



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

### Cuadragésima primera reunión Virtual

17-21 y 25 de mayo de 2021

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

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

- Comité Coordinador FAO/OMS para África (métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma para la carne seca) (aprobado en el trámite 5 por la Comisión del Codex Alimentarius [CAC] en su 43.º período de sesiones)
- Comité Coordinador FAO/OMS para América del Norte y el Pacífico Sudoccidental (métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma regional para el zumo [jugo] fermentado de fruto de noni y la Norma regional para los productos a base de kava que se utilizan como bebida mezclados con agua) (aprobados en el trámite 5 y el trámite 5/8, respectivamente, por la CAC en su 43.º período de sesiones)
- Comité Coordinador FAO/OMS para el Cercano Oriente (métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma regional para la mezcla *zaatar*) (aprobado en el trámite 5 por la CAC en su 43.º período de sesiones)
- 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* [CXS 72-1981])
- Comité del Codex sobre Frutas y Hortalizas Elaboradas (métodos de análisis y planes de muestreo de la Norma para el *gochujang*, la Norma para la salsa de ají (chiles), la revisión de la *Norma para la salsa picante de mango* [CXS 160-1987], la Norma general para las frutas desecadas y la Norma general para las mezclas de frutas en conserva) (aprobadas en el trámite 5/8 por la CAC en su 43.º período de sesiones)

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

##### *Métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto 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)<sup>2</sup>

##### *Métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma regional para el zumo [jugo] fermentado de fruto de noni y la 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.

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

<sup>2</sup> REP20/NASWP, párrs. 83 ii), 96 iii) y apéndices II, III

**COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA EL CERCANO ORIENTE (10.ª reunión del CCNE)<sup>3</sup>*****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 RÉGIMENES ESPECIALES (41.ª reunión del CCFSDU)<sup>4</sup>*****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)***

5. El Comité acordó remitir al CCMAS los métodos para la tiamina, la riboflavina, la niacina, la vitamina B<sub>6</sub>, 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.

**COMITÉ DEL CODEX SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS ELABORADAS (29.ª reunión del CCPFV)<sup>5</sup>**

7. **Se invita** al Comité **a ratificar o confirmar la ratificación** de los métodos de análisis y planes de muestreo para las disposiciones de la Norma para el *gochujang*, la Norma para la salsa de ají (chiles), la *Norma para la salsa picante de mango* (CXS 160-1987), la Norma general para las frutas desecadas y la Norma general para las mezclas de frutas en conserva, que se presentan en el Apéndice V.

---

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

<sup>4</sup> REP20/NFSDU, párr. 197

<sup>5</sup> REP20/PFV párrs. 14, 16, 18, 22, 27 y apéndices II, III, IV, V y VI

## APÉNDICE I

**COMITÉ COORDINADOR FAO/OMS PARA ÁFRICA (23.ª reunión del CCAFRICA)*****Métodos de análisis para las disposiciones del Proyecto de norma para la carne seca***

<b>Método</b>	<b>Título</b>	<b>Principios</b>	<b>Tipo</b>
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 Proyecto de norma regional para el zumo [jugo] fermentado de fruto de noni**

Disposición	Método	Principio	Tipo	Notas
Valor Brix	AOAC 983.17	Refractometría	I	Aprobado para zumos (jugos) y néctares de frutas
Valor de pH	NMKL 179	Potenciometría	II	Aprobado para zumos (jugos) y néctares de frutas
Etanol	IFUMA 52	Determinación enzimática	II	Aprobado para zumos (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	

\* En cumplimiento con los criterios generales para laboratorios de ensayo que figuran en la Guía ISO/IEC 17025:2017

## 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 de la Norma regional para los productos a base de kava que se utilizan como bebida mezclados con agua**

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 acetonc extracts and high-performance thin-layer chromatography. <i>Journal of Food Composition and Analysis</i>, 48: 25-33. Disponible en: <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.009">http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.009</a>.</p> <p>y</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: <a href="https://doi.org/10.3390/beverages5020034">https://doi.org/10.3390/beverages5020034</a>.</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	<a href="#">The Fiji Kava Standard 2017</a> . 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 acetonc extracts and high-performance thin-layer chromatography. <i>Journal of Food Composition and Analysis</i>, 48: 25-33. Disponible en: <a href="http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.009">http://dx.doi.org/10.1016/j.jfca.2016.01.009</a>.</p> <p>y</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: <a href="https://doi.org/10.3390/beverages5020034">https://doi.org/10.3390/beverages5020034</a>.</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**

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	<b>AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470</b>	<b>Digestión enzimática y cromatografía de líquidos - espectrometría de masas/Espectrometría de masas (LC-MS/MS)</b>	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	<b>AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470</b>	<b>Digestión enzimática y LC-MS/MS</b>	II
		EN 14152	HPLC	II III
		AOAC 985.31	Fluorimetría	III
	Niacina	<b>AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470</b>	<b>Digestión enzimática y LC-MS/MS</b>	II
		EN 15652	HPLC	II III
		AOAC 985.34	Micro-bioensayo y turbidimetría	III
	Vitamina B <sub>6</sub>	<b>AOAC 2015.14 / ISO DIS 21470</b>	<b>Digestión enzimática y LC-MS/MS</b>	II
		AOAC 2004.07 / EN 14164	HPLC	II III
		AOAC 985.32	Micro-bioensayo	III
		EN 14166	Micro-bioensayo	III
	Colina	<b>AOAC 2015.10 / ISO DIS 21468</b>	<b>LC-MS/MS</b>	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	<b>AOAC 2015.10 / ISO DIS 21468</b>	<b>LC-MS/MS</b>	II
	Fructanos	<b>AOAC 2016.14 / ISO DIS 22579   IDF 241</b>	<b>Digestión enzimática con HPAEC-PAD</b>	II
	Betacaroteno	<b>AOAC 2016.13 / ISO DIS 23443</b>	<b>HPLC</b>	II
Licopeno	<b>AOAC 2016.13 / ISO DIS 23443</b>	<b>HPLC</b>	II	
Biotina	<b>AOAC 2016.02 / ISO 23305</b>	HPLC-UV	II	
	EN 15607	HPLC-fluorescencia	III	

## APÉNDICE V

**COMITÉ DEL CODEX SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS ELABORADAS (29.ª reunión del CCPFV)****Métodos de análisis para las disposiciones de la Norma para el gochujang**

**Nota:** La *Norma regional para el gochujang* (CXS 294R-2009) ha sido convertida en una norma mundial. Por consiguiente, la *Norma regional para el gochujang* (CXS 294R-2009) ha sido revocada.

Las disposiciones relativas a los métodos de análisis de la *Norma para el gochujang* habían sido ratificadas previamente y están incluidas en la Norma CXS 234.

Disposición	Método	Principio	Tipo
Capsaicina	AOAC 995.03	HPLC	II
Capsaicina	Descrito en la Norma (Anexo I)	Cromatografía de gases	IV
Proteína cruda	AOAC 984.13 (Factor de conversión del nitrógeno: 6,25).	Kjeldahl	I
Humedad	AOAC 934.01 ( $\leq 70^{\circ}\text{C}$ , $\leq 50$ mm Hg))	Gravimetría	I

Plan de muestreo

## PLAN DE MUESTREO 1

(Nivel de inspección I, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LB)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	6	1
4 801 – 24 000	13	2
24 001 - 48 000	21	3
48 001 - 84 000	29	4
84 001 - 144 000	38	5
144 001 - 240 000	48	6
más de 240 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LB) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LB)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
2 400 o menos	6	1
2 401 - 15 000	13	2
15 001 - 24 000	21	3
24 001 - 42 000	29	4
42 001 - 72 000	38	5
72 001 - 120 000	48	6
más de 120 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS).</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
600 o menos	6	1
601 - 2 000	13	2
2 001 - 7 200	21	3
7 201 - 15 000	29	4
15 001 - 24 000	38	5
24 001 - 42 000	48	6
más de 42 000	60	7

## PLAN DE MUESTREO 2

(Nivel de inspección II, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LB)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	13	2
4 801 - 24 000	21	3
24 001 - 48 000	29	4
48 001 - 84 000	38	5
84 001 - 144 000	48	6
144 001 - 240 000	60	7
más de 240 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LB) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LB)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
2 400 o menos	13	2
2 401 - 15 000	21	3
15 001 - 24 000	29	4
24 001 - 42 000	38	5
42 001 - 72 000	48	6
72 001 - 120 000	60	7
más de 120 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LB)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
600 o menos	13	2
601 - 2 000	21	3
2 001 - 7 200	29	4
7 201 - 15 000	38	5
15 001 - 24 000	48	6
24 001 - 42 000	60	7
más de 42 000	72	8

## Determinación de la capsaicina en el *gochujang* utilizando la detección por cromatografía de gases (CG)

### 1. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Este método es adecuado para determinar la capsaicina en el *gochujang* utilizando detección cromatográfica de gases. El método utiliza escualeno como estándar interno. La concentración de capsaicina se expresa en  $\mu\text{g/mL}$ .

### 2. PRINCIPIO

Para extraer la capsaicina, se hace que la mezcla adquiera una consistencia homogénea. La capsaicina del *gochujang* se extrae con un fraccionamiento 100% metanol – hexano, para eliminar sustancias hidrófilas e hidrófobas que interfieren, mediante un embudo de separación. La capsaicina en la capa de metanol se extrae con diclorometano (DCM) y una solución de NaCl saturada, concentrada con un evaporador giratorio. Se extrae después una porción del extracto concentrado de muestra y se disuelve completamente con DCM que contiene escualeno como patrón interno para el análisis utilizando la detección por cromatografía de gases.

### 3. REACTIVOS Y MATERIALES

Durante el análisis, a no ser que se indique otra cosa, deberá utilizarse solo reactivo de calidad analítica reconocida y agua de al menos calidad 3, según se define en ISO 3696.

#### 3.1 Reactivos

- 3.1.1 Capsaicina (99 + %,  $\text{C}_{18}\text{H}_{27}\text{NO}_3$ , Fw 305.42, CAS 404-86-4)
- 3.1.2 Escualeno (CAS 111-02-4)
- 3.1.3 Hexano
- 3.1.4 Metanol
- 3.1.5 Metanol + agua (80 + 20, v/v)
- 3.1.6 Diclorometano
- 3.1.7 Cloruro sódico
- 3.1.8 Sulfato sódico

#### 3.2 Preparación de la solución estándar

##### 3.2.1 Solución madre de capsaicina (A)

Pesar aproximadamente 100 mg de capsaicina, con un total de 100 mL en un matraz aforado con DCM para obtener una solución (A) de aproximadamente 1 000  $\mu\text{g/mL}$ .

##### 3.2.2 Solución de trabajo de capsaicina (B)

Preparar 100mL de solución intermedia B diluyendo 10 mL de solución A (3.2.1) con 100 mL de DCM para obtener exactamente 100  $\mu\text{g/mL}$  en DCM.

##### 3.2.3 Solución de trabajo estándar interno de escualeno (C)

Pesar aproximadamente 100 mg de escualeno y completar hasta 250 mL en un matraz aforado con DCM para obtener una solución (C) de aproximadamente 400  $\mu\text{g/mL}$  en DCM.

#### 3.3 Soluciones de calibración de la capsaicina

Repartir volúmenes de 100  $\mu\text{g/mL}$  de solución (B, 3.2.2), 50 mL en un matraz de fondo plano, secar y añadir 2 mL de solución de trabajo estándar interno (C, 3.2.3) para obtener 10,0, 50,0, 100,0, 300,0, 500,0  $\mu\text{g/mL}$  de capsaicina.

### 4. APARATOS

4.1 Cromatógrafo de gases con detector de ionización de llama (FID). Son adecuadas las condiciones siguientes:

4.1.1 Temperatura del inyector / detector: 320°C / 350°C

4.1.2 Programa de temperatura del horno: 220°C durante un minuto, elevar a razón de 5°C/minuto hasta 250°C, mantener durante 13 minutos y elevar a 280°C manteniendo 5 minutos por 20°C/minuto. Gas portador

helio a 1,5 mL/minuto.

- 4.1.3 Hacer la inyección separada de 1,0 µL con una proporción de separación de 1:5
- 4.2 Columna CG, 30 m x 0,32 µm, 0,25 µm de grosor de película, HP-1 o equivalente
- 4.3 Balanza analítica que pueda pesar hasta 4 decimales
- 4.4 Agitador que pueda alcanzar 2 000 rpm
- 4.5 Centrifugadora que pueda alcanzar 3 500 rpm
- 4.6 Papel de filtro (Whatman N.º 2 o equivalente)

## 5. MUESTRAS DE LABORATORIO

Al recibir las, se da a las muestras un único número. La muestra de *gochujang* se almacena a menos de 4°C. Todas las demás muestras se guardan a temperatura ambiente en envases herméticos antes del análisis.

## 6. PROCEDIMIENTO

### 6.1 Muestra de laboratorio

Las muestras deberán triturarse o rallarse hasta conseguir una mezcla homogénea. Todas las muestras deberán almacenarse en el envase hermético y a temperatura ambiente antes del análisis. Todas las muestras deberán mezclarse completamente hasta alcanzar una mezcla homogénea antes del análisis.

### 6.2 Muestra de ensayo

- 6.2.1 Mezclar bien la muestra. Pesar con una aproximación de 0,01 g y colocar una porción de 10 g de *Gochujang* en una centrifugadora de 250 mL.
- 6.2.2 Añadir 50 mL de metanol y agitar durante 2 horas, extrayendo la capsaicina.
- 6.2.3 Filtrar el extracto con papel de filtro Whatman N.º 2 en un matraz de fondo plano de 250-mL (Ext-A).
- 6.2.4 Añadir otros 30 mL de metanol al residuo y agitar durante 1 hora, extrayendo la capsaicina (Ext-B).
- 6.2.5 Repetir las operaciones 6.2.3 a 6.2.4 (Ext-C).
- 6.2.6 Combinar las Ext-A, Ext-B y Ext-C en un matraz de fondo plano de 250 mL, concentrando a unos 5 mL.
- 6.2.7 Disolver el concentrado con 20 mL de metanol al 80 % y 20 mL de hexano.
- 6.2.8 Transferir la solución a un embudo de separación de 250 mL.
- 6.2.9 Agitar y separar en dos capas, la capa de metanol (capa M1, superior) y la capa de hexano (capa H1, inferior).
- 6.2.10 Reservar la capa H1 en un matraz de 100 mL y transferir la capa M1 (6.2.9) a un embudo de separación y añadir otros 20 mL de hexano.
- 6.2.11 Repetir las operaciones 6.2.9 a 6.2.10 (capa M2 y capa H2).
- 6.2.12 Repetir las operaciones 6.2.9 a 6.2.10 (capa M3 y capa H3).
- 6.2.13 Combinar las capas H1, H2 y H3 (capa HC) en un embudo de separación de 250 mL, añadiendo 20 mL de metanol al 80 %, agitando y separando en dos capas: capa de metanol (capa inferior M'1) y capa de hexano (capa superior H'1).
- 6.2.14 Reservar la capa M'1 en un nuevo matraz de fondo plano de 250 mL.
- 6.2.15 Añadir 20 mL de metanol al 80 % en el embudo de separación que contiene la capa HC, agitando y separando en dos capas (capa M'2 y capa H'2).
- 6.2.16 Combinar todas las capas M en un nuevo embudo de separación (250 mL), añadiendo 20 mL de solución de NaCl saturada y 20 mL de DCM.
- 6.2.17 Agitar y separar en dos capas (capa D1 y capa WM1) en un embudo de separación de 250 mL.
- 6.2.18 Transferir la capa D1 a un nuevo matraz de fondo plano de 250 mL.
- 6.2.19 Añadir otros 20 mL de DCM al embudo de separación (6.2.16), agitando y separando en dos capas (capa D2 y capa WM1).
- 6.2.20 Repetir la operación 6.2.16 (capa D3 y capa WM1).

- 6.2.21 Combinar las capas D1, D2 y D3 en un matraz de fondo plano de 250 mL, concentrándolas (C-D).
- 6.2.22 Transferir el concentrado (C-D, 6.2.21) a un matraz de fondo plano de 100 mL, disolviéndolo completamente con DCM.
- 6.2.23 Montar aproximadamente 3 g de sulfato sódico en el papel de filtro y deshidratar C-D pasándolo a través de sulfato sódico.
- 6.2.24 Recoger la capa C-D deshidratada en un matraz de fondo plano de 50 mL y concentrar hasta secado en un evaporador giratorio.
- 6.2.25 Disolver el concentrado con 2 mL de DCM que contiene escualeno como solución estándar interna (C, 3.2.3).
- 6.2.26 Analizar la solución de muestra por CG.

## **7. CÁLCULO - MÉTODO INTERNO ESTÁNDAR**

- 7.1 Medir el área de picos de capsaicina y escualeno.
- 7.2 Calcular la relación de las áreas de picos de capsaicina y escualeno.
- 7.3 Construir una gráfica de calibración para los estándares trazando la correlación entre el área de picos y el peso en microgramos de la capsaicina en la ampolla.
- 7.4 Calcular la pendiente de la línea de calibración.
- 7.5 Dividir la relación del área de picos de los desconocidos por el valor de la pendiente para obtener el peso de la capsaicina por ampolla para las muestras desconocidas.

## **8. PRESENTACIÓN FINAL DE LOS RESULTADOS**

Los resultados se expresan en  $\mu\text{g/mL}$ , con dos cifras significativas.

## **REFERENCIAS**

1. W. Hawer y J. Ha *et al.*: Effective separation and quantitative analysis of major heat principles in red pepper by capillary GC, Food Chemistry, 49, págs. 99-103, 1994.
2. J. Jung y S. Kang: A new method for analysis of capsaicinoids content in microcapsule, Korean J. Food Sci. Technol., Vol. 32, n.º 1, págs. 42-49, 2000.
3. C. A. Reilly *et al.*: Quantitative analysis of capsaicinoids in fresh peppers, oleoresin capsicum and pepper spray products, J. of Forensic Science, Vol. 43, n.º 3, págs. 502-509, 2001.
4. Ha *et al.*: Gas Chromatography Analysis of Capsaicin in Gochujang, Journal of AOAC International Vol. 91, n.º 2, 2008.

Cuadro 1: Resumen de la prueba de repetibilidad para determinar muestras de ensayo adecuadas ( $\mu\text{g/mL}$ )

Prueba n.º	<i>Gochujang - K</i>
1	64,7
2	69,0
3	70,6
4	71,8
5	70,5
Media	69,3
RSD,%	3,99

Cuadro 2: Resumen de la prueba de recuperación para determinar muestras de ensayo adecuadas (%)

Prueba n.º	<i>Gochujang - K</i>
1	80,47
2	77,29
3	87,97
4	91,00
5	95,18
Media	86,38
RSD,%	8,56



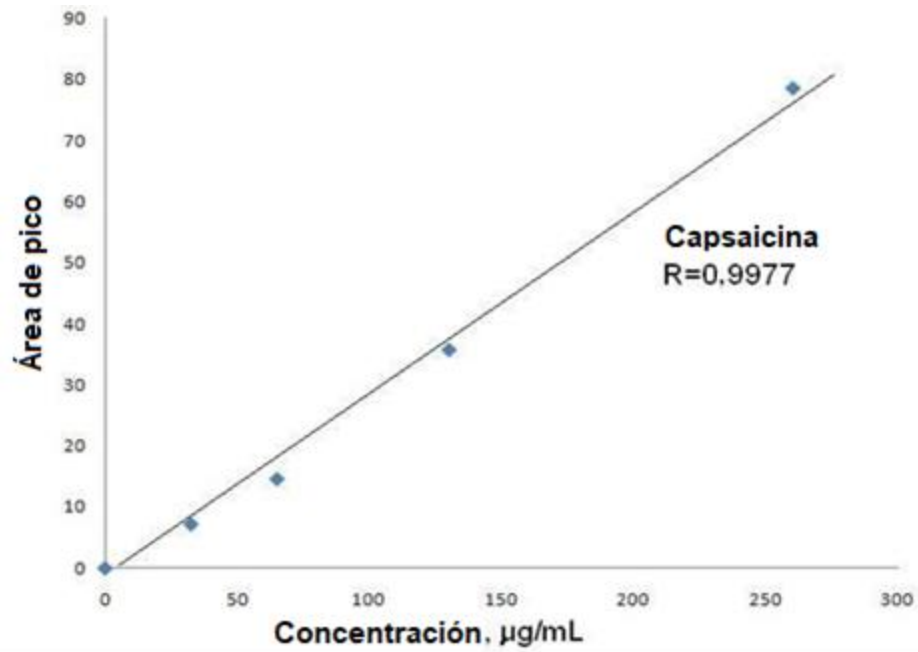


Fig. 1 Curva de calibración de la capsaicina por el método CG.

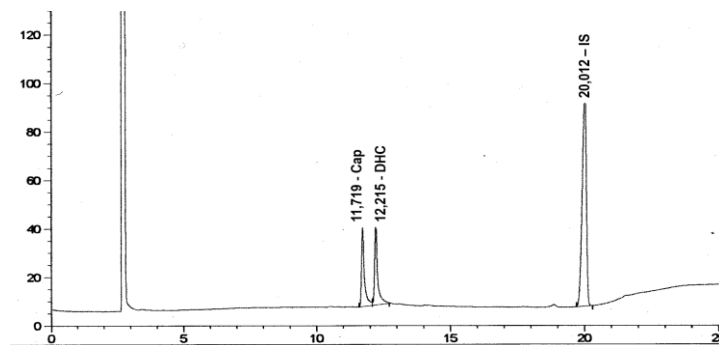


Fig. 2. Cromatograma CG de los estándares de capsaicina

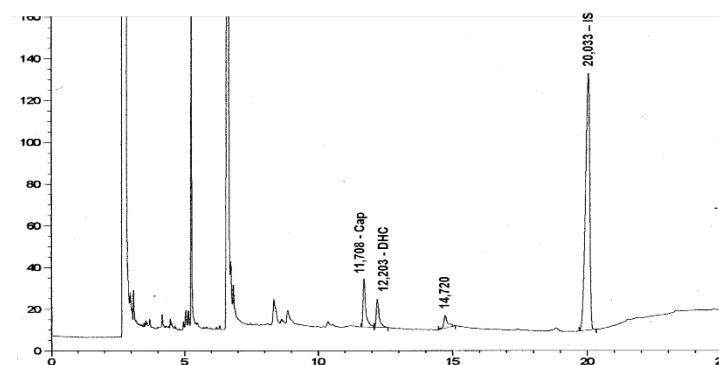


Fig. 3. Cromatograma de CG de la capsaicina en el *gochujang*.

**Métodos de análisis para las disposiciones de la Norma para la salsa de ají (chiles)**

**Nota:** La Norma regional para la salsa de ají (chiles) (CXS 306R-2011) ha sido convertida en una norma mundial. Por consiguiente, la norma regional ha sido revocada. En la Norma CXS 234 ya figuran los métodos que habían sido ratificados previamente para el pH y el llenado de los envases. El plan de muestreo que figura a continuación es el mismo que el plan de muestreo de la CXS 306R.

El nivel apropiado de inspección se selecciona de la siguiente manera:

Nivel de inspección I – Muestreo normal

Nivel de inspección II – Disputas (tamaño de la muestra para fines de arbitraje en el marco del Codex), cumplimiento o necesidad de una mejor estimación del lote

**PLAN DE MUESTREO 1**

(Nivel de inspección I, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	6	1
4 801-24 000	13	2
24 001-48 000	21	3
48 001-84 000	29	4
84 001-144 000	38	5
144 001-240 000	48	6
más de 240 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LIBRAS) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
2 400 o menos	6	1
2 401-15 000	13	2
15 001-24 000	21	3
24 001-42 000	29	4
42 001-72 000	38	5
72 001-120 000	48	6
más de 120 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
600 o menos	6	1
601-2 000	13	2
2 001-7 200	21	3

7 201-15 000	29	4
15 001-24 000	38	5
24 001-42 000	48	6
más de 42 000	60	7

## PLAN DE MUESTREO 2

(Nivel de inspección II, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	13	2
4 801-24 000	21	3
24 001-48 000	29	4
48 001-84 000	38	5
84 001-144 000	48	6
144 001-240 000	60	7
más de 240 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LIBRAS) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
2 400 o menos	13	2
2 401-15 000	21	3
15 001-24 000	29	4
24 001-42 000	38	5
42 001-72 000	48	6
72 001-120 000	60	7
más de 120 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
600 o menos	13	2
601-2 000	21	3
2 001-7 200	29	4

7 201-15 000	38	5
15 001-24 000	48	6
24 001-42 000	60	7
más de 42 000	72	8

**Métodos de análisis para las disposiciones de la Norma para la salsa de mango picante (CXS 160-1987)<sup>5</sup>**

PLAN DE MUESTREO 1 (Nivel de inspección I, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	6	1
4 801 - 24 000	13	2
24 001 - 48 000	21	3
48 001 - 84 000	29	4
84 001 - 144 000	38	5
144 001 - 240 000	48	6
más de 240 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LIBRAS) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
2 400 o menos	6	1
2401 - 15 000	13	2
15 001 - 24 000	21	3
24 001 - 42 000	29	4
42 001 - 72 000	38	5
72 001 - 120 000	48	6
más de 120 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
600 o menos	6	1
601-2 000	13	2
2 001 - 7 200	21	3
7 201 - 15 000	29	4
15 001 - 24 000	38	5
24 001 - 42 000	48	6
más de 42 000	60	7

## PLAN DE MUESTREO 2 (Nivel de inspección II, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	13	2
4 801 – 24 000	21	3
24 001- 48 000	29	4
48 001 – 84 000	38	5
84 001 – 144 000	48	6
144 001 -240 000	60	7
más de 240 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LIBRAS) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
2 400 o menos	13	2
2 401 - 15 000	21	3
15 001 - 24 000	29	4
24 001 - 42 000	38	5
42 001 - 72 000	48	6
72 001 - 120 000	60	7
más de 120 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
600 or less	13	2
601 - 2 000	21	3
2 001 - 7 200	29	4
7 201 - 15 000	38	5
15 001 - 24 000	48	6
24 001 - 42 000	60	7
más de 42 000	72	8

### Métodos de análisis para la disposición de la Norma general para las frutas desecadas

#### Nota:

Esta Norma general se aplica a las frutas desecadas, en general, tal como se definen en la Sección 2 de la Norma, y establece además disposiciones específicas para los productos que figuran en los anexos (A: albaricoques desecados, B: dátiles, C: uvas pasas, D: longán desecado, E: caquis desecados)

Por consiguiente, la *Norma para los albaricoques desecados* (CXS 130-1981), la *Norma para los dátiles* (CXS 143-1985) y la *Norma para las uvas pasas* (CXS 67-1981) fueron revocadas.

Actualmente, la Norma CXS 234 contiene el método para la humedad AOAC 934.06 para los albaricoques desecados y los dátiles, y el método para la humedad AOAC 972.20 para las uvas pasas.

#### Métodos de análisis

Producto	Disposición	Método	Principio	Tipo
Frutas desecadas	Identificación de defectos	Descrito en la Norma	Inspección visual	I
Frutas desecadas	Humedad	AOAC 934.06	Gravimetría (horno de vacío)	I

#### Planes de muestreo

El nivel apropiado de inspección se selecciona de la siguiente manera:

**Nivel de inspección I - Muestreo Normal**

**Nivel de inspección II - Disputas, (tamaño de la muestra para fines de arbitraje en el marco del Codex), cumplimiento o necesidad de una mejor estimación del lote**

PLAN DE MUESTREO 1 (Nivel de inspección I, NCA = 6,5)

PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
4 800 o menos	6	1
4 801 - 24 000	13	2
24 001 - 48 000	21	3
48 001 - 84 000	29	4
84 001 - 144 000	38	5
144 001 - 240 000	48	6
más de 240 000	60	7
PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LIBRAS) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
2 400 o menos	6	1
2 401 - 15 000	13	2
15 001 - 24 000	21	3
24 001 - 42 000	29	4
42 001 - 72 000	38	5
72 001 - 120 000	48	6
más de 120 000	60	7
PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
600 o menos	6	1
601 - 2 000	13	2
2 001 - 7 200	21	3
7 201 - 15 000	29	4
15 001 - 24 000	38	5
24 001 - 42 000	48	6
más de 42 000	60	7

PLAN DE MUESTREO 2 (Nivel de inspección II, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	13	2
4 801 - 24 000	21	3
24 001 - 48 000	29	4
48 001 - 84 000	38	5
84 001 - 144 000	48	6
144 001 - 240 000	60	7
más de 240 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LIBRAS) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
2 400 o menos	13	2
2 401 - 15 000	21	3
15 001 - 24 000	29	4
24 001 - 42 000	38	5
42 001 - 72 000	48	6
72 001 - 120 000	60	7
más de 120 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
600 o menos	13	2
601 - 2 000	21	3
2 001 - 7 200	29	4
7 201 - 15 000	38	5
15 001 - 24 000	48	6
24 001 - 42 000	60	7
más de 42 000	72	8



### **Métodos de análisis para la disposición de la Norma general para las mezclas de frutas en conserva**

**Nota:** Esta Norma general se aplica a las mezclas de frutas en conserva, en general, tal como se definen en la Sección 2 de la Norma, y establece además disposiciones específicas para los productos que figuran en los anexos (A: cóctel de frutas en conserva, B: ensalada de frutas tropicales en conserva).

Por consiguiente, la Norma para el cóctel de frutas en conserva (CXS 78-1981) y la Norma para la ensalada de frutas tropicales en conserva (CXS 99-1981) fueron revocadas.

#### Planes de muestreo

El nivel apropiado de inspección se selecciona de la siguiente manera:

Nivel de inspección I - Muestreo Normal

Nivel de inspección II - Disputas (tamaño de la muestra para fines de arbitraje en el marco del Codex), cumplimiento o necesidad de una mejor estimación del lote

#### PLAN DE MUESTREO 1 (Nivel de inspección I, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	6	1
4 801 – 24 000	13	2
24 001 – 48 000	21	3
48 001 – 84 000	29	4
84 001 – 144 000	38	5
144 001 – 240 000	48	6
más de 240 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2,2 LIBRAS) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
2 400 o menos	6	1
2 401 – 15 000	13	2
15 001 – 24 000	21	3
24 001 – 42 000	29	4
42 001 – 72 000	38	5
72 001 – 120 000	48	6
más de 120 000	60	7
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
600 o menos	6	1
601 – 2 000	13	2
2 001 – 7 200	21	3
7 201 – 15 000	29	4
15 001 – 24 000	38	5
24 001 – 42 000	48	6
más de 42 000	60	7

#### PLAN DE MUESTREO 2 (Nivel de inspección II, NCA = 6,5)

<b>PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LIBRAS)</b>		
<b>Tamaño del lote (N)</b>	<b>Tamaño de la muestra (n)</b>	<b>Número de aceptación (c)</b>
4 800 o menos	13	2
4 801 – 24 000	21	3
24 001 – 48 000	29	4
48 001 – 84 000	38	5
84 001 – 144 000	48	6
144 001 – 240 000	60	7
más de 240 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 1 KG (2.2 LB) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LB)</b>		
2 400 o menos	13	2

2 401 – 15 000	21	3
15 001 – 24 000	29	4
24 001 – 42 000	38	5
42 001 – 72 000	48	6
72 001 – 120 000	60	7
más de 120 000	72	8
<b>PESO NETO MAYOR QUE 4,5 KG (10 LIBRAS)</b>		
600 o menos	13	2
601 – 2 000	21	3
2 001 – 7 200	29	4
7 201 – 15 000	38	5
15 001 – 24 000	48	6
24 001 – 42 000	60	7
más de 42 000	72	8