



Point 3 de l'ordre du jour

CX/MAS 15/36/3

PROGRAMME MIXTE FAO/OMS SUR LES NORMES ALIMENTAIRES COMITÉ DU CODEX SUR LES MÉTHODES D'ANALYSE ET D'ÉCHANTILLONNAGE

Trente-sixième session

Budapest, Hongrie, 23-27 février 2015

CONFIRMATION DES MÉTHODES D'ANALYSE FIGURANT DANS LES NORMES CODEX

1. Le présent document décrit les méthodes d'analyse et/ou d'échantillonnage (Appendice I) proposées par les comités énumérés ci-après:

- Comité sur les fruits et légumes traités (méthodes d'analyse pour les fruits en conserve et le ginseng et les plans d'échantillonnage correspondants);
- Comité sur les contaminants dans les aliments (plans d'échantillonnage pour les fumonisines dans le maïs et les produits à base de maïs).

COMITÉ SUR LES FRUITS ET LÉGUMES TRAITÉS (CCPFV)

Méthodes pour les fruits en conserve

2. Le Comité est invité à noter que les méthodes d'analyse pour les fruits en conserve sont celles qui ont déjà été approuvées comme méthodes générales pour les fruits et légumes traités.

Méthodes pour le ginseng

3. Le Comité est invité à noter que les méthodes décrites dans la *Norme régionale pour les produits à base de ginseng* (CODEX STAN 295R-2009) ont déjà été approuvées par le CCMAS¹. Les méthodes sont à nouveau soumises au CCMAS après leur conversion définitive en une norme mondiale par le CCPFV.

COMITÉ SUR LES CONTAMINANTS DANS LES ALIMENTS (CCCF)

Plans d'échantillonnage pour les fumonisines dans le maïs et les produits à base de maïs²

4. Le Comité a noté que les plans d'échantillonnage étaient fondés sur les courbes d'efficacité dérivées des limites maximales de 2 000 et 5 000 µg/kg, mais que le plan d'échantillonnage pour le maïs en grains brut ne changerait probablement pas avec la modification de la limite maximale pour ce produit, et a souscrit aux plans d'échantillonnage tels que proposés à la fois pour le maïs en grains brut et la farine et la semoule de maïs. Il a été noté que les questions soulevées par le CCMAS sur les plans d'échantillonnage du déoxynivalénole (DON) ne s'appliquaient pas à ces plans d'échantillonnage.

5. Le Comité est **invité à approuver** les plans d'échantillonnage proposés à l'appendice I.

¹ ALINORM 08/31/23, par. 57.

² REP14/CF, par. 70

APPENDICE I

COMITÉ SUR LES FRUITS ET LÉGUMES TRAITÉS (CCPFV)**MÉTHODES D'ANALYSE ET D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LES FRUITS EN CONSERVE**

Disposition	Méthode	Principe	Type
Poids égoutté	AOAC 968.30 (Méthode générale du Codex pour les fruits et légumes traités)	Tamisage Gravimétrie	I
Remplissage des récipients	CAC/RM 46-1972 (pour les récipients en verre) (Méthode générale du Codex pour les fruits et légumes traités) et ISO 90.1:1999 (pour les récipients en métal) (Méthode générale du Codex pour les fruits et légumes traités)	Pesage	I
Matières sèches solubles	ISO 2173:2003 (Méthode générale du Codex pour les fruits et légumes traités) AOAC 932.14C	Réfractométrie	I

**DÉTERMINATION DE LA CAPACITÉ EN EAU DES RÉCIPIENTS
(CAC/RM 46-1972)**

1. CHAMP D'APPLICATION

La présente méthode s'applique aux récipients en verre.

2. DÉFINITION

On entend par capacité en eau d'un récipient le volume d'eau distillée à 20 °C que le récipient contient une fois complètement rempli et fermé.

3. MODE OPÉRATOIRE

- 3.1 Choisir un récipient qui n'est endommagé à aucun égard.
- 3.2 Laver, sécher et peser le récipient vide.
- 3.3 Remplir le récipient avec de l'eau distillée à 20 °C jusqu'au niveau de son couvercle, puis peser le récipient ainsi rempli.

4. CALCUL ET EXPRESSION DES RÉSULTATS

Soustraire le poids obtenu au 3.2 du poids obtenu au 3.3. La différence sera considérée comme correspondant au poids d'eau nécessaire pour remplir le récipient. Les résultats sont exprimés en millilitres d'eau.

Plans d'échantillonnage

Le niveau de contrôle approprié est sélectionné comme suit:

Niveau de contrôle I - Échantillonnage normal

Niveau de contrôle II - Conflits (effectif de l'échantillon aux fins d'arbitrage dans le cadre du Codex), mise en application ou nécessité d'une meilleure estimation du lot

PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE 1 (Niveau de contrôle I, NQA = 6,5)

POIDS NET ÉGAL OU INFÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
4 800 ou moins	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
plus de 240 000	60	7
POIDS NET SUPÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB) MAIS NE DÉPASSANT PAS 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
2 400 ou moins	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
plus de 120 000	60	7
POIDS NET SUPÉRIEUR À 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
600 ou moins	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
plus de 42 000	60	7

PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE 2 (Niveau de contrôle II, NQA = 6,5)

POIDS NET ÉGAL OU INFÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
4 800 ou moins	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
plus de 240 000	72	8
POIDS NET SUPÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB) MAIS NE DÉPASSANT PAS 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
2 400 ou moins	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
plus de 120 000	72	8
POIDS NET SUPÉRIEUR À 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
600 ou moins	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
plus de 42 000	72	8

MÉTHODES D'ANALYSE ET D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LE GINSENG**PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON TEST**

Le ginseng séché est pulvérisé à l'aide d'un broyeur dans le cadre de l'analyse afin d'obtenir des particules d'environ 3 mm. L'extrait de ginseng est utilisé dans l'analyse tel quel.

MÉTHODES D'ANALYSE

DISPOSITION	MÉTHODE	PRINCIPE	TYPE
Humidité	AOAC 925.45 B (Ginseng séché) Quantité de l'échantillon: 2 g AOAC 925.45 D (Extrait de ginseng) Quantité de l'échantillon: 1,5 g (en mélangeant avec 20 g de sable de mer)	Gravimétrie	IV
Matière sèche	AOAC 925.45 B (Ginseng séché) - calculé en soustrayant la teneur en humidité de 100 % Quantité de l'échantillon: 2 g AOAC 925.45 D (Extrait de ginseng) - calculé en soustrayant la teneur en humidité de 100 % Quantité de l'échantillon: 1,5 g (en mélangeant avec 20 g de sable de mer)	Calcul	IV
Cendres	AOAC 923.03	Gravimétrie	IV
Matières sèches insolubles dans l'eau	Décrite à l'Annexe III	Gravimétrie	IV
Extraits de n-butanol saturé d'eau	Décrite à l'Annexe IV	Gravimétrie	IV
Identification des ginsénoïdes Rb1 et Rf	Décrite à l'Annexe V	CCM ou CLHP	IV

Bibliographie

1. Procédure opérationnelle permanente pour la détermination de la teneur en eau (*rattachée à la norme*)
2. Procédure opérationnelle permanente pour la détermination de la teneur en cendres (*rattachée à la norme*)

ANNEXE I**Plan d'échantillonnage**

Le niveau d'inspection approprié est sélectionné comme suit:

Niveau de contrôle I - Échantillonnage normal

Niveau de contrôle II - Conflits (effectif de l'échantillon pour fin d'arbitrage dans le cadre du Codex), mise en application ou nécessité d'une meilleure estimation du lot

PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE 1

(Niveau de contrôle I, NQA = 6,5)

POIDS NET ÉGAL OU INFÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
4 800 ou moins	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
plus de 240 000	60	7
POIDS NET SUPÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB) MAIS NE DÉPASSANT PAS 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
2 400 ou moins	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
plus de 120 000	60	7
POIDS NET SUPÉRIEUR À 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
600 ou moins	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
plus de 42 000	60	7

ANNEXE II
PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE 2
(Niveau de contrôle II, NQA = 6,5)

POIDS NET ÉGAL OU INFÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
4 800 ou moins	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
plus de 240 000	72	8
POIDS NET SUPÉRIEUR À 1 KG (2,2 LB) MAIS NE DÉPASSANT PAS 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
2 400 ou moins	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
plus de 120 000	72	8
POIDS NET SUPÉRIEUR À 4,5 KG (10 LB)		
Importance du lot (N)	Effectif de l'échantillon (n)	Critère d'acceptation (c)
600 ou moins	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
plus de 42 000	72	8

ANNEXE III

Détermination de la teneur en matière sèche non soluble dans l'eau

1. Champ d'application

Cette méthode peut être utilisée pour l'analyse de l'extrait de ginseng (sous forme liquide et en poudre).

2. Principes

Les échantillons sont dissous dans de l'eau distillée puis centrifugés. Le surnageant est éliminé et la matière sèche restante est précipitée et séchée. Son poids est déterminé par la teneur en matière sèche non soluble dans l'eau.

3. Équipements et appareils

3.1 Centrifugeuse (thermostatique)

3.2 Tubes à centrifuger pour la centrifugation

3.3 Tube avec gel séparateur (SST) ou micropipette

3.4 Four de séchage équipé d'un thermostat (± 1 °C contrôle de température)

3.5 Balance électronique (mesurant jusqu'à 0,1 mg)

3.6 Dessiccateur (gel de silice)

3.7 Pince

4. Procédures expérimentales

4.1 Faites sécher un tube à centrifuger dans un four à séchage à 105 °C pendant trois heures. Une fois séché, placez le tube à centrifuger dans un dessiccateur, laissez-le reposer à température ambiante pendant 30 minutes, puis enregistrez son poids.

4.2 Renouvelez l'étape 4.1 de la procédure jusqu'à obtention d'un poids constant du tube à centrifuger. Notez toutefois que le temps de séchage doit prendre une à deux heures.

4.3 Pesez précisément environ 1 g de l'échantillon et placez-le dans le tube à centrifuger dont vous connaissez le poids constant³.

4.4 Ajoutez 15 ml d'eau distillée dans le tube à centrifuger contenant l'échantillon afin de le dissoudre.

4.5 Centrifugez le tube à température ambiante à $1\ 000\times g$ ⁴ pendant 15 minutes. Ensuite, retirez immédiatement le surnageant à l'aide d'un tube avec gel séparateur (SST) sans toucher le précipité formé. Il se peut que vous ne puissiez pas retirer l'intégralité du surnageant puisqu'il est nécessaire d'en conserver une petite quantité pour éviter la perte de matière sèche en suspension.

4.6 Renouvelez deux fois les étapes 4.4 et 4.5 de la procédure avec le reliquat de matière sèche se trouvant dans le tube à centrifuger.

4.7 Séchez le tube à centrifuger contenant le reste d'échantillon dans un four de séchage à 105 °C pendant cinq heures.

4.8 Une fois séché, placez le tube à centrifuger dans un dessiccateur, laissez-le reposer à température ambiante pendant 30 minutes puis pesez-le.

4.9 Renouvelez les étapes 4.7 et 4.8 de la procédure jusqu'à obtention d'un poids constant du tube à centrifuger contenant l'échantillon. Notez toutefois que le temps de séchage doit prendre une à deux heures.

4.10 La teneur en matière sèche non soluble dans l'eau est calculée comme suit:

$$\text{Teneur en matière sèche non soluble dans l'eau (\%)} = \frac{W_1 - W_0}{S} \times 100$$

W_0 : Poids du tube à centrifuger (g)

W_1 : Poids du tube à centrifuger contenant le résidu de matière sèche après séchage (g)

S: Poids de l'échantillon (g)

³ Le poids constant est la plus faible valeur des poids mesurés de manière successive lorsque la différence pondérale entre la mesure la plus récente du poids et la mesure précédente du poids est inférieure à 2 mg.

⁴ $g = G \frac{M}{R^2}$ (g: accélération gravimétrique, G: constante de la gravité, R: rayon, M: masse)

ANNEXE IV

Détermination de la teneur en extraits de n-butanol saturé d'eau

1. Champ d'application

Cette méthode peut être utilisée pour l'analyse du ginseng séché et l'extrait de ginseng (sous forme liquide et en poudre).

2. Principes

La saponine brute est extraite des produits à base de ginseng à l'aide de n-butanol saturé d'eau utilisé, comme solvant après élimination des lipides non polaires et des hydrates de carbone grâce à l'éther éthylique et l'eau distillée.

3. Équipements et appareils

- 3.1 Ampoule à décanter (250 ml)
- 3.2 Ballon à fond plat (200-300 ml)
- 3.3 Erlenmeyer (200-300 ml)
- 3.4 Tamis ordinaire (n° 80)
- 3.5 Papier filtre (n° 2)
- 3.6 Entonnoir en verre
- 3.7 Agitateur décanteur
- 3.8 Évaporateur rotatif
- 3.9 Bain-marie à température constante
- 3.10 Balance électronique (mesurant jusqu'à 0,1 mg)
- 3.11 Four de séchage équipé d'un thermostat (± 1 °C contrôle de température)
- 3.12 Dessiccateur (gel de silice)
- 3.13 Broyeur
- 3.14 Pince

4. Réactifs

- 4.1 n-butanol (supérieur à qualité EP)
- 4.2 Éther éthylique (supérieur à qualité EP)
- 4.3 Eau distillée

5. Préparation de la solution de n-butanol saturé d'eau

- 5.1 Mélangez le n-butanol avec l'eau distillée à raison de 70:30.
- 5.2 Agitez suffisamment le mélange et laissez reposer pour que la phase supérieure (couche de n-butanol saturé d'eau) et la phase inférieure (couche d'eau) se séparent complètement.
- 5.3 Une fois la séparation complète réalisée, la phase de n-butanol saturé d'eau est stockée dans un récipient muni d'un couvercle jusqu'à un usage ultérieur.

6. Prétraitement des échantillons

Les échantillons de ginseng séché sont pulvérisés à l'aide d'un broyeur et passés au tamis de 80 à des fins expérimentales. L'extrait de ginseng est utilisé dans l'expérience tel quel.

7. Procédures expérimentales pour le ginseng séché

- 7.1 Pesez précisément environ 5 g de l'échantillon et placez-le dans le ballon à fond plat (A). Ajoutez ensuite 50 ml de la solution de n-butanol saturé d'eau. Réalisez l'extraction en chauffant à reflux à l'aide d'un bain-marie à température constante de 75-80 °C pendant une heure et laissez ensuite reposer pendant 30 minutes.
- 7.2 Transférez la solution obtenue à l'étape 7.1 dans une ampoule à décanter après l'avoir passée au papier filtre.

- 7.3 Renouvelez deux fois les étapes 7.1 et 7.2 de la procédure avec le reliquat de matière sèche se trouvant dans le ballon à fond plat (A).
- 7.4 Ajoutez 50 ml d'eau distillée à la solution mixte obtenue aux étapes 7.2-7.3, puis agitez la solution à l'aide d'un agitateur décanteur (15 minutes environ). Laissez reposer jusqu'à ce que la phase supérieure (couche de n-butanol saturé d'eau) et la phase inférieure (couche d'eau) soient complètement séparées.
- 7.5 Transférez la phase supérieure (couche de n-butanol saturé d'eau) dans une fiole à fond plat (B) préalablement pesée et procédez à la concentration sous vide et au séchage (60 °C) de l'échantillon jusqu'à élimination complète du liquide.
- 7.6 Ajoutez 50 ml d'éther éthylique dans le ballon à fond plat (B) contenant les précipités et réchauffez à reflux à l'aide d'un bain-marie à température constante de 46°C pendant 30 minutes.
- 7.7 Éliminez l'éther éthylique dans la fiole à fond plat (B) en passant l'échantillon au papier filtre et recueillez ensuite les précipités sur le papier filtre dans une fiole à fond plat (B) en les dissolvant avec du méthanol.
- 7.8 Concentrez le contenu du ballon à fond plat (B) jusqu'à disparition des odeurs d'éther éthylique et de méthanol.
- 7.9 Après avoir séché le ballon à fond plat (B) dans un four de séchage à 105 °C pendant une heure, placez-le dans un dessiccateur à température ambiante, laissez-le reposer pendant une heure puis pesez-le.
- 7.10 La teneur en n-butanol saturé d'eau du ginseng séché est calculée comme suit:

$$\text{Extrait de n-butanol saturé d'eau (mg/g): } \frac{W_1 - W_0}{S}$$

W_0 : Poids du ballon (mg)

W_1 : Poids du ballon après concentration et séchage (mg)

S: Poids de l'échantillon (g)

8. Procédures expérimentales pour extraits de ginseng

- 8.1 Pesez précisément environ 2 g d'échantillon dans un Erlenmeyer, ajoutez 60 ml d'eau distillée pour dissoudre l'échantillon et transférez-le ensuite dans une ampoule à décanter (A).
- 8.2 Ajoutez 60 ml d'éther éthylique, agitez l'ampoule à plusieurs reprises puis dégazez en ôtant le bouchon. Renouvelez l'étape 8.2 de la procédure ci-dessus deux à trois fois.
- 8.3 Agitez suffisamment l'ampoule à décanter à l'aide d'un agitateur décanteur (15 minutes environ) puis laissez reposer jusqu'à ce que la phase supérieure (couche d'éther éthylique) et la phase inférieure (couche d'eau) soient complètement séparées.
- 8.4 Transférez la phase inférieure (couche d'eau) vers une autre ampoule à décanter (B), ajoutez 60 ml de solution de n-butanol saturé d'eau, agitez l'ampoule dans les mêmes conditions que celles décrites à l'étape 8.3 et laissez reposer jusqu'à la séparation complète des phases. Le surnageant (couche de n-butanol saturé d'eau) est recueilli (prélèvement au-dessus de la surface limite) et transféré dans une autre fiole.

* À ce stade, la phase inférieure (couche d'eau) est considérée comme la couche d'émulsion pour les deux prochaines étapes de séparation mais pas pour la phase finale de séparation.
- 8.5 Renouvelez deux fois de plus l'étape 8.4 de la procédure sur la phase inférieure (couche d'eau) restée dans l'ampoule à décanter (B). Lors de la phase finale de séparation, le surnageant contenant l'émulsion est peu à peu éliminé en ouvrant le robinet de l'ampoule à décanter. Il ne reste que la phase supérieure.
- 8.6 Prélevez la solution (surnageants issus de chaque étape de séparation) obtenue dans l'ampoule à décanter (B), lors des étapes 8.4 et 8.6 de la procédure, ajoutez 50 ml d'eau distillée et agitez l'ampoule dans les mêmes conditions que celles décrites au paragraphe (c). Laissez ensuite reposer jusqu'à ce que la phase supérieure (couche de n-butanol) et la phase inférieure (couche d'eau) soient complètement séparées.
- 8.7 Transférez le surnageant (couche de n-butanol) dans la fiole à fond plat préalablement pesée et procédez à la concentration sous vide (60 °C) jusqu'à élimination complète du liquide.

- 8.8 Séchez la fiole à fond plat dans un four de séchage à 105 °C pendant une heure et placez-la ensuite dans un dessiccateur à température ambiante. Laissez-la reposer pendant une heure puis pesez-la.
- 8.9 Calculez la teneur en n-butanol saturé d'eau de l'extrait de ginseng en appliquant la même méthode que celle décrite à l'étape 7.10.

ANNEXE V

Identification des ginsénosides Rb1 et Rf

Les ginsénosides des produits à base de ginseng sont analysés soit par chromatographie en couche mince (CCM), soit par chromatographie en phase liquide à haute performance (CLHP).

1. Préparation de la solution d'échantillon

Diluer l'extrait de 1-butanol séché obtenu selon la méthode de mesure de l'extrait n-butanol saturé d'eau décrite à l'Annexe IV dans 10 ml de méthanol puis filtrer dans un tamis de 0,45 µm.

2. Préparation de la solution type

Dissoudre les substances de référence pour les ginsénosides Rb1 et Rf dans du méthanol jusqu'à des concentrations de 0,2 pour cent puis filtrer les solutions sont filtrées dans un tamis de 0,45 µm.

3. Identification

3.1 Chromatographie sur couche mince (CCM)

3.1.1 Préparation du solvant de développement

- a) Mélanger n-butanol + acétate d'éthyle + eau dans les proportions respectives de 50/10/40 (A) ou chloroforme + méthanol + eau dans les proportions respectives de 65/35/10 (B) dans une ampoule à décanter.
- b) Bien agiter l'ampoule et laisser reposer jusqu'à ce que le solvant soit complètement séparé.
- c) Récupérer uniquement la couche supérieure si l'on utilise le solvant (A) comme solvant de développement et uniquement la couche inférieure si l'on utilise le solvant (B) et conserver les couches pour utilisation ultérieure. Récupérer au-dessus de (A) ou au-dessous de (B) la surface limite du solvant concerné lorsque chaque solvant est séparé et conservé pour améliorer la pureté du solvant de développement.

3.1.2 Chambre de développement

- a) Utiliser une chambre de développement munie d'un couvercle (la chambre de développement est hermétiquement fermée avec de la glycérine ou autre).
- b) Attacher du papier filtre sur les côtés et derrière l'intérieur de la chambre de développement et baigner avec le solvant de développement.
- c) Verser lentement le solvant de développement dans la chambre de développement (environ la moitié jusqu'à la ligne de dépôt de la plaque de chromatographie).
- d) Placer le couvercle et laisser reposer jusqu'à ce que l'intérieur de la chambre de développement soit suffisamment saturé (30 minutes).

3.1.3 Préparation de la CCM

- a) Découper la plaque de chromatographie en feuilles appropriées de plus de 10 cm de longueur et de largeur de manière à recevoir le nombre d'échantillons nécessaires pour identifier les ginsénosides.
- b) Placer la plaque dans un four de séchage propre et sécher à 110 °C pendant 10-15 minutes avant utilisation.
- c) Tracer un trait horizontal (ligne de dépôt) à 1 cm du bas de la plaque de chromatographie et marquer les endroits de dépôt des échantillons. Tracer ensuite un trait (ligne de front) à exactement 8 cm de la ligne de dépôt.

3.1.4 Identification de la CCM

- a) Déposer des échantillons de 5 microlitres des références de ginsénosides et des solutions d'échantillon préparées comme décrit ci-dessus sans cesser de sécher avec un séchoir. Déposer chaque échantillon de 5 µl soigneusement par petites gouttes sans écailler le gel de silice de la plaque de chromatographie et non pas en une seule goutte.
- b) Après avoir déposé toutes les gouttes, sécher la plaque de chromatographie avec un séchoir.
- c) Placer la plaque de chromatographie dans la chambre de développement avec sa ligne de dépôt au fond et développer les échantillons.
- d) Lorsque le solvant de développement atteint la ligne de front, retirer la plaque de chromatographie et la sécher avec un séchoir.

- e) Pulvériser uniformément une solution d'acide sulfurique à 10 pour cent sur la plaque de chromatographie.
- f) Placer la plaque dans un séchoir à 110 °C pendant cinq à 10 minutes pour la formation des couleurs.
- g) Comparer les valeurs de R_f et les couleurs des substances séparées de l'échantillon avec celles des références de ginsénosides pour identifier les ginsénosides dans les produits à base de ginseng.

$$R_f = \frac{\text{migration de la solution d'échantillon}}{\text{migration du solvant de développement}}$$

3.2 Chromatographie liquide à haute performance (CLHP)

La solution d'échantillon préparée selon la description ci-dessus et les références des ginsénosides sont analysées par CLHP dans les conditions décrites ci-dessous. On peut identifier les ginsénosides dans les solutions d'échantillon en comparant leurs temps de rétention avec les pics affichés par les ginsénosides dans les substances de référence.

<Conditions d'opération>

a) Colonne: Colonne ODS

b) Détecteur: UV (203nm) ou ELSD

c) Éluant

- UV: acétonitrile + eau (30/70, v/v)

- ELSD: acétonitrile + eau + isopropanol (94,9:5,0:0,1, v/v/v)

d) Débit: 1,0 ml/min~2,0 ml/min

- ※ Les conditions d'analyse peuvent être ajustées en fonction des conditions de laboratoire mais les pics de R_{b1} , et R_f dans le chromatogramme ne devraient PAS être situés dans les cinq premières minutes NI dans les cinq dernières minutes du temps de rétention.

Référence 1

Procédure opérationnelle standard pour la détermination de la teneur en humidité

1. Champ d'application

Cette méthode peut être utilisée pour l'analyse du ginseng et de l'extrait de ginseng séchés.

2. Principes

On suppose que l'humidité est le seul composant volatil dans l'aliment. Lorsque la pression de la vapeur d'eau dans l'aliment augmente sous l'effet de la chaleur, celle de l'environnement est réduite par rapport à celle de l'aliment. L'humidité dans un échantillon d'aliment peut s'évaporer complètement lorsque celui-ci est chauffé à 105 °C sans qu'aucun changement chimique ne se produise.

3. Équipement et matériel

3.1 Pèse-filtre avec couvercle

3.2 Baguette de verre (Elle devrait sortir d'au moins 1,5 cm de la surface du sable marin lorsqu'on l'insère à un angle de 45° dans un pèse-filtre contenant 20 g de sable marin.)

3.3 Four de séchage équipé d'un thermostat ($\pm 1^\circ\text{C}$ contrôle de la température)

3.4 Balance électronique (mesurant jusqu'à 0,1 mg)

3.5 Sable marin (tamis de 20-35)

3.6 Dessiccateur (gel de silice)

3.7 Broyeur

3.8 Pincettes

4. Prétraitement des échantillons

Dans le cadre de l'expérience, les échantillons de ginseng séché sont pulvérisés dans un broyeur jusqu'à obtention de particules de quelque 3 mm. L'extrait de ginseng est utilisé tel quel dans l'expérience.

5. Procédures expérimentales – Ginseng et extrait de ginseng séchés (en poudre)

5.1 Sécher un pèse-filtre et un couvercle séparément dans un four de séchage à 105 °C pendant cinq heures. Placer ensuite le pèse-filtre bien bouché dans un dessiccateur, laisser reposer à température ambiante pendant 30 minutes puis le peser.

5.2 Répéter l'étape 5.1 de la procédure jusqu'à obtention d'un poids constant pour le pèse-filtre et le couvercle. À noter toutefois que le temps de séchage devrait prendre une à deux heures.

5.3 Peser précisément environ 2 g de l'échantillon et le placer dans le pèse-filtre dont le poids constant est noté.

5.4 Sécher le pèse-filtre contenant l'échantillon dans un four de séchage à 105 °C pendant trois heures. Laisser le pèse-filtre légèrement entrouvert pour sécher l'échantillon.

5.5 Placer le pèse-filtre bien fermé avec son couvercle dans un dessiccateur, laisser reposer à température ambiante pendant 30 minutes, puis le peser.

5.6 Répéter les étapes 5.4 et 5.5 de la procédure jusqu'à obtention d'un poids constant pour le pèse-filtre contenant l'échantillon. À noter toutefois que le temps de séchage devrait prendre une à deux heures.

5.7 La teneur en humidité est calculée comme suit:

$$\text{Teneur en humidité dans l'échantillon (\%)} = \frac{S - (W_1 - W_0)}{S} \times 100$$

W_0 : Poids du pèse-filtre (g)

W_1 : Poids du pèse-filtre contenant l'échantillon après séchage (g)

S: Poids de l'échantillon (g)

6. Procédures expérimentales – Extrait de ginseng (sous forme liquide)

6.1 Sécher le pèse-filtre contenant 20 g de sable marin et une baguette de verre dans un four de séchage à 105 °C pendant cinq heures.

- 6.2 Une fois le séchage terminé, placer le pèse-filtre dans un dessiccateur, le laisser reposer à température ambiante pendant 30 minutes puis le peser.
- 6.3 Répéter les étapes 6.1 et 6.2 de la procédure jusqu'à obtention d'un poids constant pour le pèse-filtre contenant le sel marin et la baguette de verre. À noter toutefois que le temps de séchage devrait prendre une à deux heures.
- 6.4 Peser précisément environ 1,5 g de l'échantillon et le placer dans le pèse-filtre dont le poids constant est noté. Ensuite, bien mélanger l'échantillon avec le sable marin et étaler uniformément le mélange sur la surface des parois du pèse-filtre à l'aide de la baguette de verre.
- 6.5 Les autres étapes d'analyses et calculs sont identiques à celles décrites aux points 5.4 et 5.5 de la section 5 ci-dessus.

Référence 2

Procédure opérationnelle standard pour la détermination de la teneur en cendres

1. Champ d'application

Cette méthode peut être utilisée pour l'analyse d'échantillons de ginseng séché.

2. Principes

Les échantillons sont recueillis dans un récipient (creuset) pour analyser les cendres et brûlés à 525-600 °C afin d'éliminer les substances organiques. On considère que le poids minéral total du reliquat d'échantillon correspond à la teneur en cendres.

3. Équipement et matériel

- 3.1 Creuset en porcelaine avec couvercle
- 3.2 Plaque chauffante électrique
- 3.3 Four électrique équipé d'un thermostat (± 1 °C contrôle de température)
- 3.4 Balance électronique (mesurant jusqu'à 0,1 mg)
- 3.5 Dessiccateur (gel de silice)
- 3.6 Broyeur
- 3.7 Pincettes

4. Prétraitement des échantillons

Dans le cadre de l'expérience, les échantillons de ginseng séché sont pulvérisés dans un broyeur jusqu'à obtention de particules de quelque 3 mm.

5. Procédures expérimentales

- 5.1 Chauffer un creuset en porcelaine propre dans un four électrique à 550 °C pendant trois heures. Le laisser reposer pendant une heure à température ambiante puis le peser.
- 5.2 Répéter l'étape 5.1 de la procédure jusqu'à obtention d'un poids constant. À noter toutefois que le temps d'incinération devrait prendre une à deux heures.
- 5.3 Peser précisément environ 3 g de l'échantillon dans le creuset en porcelaine dont le poids constant est noté.
- 5.4 Placer le creuset en porcelaine contenant l'échantillon dans un four électrique à 550 °C et incinérer l'échantillon en chauffant le creuset muni de son couvercle jusqu'à la formation de cendres blanches ou d'un blanc cendré éclatant.
- 5.5 Une fois l'incinération terminée, placer le creuset en porcelaine contenant l'échantillon dans un dessiccateur, le laisser reposer à température ambiante pendant une heure puis le peser.
- 5.6 Répéter les étapes 5.4 et 5.5 de la procédure jusqu'à obtention d'un poids constant du creuset en porcelaine contenant l'échantillon. À noter toutefois que le temps d'incinération devrait prendre une à deux heures.

5.7 La teneur en cendres est calculée comme suit:

$$\text{Teneur en cendres de l'échantillon (\%)} = \frac{W_2 - W_1}{S} \times 100$$

W_1 : Poids du creuset en porcelaine avant incinération (g)

W_2 : Poids du creuset en porcelaine après incinération (g)

S: Poids de l'échantillon (g)

COMITÉ SUR LES CONTAMINANTS DANS LES ALIMENTS (CCCF)**PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE POUR LES FUMONISINES (FB1 + FB2) DANS LES GRAINS DE MAÏS ET LA FARINE ET LA SEMOULE DE MAÏS****Grains de maïs brut**

Limite maximale	4 000 µg/kg FB1 + FB2
Augmentations	Augmentations de 100 g, en fonction du poids du lot (≥ 50 tonnes)
Taille de l'échantillon global	5 kg (lot ≥ 50 tonnes)
Préparation de l'échantillon	Broyer à sec dans un broyeur approprié (les particules ne doivent pas dépasser 0,85 mm - 20 mailles)
Taille de l'échantillon de laboratoire	1 kg
Effectif des échantillons de laboratoire	1
Prise d'essai	Prise d'essai de 25 g
Méthode	CLHP
Règle de décision	Si le résultat du test pour les fumonisines pour les échantillons de laboratoire est égal ou inférieur à 4 000 µg/kg, le lot doit être accepté. Sinon, il faut rejeter le lot.

Farine et semoule de maïs

Limite maximale	2 000 µg/kg FB1 + FB2
Augmentations	10 x 100 g
Taille de l'échantillon global	1 kg
Préparation de l'échantillon	Aucune
Taille de l'échantillon de laboratoire	Prise d'essai de 25 g
Effectif des échantillons de laboratoire	1
Prise d'essai	La même que pour l'échantillon de laboratoire
Méthode	CLHP
Règle de décision	Si le résultat du test pour les fumonisines est égal ou inférieur à 2 000 µg/kg, le lot doit être accepté. Sinon, il faut rejeter le lot.

DÉFINITIONS

Lot – Quantité identifiable d'un produit alimentaire livré en une seule fois et qui, de l'avis de l'agent d'échantillonnage, présente des caractères communs, tels que l'origine, la variété, le type d'emballage, l'emballer, l'établissement d'emballage ou les marques.

Sous-lot – Partie déterminée d'un gros lot sur laquelle sera appliquée la méthode d'échantillonnage. Chaque sous-lot doit être physiquement séparé et identifiable.

Plan d'échantillonnage – Il est défini par une procédure d'essai de fumonisine et une limite d'acceptation ou de rejet. Cette procédure comprend trois étapes: collecte de l'échantillon, préparation de l'échantillon et analyse ou quantification de la fumonisine. La limite d'acceptation ou de rejet est le seuil de tolérance habituellement égal à la limite maximale Codex.

Échantillon supplémentaire – Quantité de matériel prélevé en n'importe quel point du lot ou du sous-lot.

Échantillon global – Total de tous les échantillons supplémentaires provenant du lot ou du sous-lot. L'échantillon global doit être au moins aussi gros que l'échantillon de laboratoire ou les échantillons combinés.

Échantillon de laboratoire – La plus petite quantité de maïs décortiqué pulvérisée dans un broyeur. L'échantillon de laboratoire peut être une partie de l'échantillon global entier. Si l'échantillon global dépasse l'échantillon de laboratoire, un échantillon de laboratoire doit être prélevé d'une manière aléatoire sur l'échantillon global.

Prise d'essai – Partie de l'échantillon de laboratoire pulvérisé. L'échantillon de laboratoire entier doit être pulvérisé dans un broyeur. Une partie de cet échantillon est prélevée d'une manière aléatoire pour l'extraction de la fumonisine aux fins de l'analyse chimique.

Courbe d'efficacité (OC) – Un graphique de la probabilité de l'acceptation d'un lot par rapport à la concentration dans le lot lors de l'utilisation d'un modèle de plan d'échantillonnage donné. La courbe d'efficacité fournit une estimation des bons lots rejetés (risque de l'exportateur) et des mauvais lots acceptés (risque de l'importateur) par un modèle donné de plan d'échantillonnage pour la fumonisine. On entend par bon lot un lot dans lequel la concentration de fumosinine est inférieure à la limite maximale; on entend par mauvais lot un lot dans lequel la concentration de fumosinine est supérieure à la limite maximale.

CONSIDÉRATIONS RELATIVES À LA CONCEPTION DU PLAN D'ÉCHANTILLONNAGE

Matériau à échantillonner

1. Chaque lot de maïs à examiner pour la fumonisine doit être échantillonné séparément. Les lots supérieurs à 50 tonnes doivent être sous-divisés en sous-lots afin d'être échantillonnés séparément. Si un lot est supérieur à 50 tonnes, il doit être subdivisé en sous-lots comme au tableau 1.

Tableau 1. Sous-division des sous-lots de maïs selon le poids du lot

Poids du lot (tonnes)	Poids ou nombre de lots	Nombre d'échantillons supplémentaires	Poids de l'échantillon global
≥ 1 500	500	100	5
> 300 et < 1 500	3 sous-lots	100	5
50 et 300	100 tonnes	100	5
< 50	-	3 - 100*	1 - 5

* voir tableau 2

2. Compte tenu que le poids du lot n'est pas toujours un multiple exact du poids des sous-lots, le poids du sous-lot peut dépasser le poids mentionné de 20 pour cent au maximum.

Échantillon supplémentaire

3. Le poids minimum suggéré de l'échantillon supplémentaire devrait être approximativement de 100 grammes pour les lots d'au moins 50 tonnes métriques (50 000 kg).
4. Pour des lots de moins de 50 tonnes, le plan d'échantillonnage doit être utilisé avec 10 à 100 échantillons supplémentaires, en fonction du poids du lot, pour obtenir un échantillon global de 1 à 5 kg. Pour de très petits lots ($\leq 0,5$ tonnes), on prélèvera un plus petit nombre d'échantillons supplémentaires, mais l'échantillon global comprenant tous les échantillons supplémentaires devra aussi dans ce cas être au moins d'un kilogramme. Les chiffres du tableau 2 peuvent être utilisés pour déterminer le nombre d'échantillons supplémentaires à prélever.

Tableau 2. Nombre d'échantillons supplémentaires à prélever en fonction du poids du lot

Poids du lot (tonnes)	Nombre d'échantillons supplémentaires
≥ 0,05	3
> 0,05 - ≤ 0,5	5
> 0,5 - ≤ 1	10
> 1 - ≤ 3	20
> 3 - ≤ 10	40
> 10 - ≤ 20	60
> 20 - ≤ 50	100

Lots statiques

5. On entend par lot statique une grande masse de maïs décortiqué contenue soit dans un seul grand conteneur comme un chariot, un camion ou un wagon, ou dans de nombreux petits conteneurs tels que des sacs ou des boîtes, le maïs étant statique au moment où l'échantillon est collecté. Collecter un échantillon véritablement aléatoire dans un lot statique peut être difficile car tous les conteneurs du lot ou du sous-lot ne sont pas nécessairement accessibles.

6. Prélever des échantillons supplémentaires dans un lot statique exige en général l'emploi de sondes pour collecter le produit dans le lot. Les sondes utilisées doivent être spécialement conçues en fonction du produit et du type de conteneur. La sonde: 1) doit être assez longue pour atteindre tout le produit, 2) ne doit exclure aucun élément du lot de la collecte, et 3) ne doit pas altérer les éléments du lot. Comme mentionné ci-dessus, l'échantillon global doit être un mélange de nombreux petits fragments de produit pris en différents points du lot.
7. Pour les lots commercialisés sous emballages individuels, la fréquence d'échantillonnage (SF), ou le nombre de paquets dans lesquels les échantillons supplémentaires sont prélevés, est fonction du poids du lot (LT), du poids de l'échantillon supplémentaire (IS), du poids de l'échantillon global (AS) et du poids d'un paquet individuel (IP), comme suit:

$$SF = (LT \times IS) / (AS \times IP).$$
8. La fréquence d'échantillonnage (SF) est le nombre de paquets échantillonnés. Tous les poids doivent être exprimés dans les mêmes unités de masse, par exemple en kilogrammes.

Lots dynamiques

9. Il est plus facile d'obtenir des échantillons globaux représentatifs en sélectionnant des échantillons élémentaires dans un flux continu de maïs décortiqué lorsque le lot est transféré d'un endroit à un autre. Lorsqu'on prélève des échantillons dans un flux, il faut prendre de petits fragments de produit sur toute la longueur du flux et mélanger les échantillons supplémentaires pour obtenir un échantillon global; si l'échantillon global est plus gros que le ou les échantillon(s) de laboratoire requis, il faut mélanger et subdiviser cet échantillon pour obtenir le ou les échantillon(s) de laboratoire de la taille requise.
10. Des dispositifs d'échantillonnage automatique, comme par exemple l'échantillonneur transversal, sont vendus dans le commerce, dotés de compte-minutes, qui effectuent automatiquement des prélèvements à l'aide d'un bec déflecteur dans le flux à intervalles préétablis et réguliers. Quand on ne dispose pas d'équipement automatique, on peut charger quelqu'un de passer manuellement une palette dans le flux à intervalles réguliers pour collecter les échantillons supplémentaires. Que l'on utilise des méthodes automatiques ou des méthodes manuelles, les échantillons supplémentaires doivent être prélevés et mélangés à intervalles fréquents et réguliers tout au long du passage du flux de maïs au point d'échantillonnage.
11. Les échantillonneurs transversaux doivent être installés de la manière suivante: 1) le plan de l'ouverture du bec déflecteur doit être perpendiculaire à la direction du flux; 2) le bec déflecteur doit traverser toute la section du flux; et 3) l'ouverture du bec déflecteur doit être assez large pour pouvoir collecter tous les éléments intéressants du lot. En règle générale, la largeur de l'ouverture du bec déflecteur doit être d'environ trois fois les dimensions les plus grandes des éléments du lot.
12. La taille de l'échantillon global (S) en kg, prélevé dans un lot par un échantillonneur transversal est la suivante:

$$S = (D \times LT) / (T \times V),$$

où D est la largeur de l'ouverture du bec déflecteur (en cm), LT est le poids du lot (en kg), T est l'intervalle ou le temps qui s'écoule entre les prélèvements dans le flux (en secondes) et V est la vitesse (en cm/sec) du bec.
13. Si le débit massique du flux, MR (kg/sec), est noté, alors la fréquence de l'échantillonnage (SF) ou le nombre de prélèvements effectués par le dispositif d'échantillonnage automatique, peut être calculée en tant que fonction de S, V, D, et MR.

$$SF = (S \times V) / (D \times MR).$$

Emballage et transport des échantillons

14. Chaque échantillon de laboratoire devra être placé dans un récipient propre et inerte offrant une protection adéquate contre la contamination, la lumière du jour, et contre tout dommage que pourrait subir l'échantillon pendant le transport. Toutes les précautions nécessaires devront être prises pour éviter tout changement dans la composition de l'échantillon de laboratoire qui pourrait survenir durant le transport ou l'entreposage. Les échantillons devront être entreposés dans un endroit frais et dans l'obscurité.
15. Chaque échantillon de laboratoire prélevé pour un usage officiel devra être plombé sur le lieu de l'échantillonnage et identifié. Il faudra enregistrer chaque échantillon afin que chaque lot puisse être identifié sans ambiguïté, indiquer la date et le lieu de l'échantillonnage et fournir toute information supplémentaire qui pourrait être utile à l'analyste.

PRÉPARATION DE L'ÉCHANTILLON

16. La lumière du jour est autant que possible à éviter pendant la préparation des échantillons, car la fumonisine peut se décomposer progressivement sous l'influence des ultraviolets. Par ailleurs, la température ambiante et l'humidité relative doivent être contrôlées afin de ne pas favoriser le développement des moisissures et la formation de fumonisine.
17. Comme la répartition de la fumonisine est extrêmement hétérogène, les échantillons de laboratoire doivent être homogénéisés en broyant la totalité des échantillons soumis au laboratoire. L'homogénéisation est un procédé qui réduit la taille des particules et disperse les particules contaminées de façon homogène dans l'ensemble de l'échantillon de laboratoire pulvérisé.
18. L'échantillon de laboratoire doit être finement broyé et parfaitement mélangé grâce à un procédé qui permet à l'homogénéisation d'être aussi complète que possible. L'homogénéisation complète implique que la taille des particules est extrêmement réduite et que la variabilité associée à la préparation de l'échantillon est proche de zéro. Après broyage, le broyeur doit être nettoyé pour prévenir toute contamination croisée.

Prise d'essai

19. La taille recommandée de la prise d'essai obtenue à partir de l'échantillon de laboratoire pulvérisé doit être approximativement de 25 g.
20. Les procédures de sélection de la prise d'essai dans l'échantillon de laboratoire pulvérisé doivent être appliquées de façon aléatoire. Si le mélange a eu lieu pendant ou après le processus de pulvérisation, la prise d'essai peut être prélevée dans n'importe quelle partie de l'échantillon de laboratoire. Sinon, la prise d'essai doit être obtenue par accumulation de plusieurs petites portions prélevées dans l'ensemble de l'échantillon de laboratoire.
21. Il est recommandé de prélever trois prises d'essai dans chaque échantillon de laboratoire pulvérisé. Les trois prises d'essai seront utilisées aux fins d'application, d'appel et de confirmation, le cas échéant.

MÉTHODES D'ANALYSE

22. Il conviendra d'utiliser une approche à base de critères, qui fixe une série de critères d'efficacité auxquels la méthode d'analyse utilisée doit être conforme. Cette approche à base de critères présente l'avantage de ne pas obliger à fournir des détails spécifiques sur la méthode utilisée et permet donc de profiter des progrès de la méthodologie sans avoir à réexaminer ou à modifier la méthode spécifiée. Une liste de critères et de niveaux de performance figure au tableau 3 (Règlement CE N° 401/2006). En adoptant cette approche, les laboratoires seraient libres d'utiliser la méthode d'analyse convenant le mieux à leurs installations.

Tableau 3. Critères de performance pour les fumonisines B1 et B2

Limite (µg/kg)	Précision		Récupération (%)
	RSDR (≤ %)	RSDR (≤ %)	
≤ 500	≤ 30	≤ 60	60 à 120
> 500	≤ 20	≤ 30	70 à 110