en 1 ml de metanol.
- 2.2 De manera alternativa, el material vegetal de referencia certificado de *Morinda citrifolia* se puede preparar de la misma forma que las muestras que se van a analizar. El material de referencia certificado de *Morinda citrifolia* debería proceder de la misma parte de la planta que las muestras objeto de análisis.

3. IDENTIFICACIÓN**3.1 CROMATOGRAFÍA EN CAPA FINA**

Ponga 5 µL de las soluciones de muestra y de la solución de referencia en una placa de gel de sílice [60 F254] para cromatografía en capa fina, secada previamente a 110 °C durante 15 minutos en un horno de secado. [Eluya la placa con una fase móvil que contenga una solución más baja de diclorometano, metanol y agua (13:6:1, v/v/v).] Rocíe la placa con una solución de anisaldehído al 2 % y ácido sulfúrico y etanol al 10 % y después caliéntela en el horno a 110 °C durante un minuto para revelar el color azul. Identifique el ácido deacetilasperulosídico en las muestras comparando los colores y los valores del factor de retención con la referencia.

REFERENCIAS

1. Potterat O, et al. Identification of TLC markers and quantification by HPLC-MS of various constituents in noni fruit powder and commercial noni-derived products. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 2007, 55(18):7489–7494.
2. Deng S, et al. Determination and comparative analysis of major iridoids in different parts and cultivation sources of *Morinda citrifolia*. *Phytochemical Analysis* 2011, 22(1):26-30.
3. West BJ, Deng S. Thin layer chromatography methods for rapid identity testing of *Morinda citrifolia* L. (noni) fruit and leaf. *Advance Journal of Food Science and Technology* 2010, 2(5):298-302.

Métodos de análisis para las disposiciones del Anteproyecto de norma regional para los productos a base de kava que se utilizan como bebida mezclados con agua

8. MÉTODOS DE ANÁLISIS Y MUESTREO

Disposición	Método	Principio	Tipo
Variedades nobles de kava	<p>Lebot V. y Legendre L. (2016). Comparison of kava (<i>Piper methysticum</i> Forst.) varieties by UV absorbance of acetonic extracts and high-performance thin-layer chromatography. <i>Journal of Food Composition and Analysis</i>, 48: 25-33. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.009.</p> <p>Lebot V., Michalet S. y Legendre L. (2019). Kavalactones and flavokavins profiles contribute to quality assessment of kava (<i>Piper methysticum</i> G. Forst.), the traditional beverage of the Pacific. <i>Beverages</i>, 2019, 5: 34. Disponible en: https://doi.org/10.3390/beverages5020034.</p>	<p>Cromatografía en capa fina de alto rendimiento</p> <p>o absorbencia ultravioleta de extractos acetónicos determinada a 440 nm (0,9 o inferior)</p>	IV
Humedad	The Fiji Kava Standard 2017 . Sección 8.1.	Gravimetría	I
[Flavokavinas	<p>Lebot V. y Legendre L. (2016). Comparison of kava (<i>Piper methysticum</i> Forst) varieties by UV absorbance of acetonic extracts and high-performance thin-layer chromatography. <i>Journal of Food Composition and Analysis</i>, 48: 25-33. Disponible en: http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.009.</p> <p>Lebot V., Michalet S. y Legendre L. (2019). Kavalactones and flavokavins profiles contribute to quality assessment of kava (<i>Piper methysticum</i> G. Forst.), the traditional beverage of the Pacific. <i>Beverages</i>, 2019, 5: 34. Disponible en: https://doi.org/10.3390/beverages5020034.</p>	<p>Cromatografía en capa fina de alto rendimiento</p> <p>o absorbencia ultravioleta de extractos acetónicos determinada a 440 nm (0,9 o inferior)]</p>	IV

APÉNDICE III

COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA EL CERCANO ORIENTE (10.ª reunión del CCNE)**Métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma regional para la mezcla zaatar****8. MÉTODOS DE ANÁLISIS Y MUESTREO**

Disposición	Método	Principio	Tipo*
Cloruro de sodio	AOAC 960.29	Valorimetría (Mohr: determinación de cloruro, expresado como cloruro de sodio)	
Humedad	AOAC 925.10	Gravimetría (secado a 130 °C)	
Cenizas insolubles en ácido	AOAC 941.12	Gravimetría, horno a 550°C (para el residuo quemado insoluble en HCl)	
Materias extrañas	ISO 927	Examen visual seguido de volumetría	I
Materias foráneas	ISO 927	Examen visual seguido de volumetría	I
Insectos/excrementos/fragmentos de insectos	Método apropiado para la especia en particular de la AOAC, capítulo 16, sección 14]NIMF 08 Determinación de la situación de una plaga en un área [Examen visual	IV
Daños por moho	Método V-8: Especias, condimentos, sabores y drogas crudas (Manual de procedimientos macroanalíticos, Boletín técnico de la Administración de Medicamentos y Alimentos de los Estados Unidos de América [FDA], número 5)	Examen visual (para el producto entero)	IV
Excrementos de mamíferos	Manual de procedimientos macroanalíticos, Boletín técnico de la FDA, V.39 B (para enteros)	Examen visual	IV
Otros excrementos	AOAC 993.27 (para el producto molido)	Método de detección enzimática	IV

APÉNDICE IV

**COMITÉ DEL CODEX SOBRE NUTRICIÓN Y ALIMENTOS PARA REGÍMENES ESPECIALES
(41.ª reunión del CCNFSU)****Métodos de análisis para preparados para lactantes**

Producto	Disposición	Método	Principio	Tipo propuesto
Preparados para lactantes	Tiamina	AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470	Digestión enzimática y cromatografía de líquidos - espectrometría de masas/Espectrometría de masas (LC-MS/MS)	II
		EN 14122	Cromatografía de líquidos de alto rendimiento (HPLC) con derivación previa o posterior de la columna a tiocromo	II III
		AOAC 986.27	Fluorimetría	III
	Riboflavina	AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470	Digestión enzimática y LC-MS/MS	II
		EN 14152	HPLC	II III
		AOAC 985.31	Fluorimetría	III
	Niacina	AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470	Digestión enzimática y LC-MS/MS	II
		EN 15652	HPLC	II III
		AOAC 985.34	Micro-bioensayo y turbidimetría	III
	Vitamina B ₆	AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470	Digestión enzimática y LC-MS/MS	II
		AOAC 2004.07 / EN 14164	HPLC	II III
		AOAC 985.32	Micro-bioensayo	III
		EN 14166	Micro-bioensayo	III
	Colina	AOAC 2015.10 / ISO DIS 21468	LC-MS/MS	II
		AOAC 999.14	Método enzimático de colorimetría con limitaciones en cuanto a la aplicabilidad debido a la concentración de colina y ascorbato	II III
	Carnitina	AOAC 2015.10 / ISO DIS 21468	LC-MS/MS	II
	Fructanos	AOAC 2016.14 / ISO DIS 22579 IDF 241	Digestión enzimática con HPAEC-PAD	II
	Betacaroteno	AOAC 2016.13 / ISO DIS 23443	HPLC	II
	Licopeno	AOAC 2016.13 / ISO DIS 23443	HPLC	II
	Biotina	AOAC 2016.02 / ISO 23305	HPLC-UV	II
EN 15607		HPLC-fluorescencia	III	