



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

36.ª reunión

Budapest (Hungría), 23-27 de febrero de 2015

**APROBACIÓN DE LAS DISPOSICIONES SOBRE MÉTODOS DE ANÁLISIS EN LAS
NORMAS DEL CODEX**

1. En este documento se describen los métodos de análisis o de muestreo (Apéndice I) propuestos por los siguientes comités:

- Comité sobre Frutas y Hortalizas Elaboradas (métodos de análisis para las frutas en conserva y el ginseng y sus planes de muestreo asociados);
- Comité sobre Contaminantes de los Alimentos (planes de muestreo para las fumonisinas en el maíz y productos a base de maíz).

COMITÉ SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS ELABORADAS (CCPFV)

Métodos para frutas en conserva

2. Se invita al Comité a tomar nota de que los métodos de análisis para frutas en conserva son los previamente aprobados como métodos generales para frutas y hortalizas elaboradas.

Métodos para el ginseng

3. Se invita al Comité a tomar nota de que los métodos incluidos en la *Norma regional para los productos a base de ginseng* (CODEX STAN 295R-2009) fueron aprobados previamente por el Comité sobre Métodos de Análisis y Toma de Muestras (CCMAS)¹. Los métodos se presentan nuevamente ante el CCMAS una vez que el CCPFV ha acabado de convertirlos en norma internacional.

COMITÉ SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS (CCCF)

Planes de muestreo para las fumonisinas en el maíz y productos a base de maíz²

4. El Comité observó que los planes de muestreo se basaban en curvas características de operación (CO) derivadas para niveles máximos (NM) de 2 000 y 5 000 µg/kg, pero que no se preveía que el plan de muestreo para maíz sin elaborar se modificara por el cambio de NM para estos productos, y estuvo de acuerdo con los planes de muestreo propuestos tanto para el maíz en grano sin elaborar como para las harinas y sémolas de maíz. Asimismo, se observó que las cuestiones planteadas por el CCMAS sobre los planes de muestreo para el deoxinivalenol (DON) no eran aplicables a estos planes de muestreo.

5. **Se invita al Comité a aprobar** los planes de muestreo propuestos en el Apéndice I.

¹ ALINORM 08/31/23, párr. 57.

² REP14/CF, párr. 70.

APÉNDICE I

COMITÉ DEL CODEX SOBRE FRUTAS Y HORTALIZAS ELABORADAS (CCPFV)**MÉTODOS DE ANÁLISIS Y MUESTREO PARA FRUTAS EN CONSERVA**

Disposición	Método	Principio	Tipo
Peso escurrido	AOAC 968.30 (Método general del Codex para frutas y hortalizas elaboradas)	Cribado Gravimetría	I
Llenado de los envases	CAC/RM 46-1972 (para envases de vidrio) (Método general del Codex para frutas y hortalizas elaboradas) e ISO 90.1:1999 (para envases metálicos) (Método general del Codex para frutas y hortalizas elaboradas)	Pesaje	I
Sólidos solubles	ISO 2173:2003 (Método general del Codex para frutas y hortalizas elaboradas) AOAC 932.14C	Refractometría	I

**DETERMINACIÓN DE LA CAPACIDAD DE AGUA DEL RECIPIENTE
(CAC/RM 46-1972)**

1. ÁMBITO DE APLICACIÓN

Este método se aplica a los recipientes de vidrio.

2. DEFINICIÓN

Por capacidad de agua de un recipiente se entiende el volumen de agua destilada a 20°C que cabe en el recipiente cerrado cuando está completamente lleno.

3. PROCEDIMIENTO

3.1 Elegir un recipiente que no presente ningún defecto.

3.2 Lavar, secar y pesar el recipiente vacío.

3.3 Llenar el recipiente con agua destilada a 20°C hasta el nivel superior y pesar el recipiente llenado de este modo.

4. CÁLCULO Y EXPRESIÓN DE LOS RESULTADOS

Restar el peso registrado en el 3.2 del peso encontrado en 3.3. La diferencia deberá considerarse como el peso de agua necesaria para llenar el recipiente. Los resultados se expresan en mililitros de agua.

Planes de muestreo

El nivel apropiado de inspección se selecciona del modo siguiente:

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 LB)		
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
EL PESO NETO ES MAYOR QUE 1 KG (2,2 LB) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LB)		
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
EL PESO NETO ES MAYOR QUE 4,5 KG (10 LB)		
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 (Nivel de inspección II, NCA = 6,5)

PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LB)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
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
EL PESO NETO ES MAYOR QUE 1 KG (2,2 LB) PERO NO MÁS QUE 4,5 KG (10 LB)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
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
EL PESO NETO ES MAYOR QUE 4,5 KG (10 LB)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
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 Y MUESTREO PARA EL GINSENG

PREPARACIÓN DE LA MUESTRA PARA LA PRUEBA

Se pulveriza ginseng desecado con un triturador para formar partículas de aproximadamente 3 mm para el análisis. El extracto de ginseng se usa tal como está.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

DISPOSICIÓN	MÉTODO	PRINCIPIO	TIPO
Humedad	AOAC 925.45 B (Ginseng desecado) Cantidad de la muestra: 2 g AOAC 925.45 D (extracto de ginseng) Cantidad de la muestra: 1,5 g (mezclado con 20 g de arena de mar)	Gravimetría	IV
Materia seca	AOAC 925.45 B (Ginseng desecado) - calculado sustrayendo el contenido de humedad del 100 % Cantidad de la muestra: 2 g AOAC 925.45 D (extracto de ginseng) - calculado sustrayendo el contenido de humedad del 100 % Cantidad de la muestra: 1,5 g (mezclado con 20 g de arena de mar)	Cálculo	IV
Ceniza	AOAC 923.03	Gravimetría	IV
Materia seca no soluble en el agua	descrito en el Anexo III	Gravimetría	IV
Extractos de n-butanol saturados de agua	descrito en el Anexo IV	Gravimetría	IV
Identificación de los ginsenoides Rb1, [Rg1] y Rf	Descrito en el Anexo V	TLC o HPLC	IV

Referencias

1. Procedimiento operativo normalizado (PON) para la determinación del contenido de humedad (*adjuntado a la Norma*)
2. Procedimiento operativo normalizado (PON) para la determinación del contenido de ceniza (*adjuntado a la Norma*)

ANEXO I**Planes de muestreo**

El nivel apropiado de inspección se establece 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 LB)		
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 ES MAYOR A 1 KG (2,2 LB) PERO NO SUPERIOR A 4,5 KG (10 LB)		
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 A 4,5 KG (10 LB)		
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

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

PESO NETO MENOR O IGUAL A 1 KG (2,2 LB)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
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
EL PESO MAYOR A 1 KG (2,2 LB) NO SUPERIOR A 4,5 KG (10 LB)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
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
PESO NETO MAYOR A 4,5 KG (10 LB)		
Tamaño del lote (N)	Tamaño de la muestra (n)	Número de aceptación (c)
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

ANEXO III

Determinación del contenido de materia seca no soluble en el agua

1. Ámbito de aplicación

Este método se puede aplicar para el análisis del extracto de ginseng (forma líquida y en polvo).

2. Principios

Las muestras se disuelven en agua destilada y se centrifugan. Se retira el sobrenadante y el resto de la materia sólida se precipita y se seca. Su peso es el correspondiente el contenido de materia seca no soluble en agua.

3. Equipo y aparatos

- 3.1 Centrífuga (con temperatura regulable).
- 3.2 Tubos de centrifuga para centrifugado.
- 3.3 Tubo separador de suero o micropipeta.
- 3.4 Estufa de secado con termostato (control de temperatura $\pm 1^\circ\text{C}$).
- 3.5 Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).
- 3.6 Desecador (gel de sílice).
- 3.7 Pinzas.

4. Procedimientos experimentales

- 4.1 Secar un tubo de centrifuga en un horno de secado a 105°C durante 3 horas. Después del secado, colocar el tubo de centrifuga en un desecador, dejarlo a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego registrar su peso.
- 4.2 Repetir el paso 4.1 del procedimiento hasta obtener un peso constante del tubo de centrifuga. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 4.3 Pesar con precisión aproximadamente 1 g de muestra y colocarla en el tubo de centrifuga de peso constante conocido³.
- 4.4 Agregar 15 ml de agua destilada al tubo de centrifuga que contiene la muestra para disolverla.
- 4.5 Centrifugar el tubo a temperatura ambiente a $1\ 000 \times g^4$ durante 15 minutos y, a continuación, quitar inmediatamente el sobrenadante usando un tubo separador de suero evitando tocar el precipitado separado. Es posible que no se pueda quitar por completo el sobrenadante, ya que es necesario dejar una pequeña cantidad para evitar la pérdida de materia seca en suspensión.
- 4.6 Repetir los pasos 4.4 y 4.5 del procedimiento otras dos veces con la materia seca que queda en el tubo de centrifuga.
- 4.7 Secar el tubo de centrifuga con la muestra remanente en un horno de secado a 105°C durante 5 horas.
- 4.8 Después del secado, colocar el tubo de centrifuga en un desecador, dejarlo a temperatura ambiente durante 30 minutos y pesarlo a continuación.
- 4.9 Repetir los pasos 4.7 y 4.8 del procedimiento hasta obtener un peso constante del tubo de centrifuga que contiene la muestra. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 4.10 El contenido de materia seca no soluble en el agua se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Contenido en materia seca no soluble en el agua (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S} \times 100$$

W_0 : Peso del tubo de centrifuga (g)

W_1 : Peso del tubo de centrifuga con el residuo de materia seca después del secado (g)

S: Peso de la muestra (g)

³ El peso constante es el menor valor de los pesos medidos sucesivamente cuando la diferencia de peso entre la medición actual del peso y la medición previa es menor de 2 mg.

⁴ $g = G \frac{M}{R^2}$ (g: aceleración de la gravedad, G: constante de gravedad, R: radio, M: masa).

ANEXO IV

Determinación del contenido de extractos de n-butanol saturados de agua

1. Ámbito de aplicación

Este método se puede aplicar para el análisis de ginseng desecado y de extractos de ginseng (formas líquida y en polvo).

2. Principios

La saponina bruta se extrae de los productos a base de ginseng usando n-butanol saturado de agua como disolvente después de quitar los carbohidratos y los lípidos no polares usando éter dietílico y agua destilada.

3. Equipo y aparatos

- 3.1 Embudo de decantación (250 ml).
- 3.2 Matraz redondo de fondo plano (200-300 ml).
- 3.3 Matraz Erlenmeyer (200-300 ml).
- 3.4 Tamiz estándar (N.º 80).
- 3.5 Papel de filtro (N.º 2).
- 3.6 Embudo de vidrio.
- 3.7 Agitador de embudos.
- 3.8 Evaporador rotatorio.
- 3.9 Baño de agua a temperatura constante.
- 3.10 Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).
- 3.11 Horno de secado con termostato (control de temperatura $\pm 1^{\circ}\text{C}$).
- 3.12 Desecador (gel de sílice).
- 3.13 Triturador.
- 3.14 Pinzas.

4. Reactivos

- 4.1 n-butanol (superior a grado EP).
- 4.2 Éter dietílico (superior a grado EP).
- 4.3 Agua destilada.

5. Preparación de la solución de n-butanol saturada de agua

- 5.1 Mezclar n-butanol y agua destilada en una proporción de 70:30.
- 5.2 Agitar suficientemente la mezcla y dejarla reposar de forma que la capa superior (capa de n-butanol saturado de agua) y la capa inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 5.3 Después de alcanzada la separación completa, la capa de n-butanol saturado de agua se almacena en un envase con tapa para su uso posterior.

6. Pretratamiento de las muestras

Las muestras de ginseng desecado se pulverizan usando un triturador y se pasan por un tamiz con malla 80 para uso en laboratorio. El extracto de ginseng se usa en el experimento en el estado en que se encuentre.

7. Procedimientos experimentales para el ginseng desecado

- 7.1 Pesar con precisión aproximadamente 5 g de muestra y colocarla en un matraz redondo de fondo plano (A). Agregar luego 50 ml de la solución de n-butanol saturado de agua. Extraer por reflujo en un baño de agua a temperatura constante de 75-80°C durante 1 hora y dejar reposar durante 30 minutos.
- 7.2 Transferir la solución obtenida en el paso 7.1 a un embudo de decantación después de pasarla por papel de filtro.
- 7.3 Repetir los pasos 7.1 y 7.2 otras dos veces más para los restos sólidos que hayan quedado en el matraz redondo de fondo plano (A).

- 7.4 Añadir 50 ml de agua destilada a la solución mezclada obtenida en los pasos 7.2 y 7.3 y luego agitar la solución con un agitador de embudos (durante aproximadamente 15 minutos). Dejar reposar hasta que la capa superior (capa de n-butanol saturado de agua) y la inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 7.5 Transferir la capa superior (capa de n-butanol saturado de agua) a un matraz de fondo plano previamente pesado (B) y concentrar al vacío y secar (60° C) la muestra hasta eliminar el líquido por completo.
- 7.6 Añadir 50 ml de éter dietílico al matraz redondo de fondo plano (B) que contiene los precipitados y refluir nuevamente la muestra en un baño de agua a temperatura constante de 46°C durante 30 minutos.
- 7.7 Descartar el éter dietílico del matraz de fondo plano (B) haciendo pasar la muestra por papel de filtro y luego recolectar los precipitados del papel de filtro en un matraz de fondo plano (B) disolviéndolos con metanol.
- 7.8 Concentrar el contenido del matraz de fondo plano (B) hasta que desaparezca el olor del éter dietílico y del metanol.
- 7.9 Después de secar el matraz de fondo plano (B) en un horno de secado a 105°C durante 1 hora, colocarlo en un desecador a temperatura ambiente, dejarlo reposar durante 1 hora y después pesarlo.
- 7.10 El contenido de n-butanol saturado de agua del ginseng desecado se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Extracto de n-butanol saturado de agua (mg/g)} = \frac{W_1 - W_0}{S}$$

W_0 : Peso del matraz (mg)

W_1 : Peso del matraz después de la concentración y el secado (mg)

S: Peso de la muestra (g)

8. Procedimientos experimentales para extractos de ginseng

- 8.1 Pesar con precisión aproximadamente 2 g de muestra en un matraz Erlenmeyer, añadir 60 ml de agua destilada para disolver la muestra y luego transferirla a un embudo de decantación (A).
- 8.2 Añadir 60 ml de éter dietílico, agitar varias veces el embudo y, a continuación, eliminar el gas abriendo el tapón. Repetir 2-3 veces este paso 8.2.
- 8.3 Agitar el embudo de decantación lo suficiente en un agitador de embudos (aproximadamente 15 minutos) y luego dejar reposar hasta que la capa superior (capa de éter dietílico) y la capa inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 8.4 Transferir la porción inferior (capa de agua) a otro embudo de decantación (B), añadir 60 ml de la solución de n-butanol saturado de agua, agitar el embudo bajo las mismas condiciones descritas en el paso 8.3, y dejar reposar hasta que las capas se separen por completo. El sobrenadante (capa de n-butanol saturado de agua) se recolecta (se recolecta de arriba de la superficie de límite) y se transfiere a otro matraz.

* En este momento, la capa inferior (capa de agua) se considera la capa de emulsión en los próximos dos pasos de separación, pero no en el paso final.
- 8.5 Repetir el paso 8.4 otras dos veces sobre la capa inferior (capa de agua) que quedó en el embudo de decantación (B). En el paso final de separación, el sobrenadante que incluye la emulsión se elimina lentamente, dejando sólo la capa superior, abriendo el pico del embudo de decantación.
- 8.6 Recolectar la solución (sobrenadantes de cada paso de separación) obtenida con los pasos 8.4-8.6 en el embudo de decantación (B), añadir 50 ml de agua destilada y agitar el embudo bajo las mismas condiciones descritas en (c). Dejar reposar luego hasta que la capa superior (capa de n-butanol) y la inferior (capa de agua) se separen por completo.
- 8.7 Transferir el sobrenadante (capa de n-butanol) al matraz de fondo plano previamente pesado y concentrarlo al vacío (60°C) hasta eliminar completamente el líquido.
- 8.8 Secar el matraz de fondo plano en un horno de secado a 105°C durante 1 hora y luego colocarlo en un desecador a temperatura ambiente. Dejarlo reposar durante 1 hora y pesarlo a continuación.
- 8.9 Calcular el contenido de n-butanol saturado de agua en el extracto de ginseng usando el mismo método descrito en el paso 7.10.

ANEXO V

Identificación de ginsenosidos Rb₁ y Rf

Los ginsenosidos en productos a base de ginseng pueden identificarse mediante cromatografía en capa fina (TLC) o cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC).

1. Preparación de la muestra

El extracto seco de 1-butanol obtenido de acuerdo con el método para medir el extracto de n-butanol saturado de agua en el Anexo IV se disuelve por completo en 10 ml de metanol y se pasa por un filtro de membrana de 0,45 µm.

2. Preparación de la solución estándar

Las sustancias de referencia de ginsenosido Rb₁ y ginsenosido Rf se disuelven en metanol a concentraciones del 0,2 % y, a continuación, se pasan las soluciones a través de un filtro de membrana de 0,45 µm.

3. Identificación

3.1 Cromatografía en capa fina (TLC)

3.1.1 Preparación del disolvente para revelado

- a) Mezclar n-butanol:etilacetato:agua en una proporción de 50:10:40 (A), o cloroformo:metanol:agua en una proporción de 65:35:10 (B) en un embudo de decantación.
- b) Agitar suficientemente el embudo y dejarlo reposar hasta que el disolvente se separe por completo.
- c) Recolectar sólo la capa superior cuando se use el disolvente (A) como disolvente para revelado y solo la capa inferior cuando se use el disolvente (B) y almacenar las capas para su uso posterior. Recolectar de arriba (A) o de abajo (B) de la superficie límite del disolvente pertinente cuando cada disolvente quede separado y almacenado para aumentar la pureza del disolvente para revelado.

3.1.2 Cámara para revelado

- a) Usar una cámara para revelado con tapa (la cámara para revelado debe quedar completamente sellada aplicando glicerina, etc.).
- b) Fijar papel de filtro en los lados y la parte posterior del interior de la cámara para revelado y empapararlo con el disolvente para revelado.
- c) Colocar lentamente el disolvente para revelado en la cámara para revelado (aproximadamente hasta la mitad de la línea de comienzo de la placa de TLC).
- d) Colocar la tapa y mantenerla hasta que el interior de la cámara para revelado quede suficientemente saturada (30 minutos).

3.1.3 Preparación de la TLC

- a) La placa de TLC se corta en trozos adecuados de más de 10 cm de largo y con el ancho suficiente para que pueda alojar el número de muestras necesario para identificar los ginsenosidos.
- b) Colocar la placa en un horno de secado limpio y secarla a 110°C durante 10-15 minutos antes de usar.
- c) Trazar una línea (línea de comienzo) a 1 cm de la base de la placa de TLC y marcar los puntos para colocar las muestras. A continuación, trazar una línea (línea de terminación) exactamente a 8 cm de la línea de comienzo.

3.1.4 Identificación mediante TLC

- a) Se colocan muestras de cinco microlitros de las referencias de ginsenosidos y las soluciones de muestra preparadas en la forma antes descrita mientras se las seca con un secador. Cada muestra de 5 µl se coloca dividiéndola cuidadosamente en varias gotas sin raspar el gel de sílice de la placa de TLC y no en una sola gota.
- b) Después de completar el goteo, secar la placa de TLC con un secador.
- c) Colocar la placa de TLC en una cámara para revelado con su línea de comienzo en la base y revelar las muestras.
- d) Cuando el disolvente para revelado alcanza la línea de terminación, se retira la placa de TLC y se la seca con un secador.

- e) Pulverizar uniformemente una solución de ácido sulfúrico al 10 % sobre la placa de TLC.
- f) Colocar la placa en un secador a 110°C durante 5-10 minutos para el revelado de los colores.
- g) Comparar los valores R_f y los colores de las sustancias separadas de la muestra con los de las referencias de ginsenosidos para identificar los ginsenosidos pertinentes en los productos a base de ginseng.

$$R_f = \frac{\text{distancia recorrida por la solución de muestra}}{\text{distancia recorrida por el disolvente}}$$

3.2 Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)

La solución de muestra preparada de acuerdo con la descripción precedente y las referencias de ginsenosidos se analizan usando HPLC en las condiciones que se describen a continuación. Los ginsenosidos en las soluciones de muestra se pueden identificar comparando sus tiempos de retención con los picos exhibidos por los ginsenosidos en las sustancias de referencia.

<Condiciones operativas>

a) Columna: columna ODS

b) Detector: UV (203 nm) o ELSD

c) Eluente

- UV: acetonitrilo:agua (30:70, v/v)-

- ELSD: acetonitrilo:agua:isopropanol (94.9:5.0:0.1, v/v/v)

d) Velocidad de flujo: 1,0 ml/min ~ 2,0 ml/min

※ Las condiciones analíticas se pueden ajustar de acuerdo con las condiciones del laboratorio, pero los picos de R_{b1} y R_f en el cromatograma NO deben localizarse en los primeros 5 minutos NI en los últimos 5 minutos del tiempo de retención.

Referencia 1

Procedimiento operativo estándar para la determinación de humedad

1. **Ámbito de aplicación**

Este método se puede aplicar para el análisis de ginseng desecado y de extracto de ginseng.

2. **Principios**

Se asume que la humedad es el único componente volátil en los alimentos. Cuando la presión del vapor de agua en el alimento aumenta por calentamiento, la de las áreas adyacentes se reduce en relación con la del alimento. La humedad en una muestra de alimento se puede evaporar por completo durante el calentamiento a 105°C sin que se produzca cambio químico alguno.

3. **Equipo y aparatos**

- 3.1 Frasco de pesada con tapón.
- 3.2 Varilla de vidrio (debe sobresalir por lo menos 1,5 cm de la superficie de la arena de mar cuando se inserta con un ángulo de 45° en un frasco de pesada que contiene 20 g de arena de mar).
- 3.3 Horno de secado con termostato (control de temperatura $\pm 1^\circ\text{C}$).
- 3.4 Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).
- 3.5 Arena de mar (malla de 20-35).
- 3.6 Desecador (gel de sílice).
- 3.7 Triturador.
- 3.8 Pinzas.

4. **Pretratamiento de las muestras**

Las muestras de ginseng desecado se pulverizan con un triturador para obtener partículas de aproximadamente 3 mm para el experimento. El extracto de ginseng se usa en el experimento en el estado en que se encuentra.

5. **Procedimientos experimentales – ginseng desecado y extracto de ginseng (en polvo)**

- 5.1 Secar por separado un frasco de pesada y el tapón en una estufa de secado a 105°C durante 5 horas. Posteriormente, colocar el pesafiltros firmemente cerrado con el tapón en un desecador, dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y pesarlo a continuación.
- 5.2 Repetir el paso 5.1 hasta obtener un peso constante del frasco y el tapón. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 5.3 Pesar con exactitud aproximadamente 2 g de muestra y colocarla en el frasco de pesada con peso constante conocido.
- 5.4 Secar el pesafiltros con la muestra en una estufa de secado a 105°C durante 3 horas. El tapón se coloca ligeramente abierto para secar la muestra en el frasco de pesada.
- 5.5 Colocar el frasco de pesada firmemente cerrado con el tapón en un desecador, dejarlo reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y pesarlo a continuación.
- 5.6 Repetir los procedimientos 5.4 y 5.5 hasta obtener un peso constante del frasco que contiene la muestra. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 5.7 El contenido de humedad se calcula del siguiente modo:

$$\text{Contenido de humedad en la muestra (\%)} = \frac{S - (W_1 - W_0)}{S} \times 100$$

W_0 : peso del frasco de pesada (g)

W_1 : Peso del frasco de pesada con la muestra después del secado (g)

S: Peso de la muestra (g)

6. **Procedimientos experimentales – extracto de ginseng (forma líquida)**

- 6.1 Secar el frasco de pesada que contiene 20 g de arena de mar y una varilla de vidrio en una estufa de secado a 105°C durante 5 horas.

- 6.2 Después del secado, colocar el frasco de pesada en un desecador, dejar reposar a temperatura ambiente durante 30 minutos y luego registrar el peso.
- 6.3 Repetir los procedimientos 6.1 y 6.2 hasta obtener un peso constante del frasco de pesada que contiene la sal de mar y la varilla de vidrio. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de secado deberá ser de 1-2 horas.
- 6.4 Pesar con exactitud aproximadamente 1,5 g de muestra y colocarla en el frasco de pesada de peso constante conocido. Luego mezclar bien la muestra con la arena de mar y distribuir uniformemente la mezcla en las paredes del pesafiltros usando la varilla de vidrio.
- 6.5 El resto de los pasos analíticos y cálculos son los mismos que en los pasos 5.4 y 5.5 de la sección 5 anterior.

Referencia 2

Procedimiento operativo estándar para la determinación del contenido de ceniza

1. **Ámbito de aplicación**

Este método puede aplicarse para el análisis de muestras de ginseng desecado.

2. **Principios**

Las muestras se recolectan en un recipiente (crisol) para análisis del contenido de ceniza y se calcinan a 525-600°C para eliminar las sustancias orgánicas. El peso total mineral de la muestra remanente se considera el contenido de ceniza.

3. **Equipo y aparatos**

- 3.1 Crisol de porcelana con tapa.
- 3.2 Placa calentadora eléctrica.
- 3.3 Horno eléctrico con termostato (control de temperatura $\pm 1^\circ\text{C}$).
- 3.4 Balanza electrónica (con una precisión de 0,1 mg).
- 3.5 Desecador (gel de sílice).
- 3.6 Triturador.
- 3.7 Pinzas.

4. **Tratamiento previo de las muestras**

Las muestras de ginseng desecado se pulverizan con un triturador para obtener partículas de aproximadamente 3 mm para el experimento.

5. **Procedimientos experimentales**

- 5.1 Calentar un crisol de porcelana limpio en un horno eléctrico a 550°C durante 3 horas. Dejarlo reposar a temperatura ambiente durante 1 hora y pesarlo a continuación.
- 5.2 Repetir el paso 5.1 hasta obtener un peso constante. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de incineración debe ser de 1-2 horas.
- 5.3 Pesar con precisión aproximadamente 3 g de muestra en el crisol de porcelana de peso constante conocido.
- 5.4 Colocar el crisol de porcelana con la muestra en un horno eléctrico a 550°C e incinerar la muestra calentando el crisol con la tapa colocada hasta que se formen cenizas de color blanco o blanco grisáceo brillante.
- 5.5 Una vez finalizado el proceso de incineración, colocar el crisol de porcelana con la muestra en un desecador, dejarlo reposar a temperatura ambiente durante 1 hora y pesarlo a continuación.
- 5.6 Repetir los pasos 5.4 a 5.5 hasta obtener un peso constante del crisol que contiene la muestra. Tener presente, sin embargo, que el tiempo de incineración debe ser de 1-2 horas.
- 5.7 El contenido de ceniza se calcula de la siguiente manera:

$$\text{Contenido de cenizas en la muestra (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{S} \times 100$$

W_1 : Peso del crisol de porcelana antes de la incineración (g)

W_2 : Peso del crisol de porcelana después de la incineración (g)

S: Peso de la muestra (g)

COMITÉ SOBRE CONTAMINANTES DE LOS ALIMENTOS (CCCF)**PLAN DE MUESTREO PARA LAS FUMONISINAS (FB1 + FB2) EN EL MAÍZ EN GRANO, LA HARINA DE MAÍZ Y LA SÉMOLA DE MAÍZ****Maíz sin elaborar**

Nivel máximo	4 000 µg/kg FB1 + FB2
Incrementos	Incrementos de 100 g, dependiendo del peso del lote (≥ 50 toneladas)
Tamaño de la muestra total	5 kg (lote ≥ 50 toneladas)
Preparación de las muestras	molido en seco con un triturador apropiado (partículas inferiores a 0,85 mm, 20 de malla)
Tamaño de la muestra de laboratorio	1 kg
Número de muestras de laboratorio	1
Porción de ensayo	Porción de ensayo de 25 g
Método	Cromatografía líquida de alto rendimiento
Regla de decisión	Si el contenido total de fumonisina de la muestra de ensayo es igual o inferior a 4 000 µg/kg, el lote se acepta. De lo contrario, se rechaza.

Harina de maíz y sémola de maíz

Nivel máximo	2 000 µg/kg FB1 + FB2
Incrementos	10 x 100 g
Tamaño de la muestra agregada	1 kg
Preparación de la muestra	Ninguna
Tamaño de la muestra de laboratorio	Porción de ensayo de 25 g
Número de muestras de laboratorio	1
Porción de ensayo	la misma que la muestra de laboratorio
Método	Cromatografía líquida de alto rendimiento (HPLC)
Regla de decisión	Si el resultado del análisis de fumonisina es inferior o igual a 2 000 µg/kg, se acepta el lote. De lo contrario, se rechaza.

DEFINICIÓN

Lote: Cantidad identificable de un producto alimentario recibido en una entrega y del cual el funcionario competente ha determinado que tiene características comunes, como el origen, la variedad, el tipo de envasado, el envasador, el repartidor o las indicaciones.

Sublote: Parte de un lote más grande designada para aplicar en ella el método de muestreo. Cada sublote debe estar separado físicamente y ser identificable.

Plan de muestreo: Se define por un procedimiento de análisis de la fumonisina y un límite de aceptación o rechazo. Un procedimiento de análisis de la fumonisina consta de tres pasos: selección de la muestra, preparación de la misma y análisis o cuantificación de la fumonisina. El límite de aceptación o rechazo es una tolerancia que, por lo general, es igual al límite máximo del Codex.

Muestra incremental: Cantidad de material tomado de un único lugar, elegido al azar, del lote o sublote.

Muestra agregada: Total combinado de todas las muestras incrementales tomadas del lote o sublote. La muestra agregada tiene que ser por lo menos tan grande como la muestra de laboratorio o la combinación de las muestras.

Muestra de laboratorio: la cantidad mínima de maíz sin cáscara molida con un triturador. La muestra de laboratorio puede constituir una porción de la muestra agregada o la totalidad de la misma. Si la muestra agregada es más grande que las muestras de laboratorio, estas se deben tomar al azar de la muestra agregada.

Porción de ensayo: Una porción de la muestra de laboratorio triturada. La muestra de laboratorio entera se picará en una trituradora. De la muestra de laboratorio triturada debe tomarse aleatoriamente una porción para extraer la fumonisina y someterla a análisis químico.

Curva característica de operación (CO): Una representación gráfica de la probabilidad de aceptación de un lote respecto a la concentración del mismo, cuando se utiliza un modelo de plan de muestreo específico. La curva CO ofrece una estimación de las posibilidades de que se rechace un lote bueno (riesgo del exportador) y de que se acepte un lote malo (riesgo del importador) mediante un modelo de plan de muestreo específico para la fumonisina. Un lote bueno se caracteriza por tener una concentración de fumonisina inferior al límite máximo; un lote malo se caracteriza por tener una concentración de fumonisina superior al límite máximo.

CONSIDERACIONES SOBRE EL MODELO DE LOS PLANES DE MUESTREO

Material del que se van a tomar las muestras

- Las muestras se deben tomar por separado de cada lote de maíz que se vaya a examinar para cuantificar la fumonisina. Los lotes de más de 50 toneladas se subdividirán en sublotes, de los cuales se tomarán por separado las muestras. Si un lote es de más de 50 toneladas, se subdividirá en sublotes conforme al Cuadro 1.

Cuadro 1. Subdivisión de los sublotes de maíz de acuerdo con el peso del lote

Peso del lote (toneladas)	Peso o número de lotes	Número de muestras incrementales	Peso de la muestra agregada
$\geq 1\ 500$	500	100	5
> 300 y $< 1\ 500$	3 sublotes	100	5
≥ 50 y ≤ 300	100 toneladas	100	5
< 50	-	3-100*	1-5

*véase el Cuadro 2

- Considerando que el peso del lote no siempre es un múltiplo exacto del peso de los sublotes, el peso del sublote podrá exceder de dicho peso en un máximo del 20%.

Muestra incremental

- El peso mínimo propuesto de las muestras incrementales debería ser de aproximadamente 100 g para los lotes de 50 toneladas (50 000 kg) o más.
- Para lotes de menos de 50 toneladas, se debe utilizar el plan de muestreo con un número de muestras incrementales situado entre 10 y 100, en función del peso del lote, lo que genera una muestra agregada con un peso entre 1 y 5 kg. Para los lotes muy pequeños (\leq de 0,5 toneladas o menos) podría tomarse un número de muestras incrementales menor, pero se deberá utilizar una muestra agregada que reúna todas las muestras incrementales de 1 kg como mínimo. Se puede utilizar el Cuadro 2 para determinar el número de muestras incrementales que se deben tomar.

Cuadro 2. Número de muestras incrementales que han de tomarse en función del peso del lote

Peso del lote (toneladas)	Número de muestras incrementales:
$\geq 0,05$	3
$> 0,05$ - $\leq 0,5$	5
$> 0,5$ - ≤ 1	10
> 1 - ≤ 3	20
> 3 - ≤ 10	40
> 10 - ≤ 20	60
> 20 - ≤ 50	100

Lotes estáticos

- Los lotes estáticos se pueden definir como una gran masa de maíz sin cáscara depositada en un único contenedor grande —como una camioneta, un camión o un vagón de transporte ferroviario— o en muchos contenedores pequeños, —como sacos o cajas—, hallándose el maíz estacionario en el momento de seleccionar la muestra. Puede ser difícil seleccionar una verdadera muestra aleatoria porque podría no haber acceso a todos los recipientes del lote o sublote.

6. Para tomar muestras incrementales de un lote estático, por lo general se requiere el uso de instrumentos que puedan penetrar en el lote para extraer parte de los productos que lo integran. Estos instrumentos deben estar diseñados específicamente para el producto y tipo de recipiente. El extractor de muestras deberá reunir las siguientes condiciones: 1) tener suficiente longitud para llegar a todo el producto, 2) permitir la selección de cualquier elemento del lote, y 3) no modificar los elementos del lote. Como ya se ha dicho, la muestra agregada debe estar compuesta por numerosas muestras incrementales pequeñas del producto, tomadas de muchos lugares diferentes de todo el lote.
7. En el caso de los lotes que se comercializan en envases individuales, la frecuencia del muestreo (FM), o número de envases de donde se toman las muestras incrementales es una función del peso del lote (PL), el peso de la muestra incremental (MI), el peso de la muestra agregada (MA) y el peso de envasado individual (PI), a saber:
$$FM = (PL \times MI) / (MA \times PI)$$
8. La frecuencia del muestreo (FM) es el número de envases de donde se toman las muestras. Todos los pesos deben presentarse en las mismas unidades de masa, por ejemplo, en kilogramos.

Lotes dinámicos

9. Es más fácil preparar muestras totales representativas seleccionando muestras elementales de una masa de maíz sin cáscara en circulación, conforme el lote pasa de un lugar a otro. Al extraer muestras de una cadena de productos en circulación, tómense pequeñas muestras incrementales del producto a lo largo de toda la cadena y reúnanse las muestras incrementales para formar una muestra agregada; si esta es mayor que las muestras de laboratorio necesarias, mézclese y subdivídase la muestra agregada para obtener la muestra o muestras de laboratorio del tamaño deseado.
10. Existe equipo comercial para la toma automática de muestras, como colectores de muestras transversales dotados de cronómetro que hacen pasar automáticamente un vaso receptor a lo largo de la cadena de productos en circulación a intervalos predeterminados y uniformes. Si no se dispone de equipo colector automático se puede asignar a una persona la tarea de pasar manualmente un vaso a intervalos regulares a lo largo de la cadena de productos en circulación para recoger las muestras incrementales. Tanto si se utilizan métodos automáticos como manuales, se deben tomar muestras elementales y compuestas a intervalos frecuentes y uniformes a durante todo el tiempo que el maíz circule por el punto de muestreo.
11. Los colectores transversales de muestras se deben instalar de la siguiente manera: 1) el plano de la abertura del vaso receptor debe estar perpendicular a la dirección que sigue la cadena en circulación; 2) el vaso receptor debe recorrer toda la sección de la cadena en circulación; 3) la boca del vaso receptor debe tener la capacidad suficiente para recibir todos los elementos de interés del lote. En general, la boca del vaso debe medir el doble o el triple del tamaño de los elementos más grandes del lote.
12. El tamaño en kg de la muestra agregada (M) tomada de un lote con un colector transversal de muestras es:
$$M = (D \times TL) / (T \times V),$$
donde D es el ancho de la boca del vaso receptor (cm), TL es el tamaño del lote (kg), T es el intervalo o el tiempo que pasa entre el movimiento del vaso a través de la cadena de productos en circulación (segundos), y V es la velocidad del vaso (cm/seg).
13. Si se conoce la velocidad de circulación de la cadena de productos, VC (kg/seg), entonces la frecuencia del muestreo (FM), o el número de cortes que hace el vaso receptor automático se puede contabilizar como función de M, V, D y VC.

$$FM = (M \times V) / (D \times VC)$$

Envasado y transporte de las muestras

14. Todas las muestras de laboratorio deberán colocarse en un recipiente limpio e inerte que dé la protección adecuada contra la contaminación, la luz del sol y los posibles daños durante el tránsito. Se tomarán todas las precauciones necesarias para evitar cambios en la composición de la muestra de laboratorio, que podrían producirse durante el transporte o almacenamiento. Las muestras se almacenarán en un lugar oscuro y fresco.
15. Todas las muestras de laboratorio tomadas para uso oficial se sellarán en el lugar donde se tomen y se marcarán para identificarlas. Se mantendrá un registro de cada toma de muestras que permita identificar los lotes en forma inconfundible, en el que se indicarán la fecha y el lugar del muestreo así como toda otra información que pueda ser de interés para el analista.

PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS

16. Durante la preparación de las muestras se hará todo lo posible por no exponerlas a la luz del sol, ya que la fumonisina puede descomponerse gradualmente por efecto de la radiación ultravioleta. También se controlarán la temperatura ambiente y la humedad relativa, para no favorecer la formación de mohos y de fumonisina.
17. Como la distribución de la fumonisina es extremadamente heterogénea, las muestras de laboratorio se homogeneizarán moliendo la totalidad de la muestra de laboratorio que este reciba. La homogeneización es un procedimiento de reducción del tamaño de las partículas que dispersa uniformemente las partículas contaminadas en toda la muestra triturada de laboratorio.
18. La muestra de laboratorio se molerá finamente y se mezclará bien, mediante un procedimiento que permita la mayor homogeneización posible. La homogeneización total supone que el tamaño de las partículas sea muy pequeño y que la variabilidad asociada a la preparación de las muestras sea casi nula. Una vez triturada la muestra es necesario limpiar el triturador para evitar la contaminación cruzada.

Porción analítica

19. El peso recomendado del envase de muestra tomado de la muestra de laboratorio triturada debe ser de aproximadamente 25 g.
20. Los procedimientos para la selección de la porción analítica de la muestra de laboratorio triturada deben constituir un proceso aleatorio. Si se mezcla el producto durante la trituración o después de esta, la porción analítica se puede seleccionar de cualquier lugar de la muestra de laboratorio triturada. En caso contrario, la porción analítica deberá consistir en la acumulación de varias porciones pequeñas seleccionadas de toda la muestra de laboratorio.
21. Se recomienda que se seleccionen tres porciones analíticas de cada muestra de laboratorio triturada. Las tres porciones analíticas se utilizarán para la aplicación, apelación y confirmación, en caso necesario.

MÉTODOS DE ANÁLISIS

22. Es conveniente utilizar un enfoque basado en criterios, a través del cual se establezca un conjunto de criterios de rendimiento que debería cumplir el método analítico empleado. El enfoque basado en criterios tiene la ventaja de que, al evitar establecer los detalles específicos del método utilizado, se pueden aprovechar las novedades de la metodología sin tener que reconsiderar ni modificar el método específico. En el Cuadro 3 se presenta una lista de criterios y niveles de rendimiento posibles (Reglamento N.º 401/2006 de la CE). Con este enfoque, los laboratorios tendrían la libertad de utilizar el método analítico más adecuado para sus instalaciones.

Cuadro 3. Criterios de rendimiento para la fumonisina B1 y B2

Nivel ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	Precisión		Recuperación (%)
	RSDr (%)	RSDR (%)	
≤ 500	≤ 30	≤ 60	60 a 120
> 500	≤ 20	≤ 30	70 a 110