



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

**NORMA MEXICANA**

**NMX-F-188-SCFI-2012**

**EXTRACTO NATURAL DE VAINILLA (*Vanilla* spp.),  
DERIVADOS Y SUSTITUTOS - ESPECIFICACIONES Y  
MÉTODOS DE PRUEBA**

**NATURAL VANILLA EXTRACT (*Vanilla* spp.), DERIVATES AND  
SUBSTITUTES - SPECIFICATION AND TEST METHODS**



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-F-188-SCFI-2012

## PREFACIO

En la elaboración de la presente norma mexicana participaron las siguientes empresas e instituciones:

- ADRIÁ VAINILLAS, S.A. DE C.V.
- BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA.  
Facultad de Ingeniería Agrohidráulica.
- BUFETE QUÍMICO, S.A. DE C.V.
- CÁMARA NACIONAL DE LA INDUSTRIA DE LA TRANSFORMACIÓN  
(CANACINTRA).  
Rama 29 del Sector Químico.
- COMITÉ SISTEMA PRODUCTO NACIONAL DE LA VAINILLA, A.C.  
Comité Estatal del Sistema Producto Vainilla de Oaxaca, A.C.  
Comité Estatal del Sistema Producto Vainilla del Estado de San  
Luis Potosí, A.C.  
Comité Sistema Producto Vainilla de Puebla, A.C.  
Comité Sistema Producto Vainilla de Veracruz (COMSISPRO  
Vainilla de Veracruz, A.C.)
- COMITÉ TÉCNICO DE NORMALIZACIÓN NACIONAL DE  
PRODUCTOS AGRÍCOLAS Y PECUARIOS (CTNNPAP).
- CONSEJO NACIONAL DE PRODUCTORES VAINILLEROS, A.C.  
(CONAVAI).
- CRYSTAL VANILLA, S.A. DE C.V.
- COORDINADORA NACIONAL DE LAS FUNDACIONES PRODUCE,  
A.C.  
Fundación Produce Oaxaca, A.C.  
Fundación Produce Puebla, A.C.  
Fundación Produce San Luis Potosí, A.C.  
Fundación Produce Veracruz, A.C.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- DESARROLLO AGROINDUSTRIAL GAYA S.A. DE C.V.
- DEIMAN, S.A. DE C.V.
- INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES FORESTALES,  
AGRÍCOLAS Y PECUARIAS (INIFAP).  
Centro de Investigación del Golfo Centro.  
Campo Experimental Ixtacuaco.
- INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN  
"SALVADOR ZUBIRÁN"
- INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TUXTEPEC.
- GAYA VAI-MEX, S.A. DE C.V.
- GLOBAL FUNGI, S.P.R. DE R.L. DE C.V.
- LABORATORIOS ITALO GAYA CAPELLINI, S.A. DE C.V.
- LABORATORIOS CASTELLS, S.A. DE C.V.
- LABORATORIO QUIBIMEX, S.A. DE C.V.
- PANAMERICANA ABARROTERA, S.A. DE C.V.
- PROCURADURÍA FEDERAL DEL CONSUMIDOR.  
Dirección General de Verificación y Vigilancia.  
Laboratorio Nacional de Protección al Consumidor.
- PRODUCTOS UVAVIÑA, S.A. DE C.V.
- PRO-AGRO, S.A. DE C.V.
- SECRETARÍA DE AGRICULTURA, GANADERÍA, DESARROLLO  
RURAL, PESCA Y ALIMENTACIÓN.  
Dirección General de Fomento a la Agricultura.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- SECRETARÍA DE DESARROLLO RURAL DEL GOBIERNO DEL ESTADO DE PUEBLA.
- SECRETARÍA DE ECONOMÍA.  
Dirección General de Normas.
- SERVICIO NACIONAL DE INSPECCIÓN Y CERTIFICACIÓN DE SEMILLA (SNICS).  
Sistema Nacional de Recursos Fitogenéticos para la agricultura y la alimentación (SINAREFI), Red Vainilla.
- SIGMA ALIMENTOS, S.A DE C.V.
- SOCIEDAD MEXICANA DE NORMALIZACIÓN Y CERTIFICACIÓN, S.C. (NORMEX).
- THE MEXICAN VAINILLA PLANTATION, S.A. DE C.V.
- UNIVERSIDAD DE LAS AMERICAS, PUEBLA, A.C.  
Departamento de Ingeniería Química, Alimentos y Ambiental.  
Laboratorio de Control de Calidad.
- UNIVERSIDAD LA SALLE.  
Facultad de Ciencias Químicas
- VEINTE SOLES, S.P.R. DE R.L.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-F-188-SCFI-2012

## ÍNDICE DEL CONTENIDO

<b>Número del capítulo</b>		<b>página</b>
1	OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN	1
2	REFERENCIAS	2
3	TERMINOLOGÍA	3
4	SÍMBOLOS Y ABREVIATURAS	5
5	CLASIFICACIÓN Y DESIGNACIÓN DEL PRODUCTO	5
6	ESPECIFICACIONES	6
7	MUESTREO	7
8	MÉTODOS DE PRUEBA	8
9	HIGIENE	44
10	ENVASE Y EMBALAJE	44
11	INFORMACIÓN COMERCIAL	45
12	VIGENCIA	45
13	BIBLIOGRAFÍA	45
14	CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES	48



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

## NORMA MEXICANA

**NMX-F-188-SCFI-2012**

### **EXTRACTO NATURAL DE VAINILLA (*Vanilla spp.*), DERIVADOS Y SUSTITUTOS - ESPECIFICACIONES Y MÉTODOS DE PRUEBA**

NATURAL VANILLA EXTRACT (*Vanilla spp.*), DERIVATES AND  
SUBSTITUTES - SPECIFICATION AND TEST METHODS

#### **1 OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN**

##### **1.1 Objetivo**

La presente norma mexicana establece las especificaciones y métodos de prueba que aplican a los productos elaborados con vainilla, sus derivados y sustitutos que se comercialicen en el territorio nacional.

##### **1.2 Campo de Aplicación**

La presente norma mexicana aplica al extracto natural de vainilla, extracto concentrado de vainilla, saborizante artificial de vainilla, saborizante natural de vainilla y vainilla en polvo que se comercializan dentro del territorio nacional.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

## 2 REFERENCIAS

Para la correcta aplicación de la presente norma mexicana se deben consultar las siguientes normas oficiales mexicanas y normas mexicanas vigentes o las que las sustituyan:

NOM-139-SCFI-1999	Información Comercial – Etiquetado de Extracto Natural de Vainilla ( <i>Vanilla</i> spp.), derivados y sustitutos, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 22 de marzo de 2000.
NOM-251-SSA1-2009	Prácticas de higiene para el proceso de alimentos, bebidas o suplementos alimenticios, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 1 de marzo de 2010.
NMX-F-103-NORMEX-2009	Alimentos – Determinación de Grados Brix en alimentos y bebidas – Método de ensayo (prueba). Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 19 de junio de 2009.
NMX-F-619-NORMEX	Alimentos – Determinación de Densidad Relativa en Bebidas No Alcohólicas – Método de Prueba. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 29 de diciembre de 2006.
NMX-FF-074-SCFI-2009	Productos No Industrializados para Uso Humano – Vainilla – [ <i>Vanilla fragans</i> (Salisbury)] Ames – Especificaciones y Métodos de Prueba. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de Federación el 13 de noviembre de 2009.
NMX-Z-012/1-SCFI-1987	Muestreo para la inspección por atributos – Parte 1 – Información General y Aplicaciones. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 28 de octubre de 1987.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-Z-012/2-SCFI-1987 Muestreo para la inspección por atributos - Parte 2 - Método de Muestreo, Tablas y Graficas. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 28 de octubre de 1987.

NMX-Z-012/3-SCFI-1987 Muestreo para la inspección por atributos - Parte 3 - Regla de cálculo para la determinación de planes de muestreo. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 31 de julio de 1987.

### **3 TERMINOLOGÍA**

Para efectos de la aplicación de la presente norma mexicana además de consultarse las definiciones establecidas en la NMX-FF-74-SCFI-2009 (véase 2 Referencias) se establecen las siguientes:

#### **3.1 Acuerdo:**

Documento en el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios emitido por la Secretaría de Salud (véase 13.3 Bibliografía).

#### **3.2 Extracto:**

Al producto obtenido de los vegetales por maceración, percolación, destilación u otros procedimientos que permitan extraerles los principales saboreadores y aromatizantes.

#### **3.3 Extracto natural de vainilla:**

Solución hidroalcohólica con vainas de vainillas beneficiadas, color ámbar obtenida mediante diferentes procesos, tales como la maceración, percolación o filtración, entre otros. La concentración del alcohol etílico no debe ser menor del 35 % v/v y debe contener por lo menos una UCV.

#### **3.4 Extracto concentrado de vainilla:**

Aquel que de acuerdo al UCV (véase 3.10) presenta una concentración doble (2x), triple (3x) o mayor. La concentración del alcohol etílico no debe ser menor del 35 % v/v.





SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

**3.5 Saboreador, saborizante o aromatizante natural:**

A la preparación de sustancias o sus mezclas obtenidas exclusivamente por procesos físicos, a partir de vegetales o de materias primas de origen animal en su estado natural o procesadas o por fermentación de materias lácteas y que son aptas para consumo humano.

**3.6 Saboreador, saborizante o aromatizante sintético – artificial:**

A las sustancias que no han sido aún identificadas en productos naturales procesados o no y que son aptas para consumo humano.

**3.7 Vainilla beneficiada:**

Fruto sometido a un proceso de beneficiado y que ha desarrollado el aroma, color y sabor característicos de la vainilla, principalmente mediante la acción metabólica de sus enzimas.

**3.8 Vainilla en polvo o polvo vainillado:**

Son los frutos beneficiados de vainilla molida o bien la mezcla de esta con uno o más de los siguientes ingredientes: azúcar, dextrosa, lactosa, almidón comestible, sólidos de jarabe de maíz o goma de acacia.

En el caso de mezclas, estas deben contener por lo menos una UCV por cada 3.6287 kg del producto. Puede contener aquellos ingredientes anti-aglutinantes permitidos en el Acuerdo, sin que estos excedan el 2 % del peso de la vainilla en polvo terminado.

**3.9 Vainillina:**

Principal componente aromático de la vainilla, cuyo nombre químico corresponde a 3-metoxi-4-hidroxibenzaldehído.

**3.10 Unidad de Concentración de Vainilla (UCV):**

Extracto obtenido a partir de 100 g de vaina de vainilla beneficiada, que presente un 25 % de humedad, en un litro de solvente, equivalente a por lo menos 0.11 g de vainillina en 100 mL. Una UCV es igual a  $x$  (1 UCV =  $1x$ ).



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

°C	grados Celsius
cm	centímetro
cmHg	centímetros de mercurio
g	gramo
kg	kilogramo
kg/m <sup>3</sup>	kilogramo/metro cúbico
kPa	kilo Pascal (10 <sup>3</sup> Pa)
LDI	límite de detección del instrumento
LDM	límite de detección máxima
M	molar
MCC	muestra de control de calidad
mg	miligramo
mL	mililitro
mm	milímetro
mmHg	milímetros de mercurio
min	minuto
nm	nanómetro
N	normal
p/v	peso/volumen
rpm	revoluciones por minuto
UCV	unidad de concentración de vainilla
1UCV	1x
v/v	volumen/volumen
µm	micrómetro
%	por ciento

## 5 CLASIFICACIÓN Y DESIGNACIÓN DEL PRODUCTO

### 5.1 Clasificación

Los productos objeto de esta norma se clasifican:

#### 5.1.1 Por su naturaleza:

- Extractos.
- Saborizantes.

#### 5.1.2 Los extractos de vainilla pueden ser:

- Naturales.
- Naturales concentrados.
- 

#### 5.1.3 Los saborizantes pueden ser:



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- Naturales.
- Artificiales.

## 5.2 Designación del producto

Los productos de vainilla deben denominarse de acuerdo a lo siguiente:

- 5.2.1 Vainilla, extracto natural (véase 3.3).
- 5.2.2 Vainilla, extracto natural concentrado (véase 3.4).
- 5.2.3 Vainilla, saborizante natural (véase 3.5).
- 5.2.4 Vainilla, saborizante artificial (véase 3.6).
- 5.2.5 Vainilla en polvo o polvo vainillado (véase 3.8).

## 6 ESPECIFICACIONES

- 6.1 La composición de los extractos de vainilla varía de acuerdo al tipo y calidad de la vainilla utilizada para su elaboración, así como del proceso y condiciones de operación utilizados para la extracción de este producto. El contenido de compuestos responsables del aroma en las vainas de vainilla afectan en gran parte la composición del extracto obtenido. La composición del extracto de vainilla concentrado se indica en la tabla 1.

**TABLA 1.- Composición de los extractos de vainilla**

Extractos de vainilla	Mínimo	Máximo	Promedio
Vainillina (1)	0.110	0.350	0.190
Cenizas (1)	0.220	0.432	0.319
Cenizas solubles (1)	0.179	0.357	0.265
Cantidad de plomo (Winton)	0.400	0.740	0.540
Alcalinidad de cenizas (2)	30.000	54.000	---
Alcalinidad de cenizas solubles (2)	22.000	40.000	30.000
Acidez total (3)	30.000	52.000	42.000
Acidez incluyendo vainillina (3)	14.000	42.000	---
Resina (3)	0.900	0.120	---
Color soluble en alcohol etílico (%)	---	35%	25%
Grados Brix	19	24	---

- (1) gramos por 100 mL de extracto.
- (2) mL de ácido 0.1 N por 100 mL de extracto.
- (3) mL de álcali 0.1 N por 100 mL de extracto.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 6.1.1** El extracto de vainilla debe estar exento de microorganismos patógenos y de toda sustancia toxica producida por los mismos. No debe contener organismos patógenos que puedan desarrollarse en condiciones normales de almacenamiento, fuera de los establecidos por la Secretaría de Salud.
- 6.1.2** El producto objeto de esta norma no debe contener ningún contaminantes en cantidades que puedan representar un riesgo para la salud. Los límites de tolerancia quedan sujetos a los establecidos por la Secretaría de Salud.
- 6.1.3** El producto objeto de esta norma debe estar libre de materiales extraños objetables, tales como insectos segmentados.

Para la determinación de estas especificaciones, se puede consultar la tabla 2 y el capítulo 8 de la presente norma mexicana.

## **7 MUESTREO**

Cuando se requiera el muestreo del producto, éste podrá ser establecido de común acuerdo entre productor y comprador. En caso de no contarse con un método preestablecido, se recomienda el uso de las normas mexicanas NMX-Z-012-1-1987, NMX-Z-012-2-1987 y NMX-Z-012-3-1987 (véase 2 Referencias).

- 7.1** Submuestreo
  - 7.1.1** Es importante que la muestra que se reciba en el laboratorio, sea verdaderamente representativa y que no sufra daños o cambios en su transporte o almacenamiento.
  - 7.1.2** Mezclar u homogenizar la muestra con agitación manual o mecánica tratando de asegurar una completa incorporación de la muestra; tomar una cantidad representativa del total de la muestra y pasar a un recipiente con tapa hermética y almacenar. Esta será la muestra para realizar los análisis.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

## 8 MÉTODOS DE PRUEBA

Los métodos analíticos que se han desarrollado para determinar la pureza y autenticidad de los extractos de vainilla están basados en la determinación de la cantidad de los principales componentes de los extractos.

Asimismo, permiten detectar los compuestos químicos volátiles que se pudieran adicionar como adulterantes a los extractos.

Las adulteraciones de los extractos de vainilla son compuestos que están presentes en forma natural en los extractos, se pueden detectar cuando se realiza la cuantificación de estos componentes en las muestras y los valores obtenidos se comparan con la composición cuantitativa de extractos de vainilla no adulterados.

Con estos métodos se pueden determinar adulteraciones con vainilla sintética, que a nivel comercial es la adulteración más común.

Los componentes del extracto de vainilla sirven como indicadores para determinar la pureza y la adulteraciones de los extractos de vainilla son principalmente en el contenido de vainillina y ácidos orgánicos (véase tabla 2).

**TABLA 2.- Indicadores para determinar la pureza y las adulteraciones de los extractos de vainilla**

Determinación		Descripción del método
Gravedad específica del extracto de vainilla (densidad) por el método picnométrico		8.1
Determinación de vainillina (C <sub>8</sub> H <sub>8</sub> O <sub>3</sub> ), etil vainillina (C <sub>9</sub> H <sub>10</sub> O <sub>3</sub> ) y cumarina (C <sub>19</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> ) en extracto de vainilla por el método de separación cromatográfica		8.2
Determinación de plomo en el extracto de vainilla	Método tritrimético	8.3.1
	Método de espectrometría de absorción atómica)	8.3.2
Determinación de aditivos y saborizantes en extracto de vainilla por el método de cromatografía (capa fina)		8.4
Determinación de ácidos orgánicos en extracto de vainilla por el método de selección de cromatografía en papel		8.5



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-F-188-SCFI-2012  
9/48

(Concluye)

Determinación	Descripción del método
Determinación de alcohol en extracto de vainilla por el método picnométrico	8.6
Determinación de resinas de vainilla en el extracto de vainilla mediante la prueba cuantitativa en cromatografía de papel.	8.7
Determinación del color insoluble en alcohol amílico en extracto de vainilla por el método colorimétrico.	8.8
Determinación de grados Brix	8.9

**8.1** Determinación de la gravedad específica del extracto de vainilla por el método picnométrico

Para la determinación de la gravedad específica del extracto de vainilla puede utilizarse el método de prueba descrito en la NMX-F-619-NORMEX-2006 (véase 2 Referencias), o bien el método descrito a continuación:

**8.1.1** Método picnométrico

**8.1.1.1** Principio

Es la comparación de los pesos de volúmenes iguales de un líquido y el agua en las mismas condiciones de presión y temperatura.

Este método se basa en determinar la masa a volúmenes iguales de agua y de una solución, para calcular la relación entre ambos valores, bajo condiciones iguales y específicas de temperatura (véase 13.16 Bibliografía).

**8.1.1.2** Aparatos e instrumentos

**8.1.1.2.1** Baño de agua a temperatura constante, capaz de mantener de 15 °C a 20 °C. Cuando se mencione agua ésta debe ser agua destilada.

**8.1.1.2.2** Picnómetros de diferente capacidad (100 mL y 50 mL). Véase figura 1.

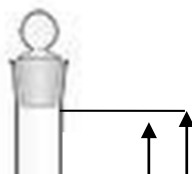
**8.1.1.2.3** Pipetas.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.1.1.2.4 Balanza electrónica con sensibilidad de 0.1 mg.
- 8.1.1.2.5 Estufa de secado capaz de mantener temperaturas constantes de de  $100\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$
- 8.1.1.3 Procedimiento
  - 8.1.1.3.1 Calibración del picnómetro
    - 8.1.1.3.1.1 Colocar el picnómetro con su tapón dentro de la estufa de secado hasta obtener su peso constante.
    - 8.1.1.3.1.2 Prender el baño de agua y mantener la temperatura a  $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 0.2\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Llenar el picnómetro perfectamente limpio, (por debajo de su marca de graduación) con agua destilada, tapar y colocar el mismo, dentro del baño de agua a temperatura constante, cuidando que el nivel de agua quede ligeramente por debajo de la marca de nivel del picnómetro. Se debe cuidar que la temperatura no exceda de tal forma que no se queme la muestra.
    - 8.1.1.3.1.3 Transcurridos 30 min, retirar el picnómetro del baño de agua, secar y ajustar el volumen del picnómetro con un capilar o pipeta.
    - 8.1.1.3.1.4 Secar el cuello del picnómetro con un pequeño rollito de papel filtro, tapar el mismo y colocar nuevamente el picnómetro dentro del baño de agua durante 15 min.
    - 8.1.1.3.1.5 Transcurrido el tiempo, retirar el picnómetro del baño de agua y secar.
    - 8.1.1.3.1.6 Determinar el peso del picnómetro en la balanza analítica y registrar el peso, de acuerdo a la siguiente fórmula:

Peso en el aire del agua contenida = peso del picnómetro lleno – peso del picnómetro vacío.





SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

### FIGURA 1.- Picnómetros de 100 mL y 50 mL

#### 8.1.1.3.2 Determinación

Para la muestra, proceder de la misma forma que con el agua destilada.

#### 8.1.1.4 Cálculo de la gravedad específica del extracto de vainilla

Determinar la gravedad específica del extracto de vainilla (densidad), de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Gravedad específica} = \frac{S}{W}$$

Donde:

S es el peso de la muestra, y  
W es el peso del agua destilada.





SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

#### 8.1.1.5 Expresión de resultados

Los resultados se expresan en g/mL.

#### 8.1.1.6 Criterios de aceptación

#### 8.1.1.7 Repetibilidad

La diferencia máxima permisible entre dos determinaciones efectuadas por duplicado por un analista no debe ser mayor de 0.001 g del valor de la densidad relativa; en caso contrario, se repiten las determinaciones.

#### 8.1.1.8 Reproducibilidad

La diferencia entre dos datos obtenidos en un laboratorio, por diferente analista siguiendo el mismo método, el mismo material, el mismo equipo y bajo las mismas condiciones en forma simultánea, no debe exceder a 1 % del valor promedio.

### 8.2 Determinación de vainillina ( $C_8H_8O_3$ ), etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) y cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) en extracto de vainilla por el método de separación cromatográfica

#### 8.2.1 Principio

La cromatografía es un método de separación para la caracterización de mezclas complejas. Es un conjunto de técnicas basadas en el principio de retención selectiva, cuyo objetivo es separar los distintos componentes de una mezcla, permitiendo identificar y determinar las cantidades de dichos componentes. Las técnicas cromatográficas son muy variadas, pero en todas ellas hay una fase móvil que consiste en un fluido (gas o líquido crítico) que arrastra a la muestra a través de una fase estacionaria que se trata de un sólido o un líquido fijado en un sólido. Los componentes de la mezcla interaccionan en distinta forma con la fase estacionaria. De este modo, los componentes atraviesan la fase estacionaria a distintas velocidades y se van separando. Después de que los componentes hayan pasado por la fase estacionaria, separándose, pasan por un detector que genera una señal que puede depender de la concentración y del tipo de compuesto (véase 13.7 Bibliografía).

Diferencias sutiles en el coeficiente de partición de los compuestos da como resultado una retención diferencial sobre la fase estacionaria y por tanto una separación efectiva en función de los tiempos de retención de cada componente de la mezcla.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

La cromatografía puede cumplir dos funciones básicas que no se excluyen mutuamente:

- Separar los componentes de la mezcla, para obtenerlos más puros y que puedan ser usados posteriormente (etapa final de muchas síntesis).
- Medir la proporción de los componentes de la mezcla (finalidad analítica). En este caso, las cantidades de material empleadas son pequeñas.

## 8.2.2 Equipo

### 8.2.2.1 Espectrofotómetro

Capaz de hacer determinaciones de 270 nm a 325 nm. Ajustar a la sensibilidad más alta para hacer uso de rangos < 10nm.

### 8.2.2.2 Celdas de sílice de 1 cm

Ajustar celdas de 270 nm a 325 nm usando una solución de isooctano ( $C_8H_{18}$ ). Esta solución determina diferencias que otros medios no lo hacen.

Las celdas deben de estar limpias, libres de otras soluciones antes de adicionar la solución isooctano ( $C_8H_{18}$ ), el estándar y las soluciones de muestra. Escurrir muy bien cada celda entre cada lectura invirtiéndolas sobre una servilleta o toalla de papel. Llenar las celdas para la lectura de tal modo que el menisco sea > 3 mm por encima del paso de luz.

### 8.2.2.3 Tubos para cromatografía de 14 mm de diámetro externo por 450 mm.

## 8.2.3 Reactivos

Se debe utilizar el mismo lote de isooctano para preparar todas las soluciones, mezclas y diluciones para una misma determinación.

### 8.2.3.1 Acido silícico ( $SiH_2O_3$ )

Polvo malla 100 de grado reactivo, adecuado para cromatografía. Determinar el contenido de ácido silícico ( $SiH_2O_3$ ) de la siguiente manera:

Pesar exactamente aproximadamente 1 g de ácido silícico ( $SiH_2O_3$ ) en un crisol pesado. Meter al horno durante 15 min a una temperatura de 615 °C, enfriar en el desecador y volver a pesar. Calcular el porcentaje de dióxido de silicio



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

(SiO<sub>2</sub>) (z) en el ácido silícico (SiH<sub>2</sub>O<sub>3</sub>). Calcular el peso del ácido silícico (x) que se requieren para una columna de 5.8 g como sigue:

$$x = (3.384) (100/z)$$

El volumen (mL) de agua (H<sub>2</sub>O) que se requiere para la columna es de 5.80 - x.

#### 8.2.3.2 Isoctano (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>)

2,2,4 trimetilpentano grado práctico 99.5 %, punto de ebullición de 98 °C a 100 °C.

#### 8.2.3.3 Mezcla del solvente cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) - isoctano (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>)

Adicionar 40 mL de cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) a 1 L de isoctano (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>) y mezclar. Almacenar en un recipiente hermético. No se deben de utilizar tapones de hule. La solución contiene aproximadamente 3.85 % de cloroformo (CHCl<sub>3</sub>).

#### 8.2.3.4 Solución estándar de cumarina (C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>)

Se requiere 1 mg/mL. Pesar exactamente 100 mg de cumarina (C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>), disolver en 50 mL de cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) y llevar a 100 mL en un matraz volumétrico con isoctano (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>).

#### 8.2.3.5 Solución estándar de etil vainillina (C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>)

Preparar la solución como se indica en 8.2.3.4 usando etil vainillina (C<sub>9</sub>H<sub>10</sub>O<sub>3</sub>) en lugar de cumarina (C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>).

#### 8.2.3.6 Solución estándar de vainillina (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>)

Preparar la solución como se indica en 8.2.3.4 usando vainillina (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) en lugar de cumarina (C<sub>19</sub>H<sub>16</sub>O<sub>4</sub>).

#### 8.2.4 Determinación de absorbancias

Medir con una pipeta 1 mL de la solución estándar de vainilla (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) en una matraz volumétrico, adicionar 3.4 mL de cloroformo (CHCl<sub>3</sub>) y llevar a 100 mL con isoctano (C<sub>8</sub>H<sub>18</sub>) y mezclar. Determinar absorbancia a 270 nm y 325 nm contra el solvente indicado en 8.2.3.3 como referencia en celdas de sílice de 1 cm. Calcular "a" (g/L; 1 cm) para vainillina (C<sub>8</sub>H<sub>8</sub>O<sub>3</sub>) a 270 nm y a 325 nm como:



$$a = 100 \text{ A}$$

Determinar  $a$  para etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) y vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) de la misma forma.

### 8.2.5 Preparación de la columna cromatográfica

Colocar una bolita de algodón en el fondo del tubo/columna seca para cromatografía. Para  $x$  g de ácido silícico ( $SiH_2O_3$ ) pesados en un mortero adicionar y mL de agua ( $H_2O$ ) de una bureta, mezclar perfectamente y rápidamente con un pistilo hasta obtener una consistencia uniforme del polvo e inmediatamente adicionar 25 mL del solvente (véase inciso 8.2.3.3). Mezclar y rápidamente verter dentro del tubo con un embudo. Enjuagar el mortero y el embudo con una pequeña cantidad de solvente. Quitar con una varilla larga de vidrio el exceso de burbujas que se hayan formado por la agitación. Empacar la columna aproximadamente a una presión de 13.8 kPa (10.4 cmHg), hasta que la parte de abajo del menisco del solvente libre apenas toque la parte de arriba del ácido silícico, cuidando que la parte externa del menisco aún quede visible. Inmediatamente liberar la presión.

**NOTA 1:** Si la columna se estrella o forma canales se tiene que desechar.

Durante el empacado de la columna y a partir de ese momento la columna debe permanecer en posición vertical. El golpeteo de la columna hace que no tenga un correcto desempeño aun cuando puede parecer normal. Adicionar cuidadosamente 15 mL de solvente por un costado del tubo con la ayuda de una varilla de vidrio de tal manera que la columna no se dañe. Dirigir el solvente a través de la varilla de vidrio. Lavar la columna y está lista para la calibración.

### 8.2.6 Calibración de la columna (verificación de la eficiencia en la columna)

**8.2.6.1** Con una pipeta medir 1 mL de cada solución (véase 8.2.3.4, 8.2.3.5 y 8.2.3.6), combinarlas en un matraz volumétrico y llevar a 25 mL con isoctano ( $C_8H_{18}$ ) y mezclar. Adicionar 2 mL de la solución, por la pared de la columna con una presión aproximadamente de 10.4 mmHg. Colectar el efluente en una probeta graduada de 10 mL. Liberar la presión cuando la parte de abajo del menisco toque la parte superior de la columna y la parte exterior del menisco sea todavía claramente visible. Medir con la pipeta 1 mL de la solución (c), escurrir sobre el mismo



lado del tubo por encima de la columna y dirigir la solución dentro de la columna. Repetir con dos porciones adicionales de 1 mL cada una del solvente. Llenar el tubo con el solvente de tal manera que quede a 2 cm del borde del tubo. Pasar el solvente a través de la columna a una velocidad de 5 mL por 2 min a 2.5 min, recolectar el efluente en fracciones de 5 mL, alternando dos probetas de 10 mL durante la recolección. Verter las fracciones en tubos de ensayo separados y ponerlos en una rejilla, enumerándolos consecutivamente.

#### 8.2.6.2

Ecurrir la probeta invirtiéndola en una servilleta o toalla de papel, antes de volverlo a usar. Recolectar 10 fracciones y hacer la determinación de absorbancia a 270 nm y a 325 nm contra el solvente (8.2.3.3). Ecurrir las celdas invirtiéndolas en una servilleta o toalla de papel antes de volver a llenarlas, no es necesario que se enjuaguen. Permitir que la columna siga eluyendo por gravedad mientras se hacen las lecturas de las primeras 10 fracciones, cambiando las probetas en cada porción de 5 mL.

La cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) es la primera que se arrastra o eluye, la etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) la segunda y la tercera la vainillina ( $C_8H_8O_3$ ). En una columna ideal, la cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) comienza a eluir en la fracción 6 o 7, alcanza su máximo entre la 8 y 9 y comienza a perder intensidad en la número 10. En las primeras fracciones de efluente no se separan completamente los componentes y efluentes posteriores van a tardar en tomar más fracciones y más tiempo, pero tendrán mejor recuperación de los componentes. Una elución algo lenta no importa, la etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) eluye aproximadamente entre las fracciones 11 a 18 y la vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) aproximadamente entre la 19 y 30.

#### 8.2.6.3

Si la columna sigue siendo satisfactoria, recolectar 25 fracciones adicionales (35 en total) o hasta que la vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) esté completamente eluida. Determinar absorbancia de cada fracción a 270 nm y a 325 nm como se menciona en 8.2.6.2.

#### 8.2.6.4

Si la cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) comienza a eluir en la fracción número 5 o antes, descartar esta columna y preparar otra con menor cantidad de agua en el ácido silícico ( $SiH_2O_3$ ) y volver a calibrar.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.2.6.5** Si la cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) no eluye en la fracción número 9 o 10, preparar una nueva columna con más agua en el ácido silícico ( $SiH_2O_3$ ).
- 8.2.6.6** Usar la columna calibrada (verificada como en 8.2.5) para la identificación (8.2.7).
- 8.2.7** Preparación de la solución muestra
- 8.2.7.1** Si la concentración de ninguno de los componentes es  $> 0.4$  g/100 mL, medir en una pipeta 25 mL de la muestra en un tubo de centrifugación. Si la concentración de cualquiera de los componentes es  $> 0.4$  g/100 mL diluir 25 mL de la muestras en agua ( $H_2O$ ) y llevar al volumen especificado en la tabla 3 y usar 25 mL de alícuota. Adicionar 75 mL de agua ( $H_2O$ ), 20 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) (1+4) y 50 mL de cloroformo ( $CHCl_3$ ). Tapar con un tapón de hule y agitar muy bien durante 3 min. Centrifugar durante 5 min a 1500 rpm. Si la emulsión persiste, romper con una varilla delgada de vidrio y volver a centrifugar. Verter lentamente el contenido en un embudo de separación, con un embudo de alto calibre y de tallo corto. Romper la emulsión con una varilla de vidrio y decantar el cloroformo ( $CHCl_3$ ) en un matraz volumétrico de 100 mL. Verter la fase acuosa dentro de un bote con el mismo embudo.
- 8.2.7.2** Enjuagar el embudo con 15 mL de cloroformo ( $CHCl_3$ ), adicionar al frasco por medio de un embudo, repetir la extracción mezclando las fases perfectamente con movimientos de balanceo. No se debe agitar vigorosamente como en la primera extracción. Separar lo centrifugado y decantar el cloroformo ( $CHCl_3$ ) en un matraz volumétrico de 100 mL. Repetir las extracciones con porciones de 15mL de cloroformo ( $CHCl_3$ ), hasta que se llegue a la marca del matraz. Medir con una pipeta alícuota de 2 mL y colocar en un matraz volumétrico de 25 mL y llevar a volumen con isoctano ( $C_8H_{18}$ ) y mezclar.
- 8.2.8** Identificación
- 8.2.8.1** Tomar con una pipeta 2 mL de la solución muestra (usar solo 1 mL si la concentración del compuesto que más hay es  $> 3.2$  g/100mL) y poner en la columna ya preparada dejando que escurra por las paredes del tubo sin lastimar la columna. Pasar la solución por la columna que está aproximadamente a 10.4 cmHg de presión y recolectar el efluente en una probeta



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

de 10 mL. Tomar 1 mL del solvente (c), y dejar caer por la misma pared del tubo y pasar por la columna. Repetir con dos porciones de 1 mL cada una del solvente. Llenar el tubo con el solvente y que eluyan los componentes por medio de la misma técnica que se utilizó para la calibración. Recolectar 3 fracciones más de las indicadas como necesarias en la calibración. Determinar la absorbancia de todas las fracciones a 270 nm y 325 nm como en la calibración.

- 8.2.8.2** Las posiciones de las absorciones de las fracciones comparadas con las obtenidas durante la calibración de la columna se revela la presencia de los compuestos presentes en la muestra. La cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) también se identifica con una longitud de absorbancia de 325 nm, ligeramente  $> 1/3$  de absorbancia a 270 nm. La vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) y etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) se absorben muy poco a 325 nm. Si se desea, se confirma obteniendo el espectro UV del nivel más alto de absorbancia de cada compuesto. Comparar con espectros preparados en el mismo instrumento. Los espectros máximos y mínimos que presentan los compuestos se dan en la tabla 4.
- 8.2.8.3** Aproximadamente los radios de absorbancia a una longitud de onda dada a su valor máximo para cada compuesto se pone entre paréntesis seguido de la longitud de onda. Radio de 1 indica el máximo valor.
- 8.2.9** Determinación
- 8.2.9.1** Sumar la absorbancia a 270 nm de todas las fracciones que contienen cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) y calcular la concentración de cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) en la muestra original.

$$C = F \times \sum A/a$$

Donde:

- $\sum A$  es la suma de absorbancia a 270 nm de las fracciones que contienen cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ );
- A es la absorción de cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) a 270 nm;
- c es la concentración de cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) en g/100 mL de la muestra original, y
- F es el factor de dilución que se indica en la tabla 3.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.2.9.2** Calcular la concentración de etil-vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) y vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) de la misma manera.
- 8.2.9.3** Si se obtienen valores negativos de A en las fracciones que no contienen compuestos, se corrige el valor de A de las fracciones que si contienen, adicionando a cada A el promedio de las lecturas negativas.

**TABLA 3.- Diluciones y factores de dilución para sabores**

Concentración del compuesto más abundante (g/100mL)	Dilución (mL)	Factor de dilución (F)
<0.4	ninguno	12.5
0.4-0.8	50	25
0.8-1.6	100	50
1.6-3.2	200	100
>3.2	400	200

**TABLA 4.- Características espectrofotométricas de la cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ), etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) y vainillina ( $C_8H_8O_3$ ).**

Cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ )	Etil Vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) Máx. (nm)	Vainillina ( $C_8H_8O_3$ )
271 (1.00)	270 (1.00)	269.5 (1.00)
282 (0.82)	297 (0.59)	296 (0.6)
313 (0.46)	-----	-----
Mínima, nm		
243 (0.30)	242.5 (0.24)	242.5 (0.24)
278.5 (0.81)	286 (0.46)	286 (0.48)
291.5 (0.31)	-----	-----





SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

### 8.3 Determinación de plomo (Pb) en extracto de vainilla ( $C_8H_8O_3$ )

La presencia de plomo en el extracto de vainilla ( $C_8H_8O_3$ ) se puede determinar mediante el empleo de cualquiera de los dos métodos (método titrimétrico o método de espectrometría de absorción atómica) que se describen a continuación.

#### 8.3.1 Determinación de plomo en extracto de vainilla ( $C_8H_8O_3$ ) por el método titrimétrico.

##### 8.3.1.1 Principio

Los ácidos orgánicos de la vainilla son precipitados con acetato de plomo [ $Pb(CH_3COO)_2$ ] neutro en condiciones normales, las sales de plomo son insolubles y eliminadas y el exceso de plomo se determina por medio de titulación quelométrica con tetra acetato disódico de etilendiamina ( $Na_2EDTA$ ). Con esta titulación y la del blanco, la cantidad de plomo es calculado por el método Wichmann. Aplicable para extractos sencillos o comerciales (véase 13.21 Bibliografía).

##### 8.3.1.2 Reactivos

**8.3.1.2.1** Solución estándar de tetra acetato disódico de etilendiamina ( $Na_2EDTA$ )- 0.0125 N. Disolver 9.3061 g de sal disódica de ácido etilen-diamina-tetraacético ( $Na_2EDTA \cdot 2H_2O$ ) en un litro de agua ( $H_2O$ ) destilada y fría libre de dióxido de carbono ( $CO_2$ ).

**8.3.1.2.2** Solución buffer. Mezclar 2 partes de una solución acetato de sodio ( $CH_3COONa$ ) 0.1 N con 1 parte de ácido acético ( $C_2H_4O_2$ ) 0.1 N.

**8.3.1.2.3** Solución de naranja de xileno. Disolver 0.1 g de naranja de xileno en 100 mL de alcohol ( $C_2H_6O$ ) al 35 %.

**8.3.1.2.4** Solución de acetato de plomo ( $Pb(CH_3COO)_2$ ). Disolver 8 g de acetato de plomo ( $Pb(CH_3COO)_2$ ) neutro en 100 mL de agua destilada ( $H_2O$ ), dejar reposar durante 24 h y usar el sobrenadante.

**8.3.1.2.5** Solución de fenolftaleína ( $C_{20}H_{14}O_4$ ). Disolver 0.1 g de fenolftaleína ( $C_{20}H_{14}O_4$ ) en 100 mL de alcohol ( $C_2H_6O$ ).

##### 8.3.1.3 Preparación de la solución muestra/tipo.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-F-188-SCFI-2012  
21/48

- 8.3.1.3.1** Colocar 175 mL de agua destilada ( $H_2O$ ) en un matraz de destilación de fondo redondo de 1 L. Adicionar con una pipeta 25 mL de una solución clarificada de acetato de plomo ( $Pb(CH_3COO)_2$ ) y 50 mL del extracto de vainilla ( $C_8H_8O_3$ ) comercial.
- 8.3.1.3.2** Mezclar vigorosamente formando un remolino y que precipiten las sales de plomo.
- 8.3.1.3.3** Colocar el matraz de destilación sobre una malla de asbesto de 10 cm de diámetro, en la placa, de tal manera que se permita la destilación pero sin que se sobrecaliente la parte superior del matraz; acoplar con la cabeza del destilador y el condensador, aplicar un poco de calor y destilar 200 mL en el matraz volumétrico; este destilado reservarlo para la determinación de alcohol ( $C_2H_6O$ ). Cuando el volumen en el matraz de destilación se reduce aproximadamente a 50 mL, el nivel de líquido debe estar aún con la placa.
- 8.3.1.3.4** Transferir cuantitativamente los residuos a un matraz volumétrico de 100 mL con pequeños volúmenes de agua destilada ( $H_2O$ ) libre de dióxido de carbono ( $CO_2$ ), utilizando una varilla de vidrio doblada con la punta de hule para no perder los residuos. Enfriar y llevar al volumen con agua destilada ( $H_2O$ ) libre de dióxido de carbono ( $CO_2$ ).
- 8.3.1.3.5** Mezclar vigorosamente y filtrar a través de papel filtro seco. Lo filtrado (solución X) contiene exceso de plomo (Pb) después de haber formado el complejo de sales de plomo.
- 8.3.1.3.6** Preparar blanco usando 5 gotas de ácido acético ( $C_2H_4O_2$ ) en lugar de la muestra y destilar 150 mL. Enfriar y llevar a 100 mL con agua destilada y filtrar. Escuchar
- 8.3.1.4** Determinación de Plomo (Pb).
- 8.3.1.4.1** Como sulfato
- 8.3.1.4.1.1** Con una pipeta medir 10 mL de la solución X y colocar en un vaso de precipitados de 250 mL y adicionar 25 mL de agua destilada ( $H_2O$ ), 2 mL de ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) (1+1) y 100 mL de alcohol ( $C_2H_6O$ ); agitar y dejar durante la noche para que precipite.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.3.1.4.1.2** Filtrar en embudo Gooch, provisto de papel de microfibras de vidrio (que soporta las temperaturas de 525 °C a 600 °C); lavar con alcohol, calentar a 525 °C - 550 °C, enfriar en el desecador y pesar.

$$NPb = (PSPb - PM) \times 13.66$$

Donde:

NPb es el número de Plomo (Pb);  
PSPb es el peso del sulfato de plomo (PbSO<sub>4</sub>) obtenido del blanco, y  
PM es el peso obtenido de la muestra.

- 8.3.1.4.2** Como cromato

- 8.3.1.4.2.1** Medir con una pipeta 10 mL de solución X y colocar en un vaso de precipitados, adicionar 2 mL de ácido acético (C<sub>2</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>), 25 mL de agua destilada y aproximadamente 25 mL de una solución 0.1 N de dicromato de potasio (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>).

- 8.3.1.4.2.2** Calentar inmediatamente a flama mediana hasta que el precipitado cambie de amarillo a naranja.

- 8.3.1.4.2.3** Filtrar con un embudo, provisto de papel de microfibras de vidrio que soporte las temperaturas de 525 °C a 600 °C y enjuagar con agua caliente (H<sub>2</sub>O), después con pocos mililitros de alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) y de éter (C<sub>4</sub>H<sub>10</sub>O). Secar a 100 °C, enfriar en el desecador y pesar.

$$NPb = (PSCrPb - PM) \times 12.82$$

Donde:

NPb es número de Plomo (Pb);  
PSCrPb es el peso obtenido del cromato de plomo (PbCrO<sub>4</sub>) obtenido del blanco, y  
PM es el peso obtenido de la muestra.

- 8.3.1.4.3** Por titulación quelométrica

- 8.3.1.4.3.1** Colocar con una pipeta 10 mL de solución X en un matraz Erlenmeyer de 125 mL.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

**8.3.1.4.3.2** Adicionar una gota de fenolftaleína ( $C_20H_{14}O_4$ ) y hacer la solución alcalina con la solución 1.0 N de hidróxido de sodio (NaOH), precipitando el hidróxido de plomo ( $Pb(OH)_2$ ). Adicionar 10 mL de la solución Buffer y 1 mL del indicador naranja de xileno. Titular con una solución 0.0125 N de ácido etilen-diamino-tetra-acético disodio ( $Na_2EDTA$ ) hasta que vire, esto indicado por un cambio drástico de un color rosa ligeramente rojizo a amarillo o naranja. Se recomienda usar una microbureta de 10 mL para la titulación, así como contar con una lámpara de luz fluorescente para que de manera indirecta se ilumine el matraz.

**8.3.1.4.3.3** Realizar la prueba del mismo modo a la solución blanco.

$$CPb = 20 \times (VB - VM) \times 0.025 \times (207.2/1000)$$

Donde:

CPb es la cantidad de plomo;  
VB son los mililitros del ácido etilendiaminotetraacético disodio ( $Na_2EDTA$ ), y  
VM son los mililitros de ácido etilendiaminotetraacético disodio ( $Na_2EDTA$ ) de muestra.

O bien:

$$CPb = (VB - VM) \times 0.1036$$

CPb es la cantidad de plomo;  
VB son los mililitros del ácido etilendiaminotetraacético disodio ( $Na_2EDTA$ ), y  
VM son los mililitros de ácido etilendiaminotetraacético disodio ( $Na_2EDTA$ ) de muestra.

**8.3.2** Determinación de Plomo por espectrometría de absorción atómica.

**8.3.2.1** Principio

El método de absorción atómica se basa en hacer pasar un haz de luz monocromática de una frecuencia tal que puede ser absorbido por el analito que se encuentra presente en forma de vapor atómico. La medida de intensidad luminosa antes y después de su paso por el vapor atómico permite determinar el por ciento de absorción.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

La cantidad de absorción aumenta con la concentración de átomos en el medio absorbente, es decir, la media de la absorción aumenta con la concentración del elemento de la muestra, ya sea que esté en su condición original o sujeta a pretratamiento.

**8.3.2.2** Materiales

**8.3.2.2.1** Matraces Kjeldahl de 500 mL y 800 mL

**8.3.2.2.2** Sistema de reflujo con refrigerante.

**8.3.2.2.3** Crisoles Vycor de 40 mL a 50 mL de capacidad.

**8.3.2.2.4** Crisoles de platino de 40 mL a 50 mL de capacidad.

**8.3.2.2.5** Matraces Erlenmeyer de diferentes capacidades.

**8.3.2.2.6** Matraces volumétricos de diferentes capacidades.

**8.3.2.2.7** Matraces redondos de fondo plano de 50 mL.

**8.3.2.2.8** Bombas Parr (sistema peristáltico)

**8.3.2.2.9** Micropipetas o pipetas de diferentes capacidades.

**8.3.2.2.10** Puntas de plástico para micropipetas.

**8.3.2.2.11** Papel filtro de poro fino ó cerrado

**8.3.2.2.12** Perlas de ebullición.

**8.3.2.2.13** Varillas de plástico.

**8.3.2.2.14** Tubos de ensayo graduados de propilen o propileno de 15 mL.

**8.3.5.2.15** Recipientes de propilen o propileno.

**8.3.2.2.16** Embudos de filtración de diferentes capacidades.

**8.3.2.2.17** Material común de laboratorio.

**8.3.2.2.18** Todo el material utilizado debe someterse a lavado de acuerdo con las siguientes instrucciones:



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-F-188-SCFI-2012  
25/48

- 8.3.2.2.18.1 El jabón que se use debe ser de preferencia neutro. Enjuagar perfectamente con agua corriente.
- 8.3.2.2.18.2 Sumergir el material de vidrio o plástico en un recipiente (de preferencia plástico) que contenga una solución de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) grado reactivo analítico al 30 %.
- 8.3.2.2.18.3 Dejarlo tapado y reposando por un lapso de 24 h.
- 8.3.2.2.18.4 Quitar el exceso de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) con varios enjuagues (5 o 6 veces) con agua desionizada. Dejar escurrir y secar.
- 8.3.2.2.18.5 Guardar en cuanto esté seco para evitar contaminación por partículas en el aire.
- 8.3.2.3 Equipo
  - 8.3.2.3.1 Lámpara de cátodo hueco o de descarga sin electrodos para determinar plomo.
  - 8.3.2.3.2 Fuente de radiofrecuencia en caso de usar lámparas de descarga.
  - 8.3.2.3.3 Automuestreador y recirculador de agua, dependiendo del método a seguir.
  - 8.3.2.3.4 Placa de calentamiento con regulador que alcance una temperatura de 400 °C a 450 °C.
  - 8.3.2.3.5 Espectrómetro de absorción atómica equipado con los accesorios para flama u horno de grafito dependiendo del método a seguir.
  - 8.3.2.3.6 Balanza analítica con sensibilidad de 0.1 mg.
  - 8.3.2.3.7 Mufla capaz de mantener una temperatura de 550 °C  $\pm$  10 °C.
  - 8.3.2.3.8 Horno de calentamiento (estufa) con intervalo de temperatura de 120 °C  $\pm$  5 °C.
  - 8.3.2.3.9 Los instrumentos que a continuación se indican deben estar calibrados y ajustados antes de su operación.
- 8.3.2.4 Reactivos



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.3.2.4.1 Soluciones estándares de referencia certificadas de plomo (Pb), agua (H<sub>2</sub>O) (debe ser destilada desionizada) con un grado máximo de conductividad de 1 µmho/cm a 25 °C.
- 8.3.2.4.2 Ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) (densidad específica 1.41 kg/m<sup>3</sup>), grado supra puro o de alta pureza para el análisis de metales o equivalente.
- 8.3.2.4.3 Ácido clorhídrico (HCl) (densidad específica 1.19 kg/m<sup>3</sup>), grado supra puro, o de alta pureza para el análisis de metales o equivalente.
- 8.3.2.4.4 Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) (densidad específica 1.84 kg/m<sup>3</sup>), grado supra puro, o de alta pureza para el análisis de metales o equivalente.
- 8.3.2.4.5 Ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1 N a partir de la solución grado supra puro, o de alta pureza para el análisis de metales o equivalente.
- 8.3.2.4.6 Ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) 65 % v/v grado reactivo.
- 8.3.2.4.7 Peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (densidad específica 1.12 kg/m<sup>3</sup>).
- 8.3.2.4.8 Hidróxido de sodio (NaOH) granalla reactivo analítico.
- 8.3.2.4.9 Aire comprimido seco y limpio.
- 8.3.2.4.10 Gases: acetileno (C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), óxido nitroso (N<sub>2</sub>O), argón (Ar) y nitrógeno (N), grado absorción atómica.
- 8.3.2.4.11 Solución de nitrato de magnesio hexahidratado (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O) al 7 % p/v. Disolver 70 g de nitrato de magnesio hexahidratado (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O) en 1000 mL de ácido clorhídrico (HCl) 1N.
- 8.3.2.4.12 Ácido clorhídrico (HCl) 1 N. Diluir 8.3 mL de ácido clorhídrico (HCl) y llevar a 100 mL de agua (H<sub>2</sub>O).
- 8.3.2.4.13 Ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) al 50 % v/v. Diluir 50 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) al 65% v/v grado supra puro en 50 mL de agua (H<sub>2</sub>O).
- 8.3.2.4.14 Ácido clorhídrico (HCl) 8 M. Diluir 66.0 mL de ácido clorhídrico (HCl) y llevar a 100 mL con agua (H<sub>2</sub>O).



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.3.2.4.15** Ácido clorhídrico (HCl) 0.5 N. Diluir 4.15 mL de ácido clorhídrico (HCl) y llevar a 100 mL con agua (H<sub>2</sub>O).
- 8.3.2.4.16** Solución de Nitrato de Magnesio (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) al 50 % p/v. Disolver 50 g de (Mg(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O) en 100 mL de agua (H<sub>2</sub>O).
- 8.3.2.5** Preparación de la muestra
- 8.3.2.5.1** Digestión por Vía Húmeda para la determinación de plomo (Pb).
- 8.3.2.5.1.1** Pesar con precisión de ± 0.1 mg, una cantidad apropiada de muestra. Para la determinación por el método de absorción por flama pesar como máximo 40 g de líquidos, 20 g de productos que contengan del 50 % al 75 % de agua y 10 g productos sólidos o semisólidos. Se puede realizar una tabla donde se indique la cantidad de muestra para cada tipo de vainilla (extracto) ó se indique claramente que se pese de 10 g a 20 g de muestra no importando el tipo de extracto.
- 8.3.2.5.1.2** Añadir 10 mL de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>) concentrado y dejar reposar toda la noche o iniciar directamente la digestión.
- 8.3.2.5.1.3** Usar matraz de Kjeldhal o matraz conectado al sistema de refrigerantes.
- 8.3.2.5.1.4** Calentar suavemente.
- 8.3.2.5.1.5** Digerir la muestra 3 h o más tiempo si es necesario (algunas muestras requieren la adición de mayor cantidad de ácido nítrico (HNO<sub>3</sub>)) hasta la aparición del color traslúcido, si queda ámbar, adicionar peróxido de hidrógeno (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) gota a gota con agitación continua (reacción exotérmica).
- 8.3.2.5.1.6** Enfriar.
- 8.3.2.5.1.7** Recuperar, filtrar y llevar a un volumen conocido en matraz volumétrico. Se pueden hacer tantas diluciones sean necesarias de acuerdo a la cantidad contenida del metal.
- 8.3.2.5.1.8** Correr un blanco de reactivos y muestra fortificada por cada serie de digestión.
- 8.3.2.5.1.9** Leer en el aparato de elección (espectrómetro de absorción atómica por flama u horno de grafito).





SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.3.2.5.2** Digestión por vía seca para la determinación de plomo (Pb).
- 8.3.2.5.2.1** Pesar con precisión de  $\pm 0.1$  mg, una cantidad apropiada de muestra.
- 8.3.2.5.2.2** Para la determinación por el método de absorción por flama pesar como máximo 40 g de líquido, 20 g de productos que contengan del 50 % al 75 % de agua y 10 g de producto sólidos y semisólidos. Límite el contenido de grasa o aceite a un máximo de 4 g y el total de materia orgánica a 5 g. Se puede realizar una tabla donde se indique la cantidad de muestra para cada tipo de vainilla (extracto) o se indique claramente que se pese de 10 a 20 g de muestra no importando el tipo de extracto.
- 8.3.2.5.2.3** Añadir 10 mL de ácido nítrico ( $\text{HNO}_3$ ) concentrado y dejar reposar toda la noche o iniciar directamente la digestión.
- 8.3.2.5.2.4** Adicionar 7 mL de una solución de nitrato de magnesio ( $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) al 7.0 % p/v y mezclar completamente, llevar a sequedad aproximadamente durante 6 h en estufa a una temperatura de 90 °C a 95 °C.
- 8.3.2.5.2.5** Colocar la muestra en una mufla y elevar la temperatura lentamente de 2 °C a 4 °C por min hasta 350 °C. Mantener la temperatura hasta que cesen los humos.
- 8.3.2.5.2.6** Elevar gradualmente la temperatura de 500 °C a 550 °C para evitar que la muestra se incinere y mantener esa temperatura durante 16 h o toda la noche.
- 8.3.2.5.2.7** Apagar la mufla y dejar enfriar.
- 8.3.2.5.2.8** Un segundo paso de calcinación puede ser requerido para remover algunos residuos de carbón, mediante el siguiente procedimiento: Lavar las paredes del crisol con 2 mL de ácido nítrico al 50 %. Colocar la muestra en una placa de calentamiento puesta a 120 °C para remover el exceso de ácido. Colocar la muestra en una mufla fría y elevar la temperatura gradualmente de 500 °C a 550 °C, manteniéndola por el tiempo necesario. Repetir este procedimiento cuantas veces sea necesario hasta que quede libre de carbón remanente.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.3.2.5.2.9** Disolver las cenizas completamente en 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) 1N, transferir la muestra disuelta a un tubo de propileno o a un matraz de volumen conocido, enjuagar el crisol con dos alícuotas de 5 mL de ácido clorhídrico (HCl) 1 N y transferir al mismo tubo o matraz para obtener un volumen de 15 mL en el primero y llevar al aforo en el segundo, tapar y mezclar, si existe presencia de partículas o materia insoluble, filtrar en papel filtro No. 2, antes de la determinación. Se pueden hacer tantas diluciones sean necesarias de acuerdo a la cantidad contenido del metal.
- 8.3.2.5.2.10** Correr un blanco de reactivos y muestra fortificada por cada serie de digestión.
- 8.3.2.5.2.11** Leer en el aparato de elección (espectrómetro de absorción atómica, flama u horno de grafito).
- 8.3.2.6** Procedimiento
- 8.3.2.6.1** Espectrometría de absorción atómica por flama
- 8.3.2.6.1.1** Calibración
- 8.3.2.6.1.1.1** Es necesario comprobar que se tiene una calibración inicial y periódica aceptable.
- 8.3.2.6.1.1.2** Se inicia la configuración operacional del instrumento y en el sistema de adquisición de datos. Permitir un periodo no menor a 30 min, para el calentamiento de las lámparas de descarga sin electrodos.
- 8.3.2.6.1.1.3** Se debe verificar la estabilidad del instrumento mediante el análisis de una solución estándar 20 veces más concentrada que el límite de detección del instrumento (LDI) para el analito, leída un mínimo de cinco veces y calculando la desviación estándar resultante, la cual debe ser menor al 5 %.
- 8.3.2.6.1.1.4** El instrumento debe calibrarse para el analito a determinar usando el blanco de calibración y los estándares de calibración preparados a 3 o 4 niveles de concentración dentro del intervalo dinámico de concentración del analito.
- 8.3.2.6.1.1.5** Ajustar el instrumento a 0 con el blanco de calibración. Introducir los estándares de calibración del analito de menor a



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

mayor concentración y registrar al menos tres réplicas de la absorbancia de cada uno.

**8.3.2.6.1.1.6** Elaborar una curva de calibración graficando absorbancia en función de la concentración. Lo anterior puede llevarse a cabo en equipos que se programan directamente, en los cuales sólo es necesario introducir los estándares y marcar su concentración teórica.

**8.3.2.6.1.2** Operación del Instrumento

**8.3.2.6.1.2.1** El desempeño del instrumento se verifica mediante el empleo de blancos de calibración, estándares de calibración y una muestra de control de calidad (MCC).

**8.3.2.6.1.2.2** Después de que se ha realizado la calibración, se debe verificar que el instrumento trabaje adecuadamente para el analito. Para ello se analiza una muestra de control de calidad. Si las mediciones varían en  $\pm 10\%$  o más, al valor establecido para la MCC, el análisis debe interrumpirse y buscar la posible causa de error, el instrumento se debe recalibrarse y verificar la nueva calibración.

**8.3.2.6.1.2.3** Para verificar que el instrumento no presenta deriva, por cada 10 análisis se debe analizar el blanco de calibración. Si el valor verdadero del analito difiere  $\pm 10\%$  o más, el instrumento debe recalibrarse. Si el error persiste debe identificarse el problema y corregirse. Si la matriz de la muestra es responsable de la deriva o afecta la respuesta del analito puede ser necesario trabajar por adiciones estándar.

**8.3.2.6.1.2.4** La demostración de la operatividad inicial del instrumento se hace estableciendo los límites de detección del método (LDM) para el analito y el intervalo de calibración lineal. Para determinar el LDM se usa un blanco de reactivos fortificado con una concentración del analito equivalente de 2 a 5 veces el límite de detección estimado. Se hacen al menos 4 réplicas de lectura de absorbancia del blanco de reactivos fortificado procesado a través de todo el método analítico. Los LDM se calculan de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{LDM} = t \times s$$



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

Donde:

- t es el valor de la "T" de Student a un intervalo de confianza de 99 % y una desviación estándar estimada para n-1 grados de libertad. Equivale a 3,4 para 7 réplicas.
- s es la desviación estándar de las réplicas del análisis.

El intervalo lineal de calibración se establece a partir de por lo menos 4 estándares de diferente concentración, uno de los cuales debe estar próximo al límite superior del intervalo lineal.

#### 8.3.2.6.1.3 Determinación

**8.3.2.6.1.3.1** Ajustar el instrumento de absorción atómica en las condiciones adecuadas para la determinación del analito de acuerdo a las indicaciones del manual del instrumento.

**8.3.2.6.1.3.2** Introducir el blanco de reactivos y la muestra a analizar y registrar los valores de absorbancia. Se debe analizar al menos un blanco de reactivos con cada grupo de muestras. Los valores obtenidos ponen de manifiesto la calidad de los reactivos usados y el grado de contaminación del laboratorio.

**8.3.2.6.1.3.3** En los equipos que pueden programarse, la lectura obtenida da directamente la concentración del elemento en las unidades de concentración utilizadas.

**8.3.2.6.1.3.4** Se debe analizar al menos un blanco de reactivos fortificado para cada grupo de muestras. Se calcula la exactitud como el por ciento de recuperación.

**8.3.2.6.1.3.5** Se debe fortificar al menos una muestra por grupo o el 10% de ellas lo que resulte mayor. La concentración añadida debe ser de aproximadamente 0.1 unidades de absorbancia.

**8.3.2.6.1.3.6** Se debe calcular el por ciento de recuperación para el analito, de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$R = \frac{CM - C}{CA} \times 100$$

Donde

R es el % de recuperación;



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

CM es la concentración de la muestra fortificada;  
C es la concentración de la muestra;  
CA es la concentración equivalente de analito añadido a la muestra.

**8.3.2.6.1.3.7** Si la recuperación del analito en la muestra fortificada está fuera del intervalo previamente establecido y el blanco de reactivos fortificado está correcto, puede existir un problema relacionado con la matriz de la muestra. Los datos se deben verificar por el método de las adiciones estándar.

**8.3.2.6.2** Espectrometría de absorción atómica por horno de grafito.

**8.3.2.6.2.1** Calibración.

**8.3.2.6.2.1.1** Proceder de acuerdo al punto 8.3.2.6.1.1

**8.3.2.6.2.1.2** Elaborar una curva de calibración graficando área de pico o altura máxima contra concentración del analito.

**8.3.2.6.2.1.3** La calibración mediante el uso de una computadora o una calculadora basada en el ajuste sobre los datos de concentración a respuesta es aceptada.

**8.3.2.6.2.1.4** Lo anterior puede llevarse a cabo en equipos que se programan directamente, en los cuales sólo es necesario introducir los estándares y marcar su concentración teórica.

**8.3.2.6.2.2** Operación del Instrumento.

Proceder de acuerdo a lo indicado en 8.3.2.6.1.2

**8.3.2.6.2.3** Determinación

**8.3.2.6.2.3.1** Ajustar el instrumento de absorción atómica en las condiciones adecuadas para la determinación del analito, de acuerdo a las recomendaciones del manual del instrumento.

**8.3.2.6.2.3.2** El programa de temperaturas para el horno de grafito puede variar dependiendo de la matriz de la muestra. En el caso de existir interferencias no específicas (absorción molecular o dispersión de la luz), se recomienda consultar la bibliografía existente en cuanto a los métodos disponibles para eliminarlas, así como en el caso de interferencias de matriz.

**8.3.2.7** Expresión de Resultados



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

#### 8.3.2.7.1 Método de Cálculo

Interpolar los valores de absorbancia o altura de pico de la muestra analizada en la curva de calibración y obtener los mg/kg del elemento en la muestra y realizar los cálculos empleando la siguiente fórmula:

$$\text{mg/kg} = \frac{A \times B}{C}$$

Donde:

- A es la concentración en mg/kg de la muestra a interpolar en la curva de calibración;
- B es el volumen final al que se llevó la muestra (mL); y
- C es el peso de la muestra (g) o volumen de la muestra (mL).

En los equipos que pueden programarse, la lectura obtenida da directamente la concentración del elemento en mg/kg o µg/kg.

#### 8.3.3 Informe de la Prueba

Los resultados se informarán en mg/kg o µg/kg.

### 8.4 Determinación de aditivos y saborizantes en extracto de vainilla por el método de cromatografía (capa fina)

#### 8.4.1 Principio

La cromatografía en capa fina TLC por sus siglas en inglés es una técnica cuya fase estacionaria es una capa uniforme de un absorbente mantenido sobre una placa, la cual puede ser de vidrio, aluminio u otro soporte.

Se utiliza una placa cromatográfica inmersa verticalmente en un eluyente apolar; La placa cromatográfica consiste en una fase estacionaria polar (comúnmente se utiliza sílica gel) adherida a una superficie sólida con algún agente cementante. El eluyente debe ser un compuesto líquido apolar, orgánico. Para realizar la técnica se debe apoyar la placa cromatográfica sobre algún recipiente o cámara que contenga la fase líquida a aproximadamente 1 cm (la distancia entre el principio de la placa y la muestra que se desea analizar), véase 13.20 Bibliografía.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 8.4.2** Equipo
  - 8.4.2.1** Aplicador. Para depositar, hacer las capas finas sobre las placas de vidrio;
  - 8.4.2.2** Placas de vidrio, de espesor uniforme.
  - 8.4.2.3** Tabla de plástico, de 22 cm x 113 cm, con bordes alrededor de toda la tabla que sirvan como retenedores de 1.8 cm de ancho.
  - 8.4.2.3** Jarras o recipientes para revelado, con ranuras metálicas y no de vidrio, para placas y cilindros de vidrio para pequeños platos. Los cilindros pueden ser cubiertos con tapas de plástico.
- 8.4.3** Reactivos
  - 8.4.3.1** Solventes.- Hexano ( $C_6H_{14}$ ) (99 %) y acetato de etilo ( $EtOAc$ ) en proporción 4 a 1; benceno ( $C_6H_6$ ) y metanol ( $CH_4O$ ) en proporción 97 a 3.
  - 8.4.3.2** Agentes cromogénicos.- (1) Mezcla de 90 mL de una solución 0.1N de permanganato de potasio ( $KMnO_4$ ) y 10 mL de hidróxido de sodio ( $NaOH$ ) al 0.1N; (2) Solución saturada de ácido clorhídrico ( $HCl$ ) 1N con sulfato de hidracina ( $N_2H_4.H_2SO_4$ ); (3) 5 % de hidróxido de potasio ( $KOH$ ) en metanol ( $CH_4O$ ); (4) 10 % de ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) en alcohol.
  - 8.4.3.3** Gel de sílice G.- Gel de sílice de buena calidad adicionada con yeso. Checar la capacidad de que se hagan separaciones satisfactorias, haciendo pruebas con mezcla de aditivos ya conocidos.
- 8.4.4** Prueba
  - 8.4.4.1** Colocar las placas de vidrio en la tabla de plástico sostenida en la mesa de trabajo del laboratorio de tal manera que el borde retenedor largo quede de frente hacia la persona que esté trabajando, y el lado corto del borde retenedor de lado derecho. En un vaso de precipitados mezclar 30 g del gel de sílice con 60 mL de agua ( $H_2O$ ), agitar vigorosamente por 1 min aproximadamente. La pasta que se forme debe estar uniforme y libre de burbujas de aire. Verter en el aplicador, el cual está en el plato de vidrio de lado izquierdo de la tabla. Formar una película de 0.250 mm de grosor haciendo movimientos lentos



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

con el aplicador a través de las filas de placas. El tiempo total entre la adición de agua al gel de sílice y la operación de esparcirlo en las placas debe ser aproximadamente de 4 min. Poner a secar al aire las placas de 10 min a 20 min y después secar a una temperatura de 110 °C durante 2 h para activar las placas.

- 8.4.4.2** Enfriar y limpiar los bordes y la parte de atrás de las placas para quitar el exceso del gel y almacenarlas en un gabinete. Proteger de los gases del laboratorio.
- 8.4.4.3** Se hace una raya de 17 cm a lo largo de la placa desde el borde debajo de la placa y se aplica a una distancia de 2 cm del borde una mancha 10 mL de la muestra del extracto de vainilla (1x).
- 8.4.4.4** Las manchas deben de ser aproximadamente de un diámetro de 0.5 cm. (Es necesario que se pongan cantidades pequeñas en cada aplicación y dejar secar entre cada uno de éstas). Se pueden colocar las manchas de las diferentes muestras dejando un espacio de 2 cm entre cada una; aplicar el estándar y referencia de la misma manera. Colocar la placa en un frasco para revelado de tal manera que el borde se sumerja 1cm en el solvente y apoyar la parte de arriba de la placa contra un lado del frasco, de tal manera que la placa haga un ligero ángulo. Cubrir el frasco hasta que se alcance a mojar la raya de 17 cm que se trazó, retirar del solvente y dejar secar al aire libre.
- 8.4.4.5** Todos los aditivos, si se encuentran en cantidades suficientes, pueden ser detectados con la aplicación o aspersión de permanganato de potasio ( $\text{KMnO}_4$ ). Manchas oscuras aparecen en el fondo rosa, las cuales pronto se convierten de color café. Una segunda aspersión, ayuda a que salgan más manchas. Pequeñas cantidades de cumarina ( $\text{C}_{19}\text{H}_{16}\text{O}_4$ ) no se notan enseguida y tardarán un poco en aparecer, por eso es necesario que se revise la placa aproximadamente 10 min después de la aspersión.
- 8.4.4.6** Cuando las placas son rociadas con solución de sulfato de hidracina ( $\text{N}_2\text{H}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$ ), se notan manchas amarillas si contiene p-hidroxibenzaldehído ( $\text{C}_7\text{H}_6\text{O}_2$ ), vainillina ( $\text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3$ ), etil vainillina ( $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ ), veratraldehído ( $\text{C}_9\text{H}_{10}\text{O}_3$ ) y piperonal ( $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3$ ) o heliotropina ( $\text{C}_8\text{H}_6\text{O}_3$ ). Se dejan secar al aire libre y se examina bajo el reflejo de luz UV de onda larga, el generalmente aparece como manchas de color amarillo-limón;





SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

la vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) y etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) como manchas entre color naranja y café; veratraldehído ( $C_9H_{10}O_3$ ) de color naranja brillante y la heliotropina ( $C_8H_6O_3$ ). es amarillo azulado. Los tonos dependen de la cantidad de aditivos presentes y de la cantidad de solución en aerosol y pueden variar algo.

**8.4.4.7** Para detectar presencia de cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ), se rocía con solución alcohólica de hidróxido de potasio (KOH), y se deja secar al aire. Examinar bajo el reflejo de luz UV; la cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ) aparecerá como manchas brillantes de color azul blanquecino.

El propenil guaetol (vanitrope) podrá ser detectado rociando con una solución de ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ). Se desarrollan manchas azules después de secar placa unos cuantos minutos a una temperatura de 100 °C.

Aproximadamente para valores de referencia con vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) igual a uno (1) son:

- Acetato de etilo (EtOAc)-Hexano ( $C_6H_{14}$ ) como solvente: etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ), 1.6; veratraldehído ( $C_9H_{10}O_3$ ), 1.7; cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ), 2.3; heliotropina piperonal ( $C_8H_6O_3$ ), 3.0; y propenil guaetol (vanitrope) ( $C_{11}H_{14}O_2$ ), 4.0. Con Metanol (MeOH) - Benceno ( $C_6H_6$ ) como solvente, p-hidroxibenzaldehído ( $C_7H_6O_2$ ), 0.4; etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) 1.4; cumarina ( $C_{19}H_{16}O_4$ ), 1.7; veratraldehído ( $C_9H_{10}O_3$ ), 1.9; heliotropina piperonal ( $C_8H_6O_3$ ), 2.4; y vanitrope ( $C_{11}H_{14}O_2$ ), 2.4.
- p-hidroxibenzaldehído ( $C_7H_6O_2$ ) es difícil de detectar usando el solvente acetato de etilo (EtOAc), ya que su mancha de la vainillina ( $C_8H_8O_3$ ) corre muy cerca del origen. Con este solvente la etil vainillina ( $C_9H_{10}O_3$ ) y el veratraldehído ( $C_9H_{10}O_3$ ) usualmente no pueden ser separados. En cambio El p-hidroxibenzaldehído ( $C_7H_6O_2$ ) si puede ser detectado usando como solvente metanol ( $CH_4O$ ) -Benceno ( $C_6H_6$ ), y la etil vainilla ( $C_9H_{10}O_3$ ) y veratraldehído ( $C_9H_{10}O_3$ ) muestran una buena separación, pero el propenil guaetol (vanitrope) ( $C_{11}H_{14}O_2$ ) y la heliotropina piperonal ( $C_8H_6O_3$ ) aparecen con el mismo valor de Rf. Este valor se puede diferenciar haciendo pruebas con sulfato de hidracina ( $N_2H_4 \cdot H_2SO_4$ ) y ácido fosfomolibdico ( $H_3PMo_{12}O_{40}$ ) en placas separadas.

**8.5** Determinación de ácidos orgánicos en extracto de vainilla ( $C_8H_8O_3$ )



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

### 8.5.1 Principio

La determinación de ácidos orgánicos en extracto de vainilla ( $C_8H_8O_3$ ) se basa en el método de selección de cromatografía en papel (véase 13.19 Bibliografía). Es una técnica de separación en la que los componentes a separar se distribuyen entre dos fases, una de las cuales constituye un lecho estacionario de gran desarrollo superficial y la otra es un fluido que pasa a través o a lo largo del lecho estacionario.

#### 8.5.1.1 Aparatos

##### 8.5.1.1.1 Tanque-depósito-contenedor cromatográfico

Para cromatografía ascendente con tiras de papel cromatográfico del No. 1; frasco de forma cilíndrica y una cubierta de una placa de vidrio, o un frasco o contenedor rectangular con una tapa ligera. Usar frascos pequeños que puedan sostener el papel. Se puede usar una junta de neopreno para asegurarse que esté bien ajustado.

##### 8.5.1.1.2 Papel para cromatógrafo del No. 1

#### 8.5.2 Reactivos.

##### 8.5.2.1 Solución reveladora:

Éter ( $C_4H_{10}O$ ) - ácido fórmico ( $CH_2O_2$ ) - agua ( $H_2O$ ) (20+4+3), si es necesario ir agregando ácido fórmico ( $CH_2O_2$ ) en pequeñas cantidades hasta que la solución sea cristalina.

##### 8.5.2.2 Agentes cromogénicos:

##### 8.5.2.2.1 Furfural ( $C_5H_4O_2$ ) - anilina ( $C_6H_7N$ )

Disolver 0.3 mL de anilina ( $C_6H_7N$ ) y 0.3 mL de furfural ( $C_5H_4O_2$ ) en 100 mL de acetona ( $C_3H_6O$ ). Usar para sumergir. Colgar el papel en el aire hasta que se desarrollen por completo las manchas (manchas rojas sobre el fondo rosa). Para rociarse, se sustituye la acetona ( $C_3H_6O$ ) por el metanol ( $CH_4O$ ).

##### 8.5.2.2.2 Xilosa-anilina

Disolver 1g de xilosa ( $C_5H_{10}O_5$ ) en 3mL de agua ( $H_2O$ ), adicionar 57 mL de metanol ( $CH_4O$ ) y mezclar. Adicionar 1.0 mL de anilina ( $C_6H_7N$ ) y 40 mL de acetona ( $C_3H_6O$ ) y mezclar. (Para rociar o para sumergir). Colgar el papel en el aire durante 5 min para que se evapore el exceso de solvente; después colocar



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

en el horno a una temperatura de 105 °C durante 10 min (puntos marrones sobre un fondo tostado).

#### 8.5.2.2.3 Indicadores de pH:

- (a) Disolver 0.02 g de púrpura de bromocresol en 10 mL de alcohol ( $C_2H_6O$ ) y llevar a 100 mL con acetona ( $C_3H_6O$ ). Adicionar hidróxido de amonio ( $NH_4OH$ ) en forma de gotas hasta que la solución sea roja traslúcida. Se usa como pasta para inmersión y para secarse al aire. Repetir hasta que se obtenga el mejor contraste. Si se usa para rociar como aerosol, se sustituye la acetona ( $C_3H_6O$ ) con alcohol etílico ( $C_2H_6O$ ).
- (b) Disolver 0.02 g de verde de bromocresol en 10 mL de alcohol etílico ( $C_2H_6O$ ) y llevar a 100 mL con acetona ( $C_3H_6O$ ). Adicionar una solución de hidróxido de sodio ( $NaOH$ ) 1N hasta que la solución sea de color azul verdosa traslúcida. Usar para inmersión. Para su uso como aerosol sustituir la acetona ( $C_3H_6O$ ) con alcohol ( $C_2H_6O$ ).

#### 8.5.3 Determinación

**NOTA 2:** Precaución: se requieren medidas de seguridad para el manejo de sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ).

**8.5.3.1** En un tubo de centrifuga de 50 mL colocar 10 mL del extracto de vainilla de fuerza simple (1x) o su equivalente de una dilución al 10 % del concentrado del extracto con una solución 35 % de hidróxido ( $OH$ ) y agregar 25 mL de alcohol etílico ( $C_2H_6O$ ). Mezclar, adicionar 2.5 mL de una solución de acetato de plomo [ $Pb(CH_3COO)_2$ ] (8 g/100 mL), mezclar vigorosamente y centrifugar. Decantar el sobrenadante limpio. Lavar el residuo dos veces con porciones de 10 mL de una solución 80 % alcohol ( $C_2H_6O$ ), mezclar perfectamente en cada lavada y desechando la parte clara de la lavada. Dispersar el precipitado en 10 mL de agua ( $H_2O$ ) (sin grumos) y pasar en sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ) por 5 min. Filtrar a través de papel filtro hacia un vaso de precipitados y lavar el precipitado dos veces con pequeñas porciones de agua saturada con sulfuro de hidrógeno ( $H_2S$ ). Mezclar muy bien el precipitado en cada lavada para que se deshagan todos los grumos grandes que tenga. (El filtrado debe de estar limpio y claro). Evaporar a que quede casi seco por medio de un baño de vapor. Completar el secado cuidadosamente y retirar del calor inmediatamente que ya esté



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

seco. Enfriar y pesar exactamente 1 g de agua, calentar ligeramente si es necesario.

- 8.5.3.2** Colocar las manchas de muestra de 12 mL de solución sobre papel del No. 1, a una distancia de 2.5 cm de la base y 4 cm de los lados, los 12 mL se aplican en 4 porciones de 3 mL cada una colocándolas en el mismo lugar pero secando con aire caliente entre cada aplicación. Colocar las manchas de diferentes muestras dejando 4 cm de distancia entre cada una. Colgar el papel en el frasco rectangular con 1 cm del extremo inferior sumergido en el solvente. Si los frascos son de forma cilíndrica, enrollar el papel y unir los bordes dejándolos directamente separados (se pueden usar clips de acero inoxidable o hilo de algodón para unirlos). Si no hay disponibles frascos pequeños, se tiene que poner solvente en exceso a los frascos grandes y se deja reposar toda la noche antes de sumergir el papel. Alinear los frascos que sean grandes con el papel absorbente con la parte inferior sumergido en el solvente. Cubrir los frascos con cubiertas pesadas o sellar con cinta adhesiva. Revelar a una temperatura entre 20 °C a 23 °C hasta que el solvente haya corrido a 2.5 cm del borde superior (tarda aproximadamente 6 h; las manchas pueden salir por la tarde y su desarrollo comenzar hasta la mañana siguiente).
- 8.5.3.3** Dejar secar toda la noche. Para asegurarse que se haya extraído todo el ácido fórmico ( $\text{CH}_2\text{O}_2$ ) se pasa por vapor el papel, sin que se humedezca, esto de la siguiente manera: enrollar el papel e insertarlo en un tubo para estufa de 15 cm de largo, poniendo la parte inferior sobre una fuente rápida de vapor (el papel no debe de tocar los lados).
- 8.5.3.4** Dejar en el vapor 15 min, quitar y dejar secar en el aire. Tratar con uno de los agentes cromogénicos, (b), por sumersión o aspersión ((b) (1)) de preferencia para las pruebas iniciales. Marcar las manchas con un lápiz, indicando cuales son las manchas ligeras y cuales las más marcadas y comparar el patrón con una muestra de un auténtico ácido orgánico de una vainilla que haya sido tratado simultáneamente. Verificar tamaño, posición e intensidad de las manchas de los ácidos. El cromatograma del ácido orgánico del extracto de vainilla va a mostrar 4 manchas fuertes y muchas que son tenues.
- 8.6** Determinación de alcohol ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$ ) en extracto de vainilla por el método picnométrico



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

### 8.6.1 Principio

La determinación de la presencia de alcohol ( $C_2H_6O$ ) en la vainilla puede realizarse mediante el empleo del método picnométrico. Se procede como se indica en 8.1, pero se mide la muestra a 15.56 °C en el picnómetro (véase Figura 1) calibrado a esa temperatura (véase 13.15 Bibliografía).

**8.6.1.1** Para muestras que contengan 60 % o menos de alcohol por volumen.

**8.6.1.1.1** Calibrar un picnómetro de 100 mL (véase Figura 1) como se indica en 8.1.1.

**8.6.1.1.2** Llenar el picnómetro que está previamente seco y limpio con la muestra y ajustar el volumen a temperatura de calibración como en el 8.1.1.

**8.6.1.1.3** Transferir los contenidos del picnómetro al matraz de destilación, que haya sido recientemente enjuagado con agua fría y que contenga algunas cuentas de vidrio o su equivalente. Enjuague el picnómetro 3 veces, usando un total de 25 mL de agua fría y enjuague con agua simple el matraz. Coloque el picnómetro húmedo de tal manera que el adaptador se extienda justo dentro del bulbo. Rodee el picnómetro con hielo o agua helada. Complete las conexiones y pase por el condensador una corriente de agua rápida manteniéndolo a  $\leq 25^\circ$  en la salida. Destilar Ca 96 mL en una taza uniforme de  $\geq 30$  min pero  $\leq 60$  min, usando mayor tiempo para mayores porcentajes de alcohol ( $C_2H_6O$ ). Quite la tapa del picnómetro, mezcle el destilado agitando uniformemente y limpie con agua ( $H_2O$ ) cualquier gota que pueda haber quedado por arriba de la marca de graduación. Sumerja a temperatura constante, el baño a temperatura de calibración y después de 30 min diluya al volumen. Con la ayuda del tubo capilar añadiendo agua previamente hervida y enfriada a la misma temperatura. Determinar los grados separados del destilado como en la figura 1 y obtenga el % correspondiente de alcohol por volumen del 8.1 (este resultado es % de alcohol por volumen a 15.56 °C).

**8.6.2** Para muestras que contengan más de 60 % de alcohol por volumen

**8.6.2.1** Proceda como en el inciso 8.1.1 con los siguientes cambios:



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

**8.6.2.2** Calibrar picnómetros de 100 mL y 50 mL (véase Figura 1) a 15.56 °C, llenar el picnómetro de 50 mL con muestra, y ajustar a volumen a 15.56 °C. Añadir 50 mL de agua (H<sub>2</sub>O) fría al matraz de destilación antes de transferir la muestra y recolectar el destilado en el picnómetro de 100 mL. Ajustar el volumen a 15.56 °C y obtener el % de alcohol por volumen en el destilado.

### **8.6.3** Cálculos

El porcentaje de alcohol por volumen en muestra a 15.56 °C se determina por medio de la siguiente fórmula:

$$D \times W/W'$$

Donde

D es el % de alcohol por volumen en destilado a 15.56 °C;  
W es el peso de agua a 15.56 °C en picnómetro de 100 mL, y  
W' es el peso de agua a 15.56 °C en picnómetro de 50 mL.

**8.7** Determinación de resinas de vainilla en el extracto de vainilla mediante la prueba cuantitativa en cromatografía de papel.

### **8.7.1** Principio

El presente método se basa en la determinación de resinas mediante la prueba cuantitativa de cromatografía en papel. El mecanismo que interviene en la cromatografía en papel es fundamentalmente de reparto, donde la fase estacionaria es el agua adsorbida sobre las moléculas de celulosa del papel. Sin embargo, la misión del papel es realmente más compleja que actuar simplemente como soporte de la fase estacionaria, ya que, al parecer, la adsorción de los componentes de la fase móvil y de los solutos, así como efectos de cambio iónico, también toman parte en el proceso de separación (véase 13.14 Bibliografía).

El papel utilizado puede ser, en principio, papel de filtro estándar, si bien, existen en el comercio papeles especiales para CP. Estos papeles están fabricados con una porosidad y espesor determinados, así como con muy bajo contenido de restos metálicos. El desarrollo del cromatograma debe hacerse, en estos papeles, en una determinada dirección. Asimismo, deben conservarse en condiciones de humedad controlada y en lugares exentos de humos o



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

vapores que puedan adsorberse sobre las fibras de celulosa y alterar las separaciones.

#### 8.7.1.1 Procedimiento

**8.7.1.1.1** Tomar 50 mL de muestra en un vaso de precipitado de 150 mL o 250 mL y diluir con 100 mL de agua (H<sub>2</sub>O). Hervir rápidamente en la placa caliente o sobre una flama aproximadamente 50 mL. Enfriar y agregar hidróxido de amonio (NH<sub>4</sub>OH) (1+3) gota a gota hasta que esté ligeramente alcalino. Agregar 3 gotas y agitar vigorosamente 2 min para asegurar la solución de resinas. Agregar ácido clorhídrico (HCl) (1+1) gota a gota, con agitación, hasta que el papel indique ácido y queden 2 mL. Mezclar y dejar a temperatura ambiente  $\geq 1$  h pero  $\leq 24$  h.

**8.7.1.1.2** Añadir 0.5 g ácido clorhídrico (HCl) a un papel filtro y filtrar con succión a través del tallo largo, porosidad media, 30 mL con embudo Buchner de vidrio poroso y prepararlo para verter suspensión acuosa de 1 g con la ayuda de un embudo de filtro y hacer el lavado con agua. Si la filtración es lenta, suavemente rasgar la superficie de encima para romper la película de resina. La transferencia cuantitativa de resina a un embudo, usando 6 porciones de 20 mL de ácido clorhídrico (HCl) al 0.05 N para lavar vaso de precipitado y embudo.

**8.7.1.1.3** Dejar que cada porción de solución de lavado escurra antes de añadir la próxima. Dejar secar el material tanto como sea posible por medio de succión. Transferir el matraz a un embudo de secado por succión y disolver las resinas del filtro con alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) hirviendo en pequeñas porciones, usando algo de alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) para enjuagar el vaso de precipitado. Succionar cada porción a través del embudo antes de agregar lo siguiente. Mezclar con ayuda del filtro en el embudo con alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) caliente, utilizando una varilla pequeña de vidrio. Repetir hasta que la solución de alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) sea incolora.

**8.7.1.1.4** Enjuagar la punta del tallo del embudo con alcohol (C<sub>2</sub>H<sub>6</sub>O) caliente y transfiera cuantitativamente la solución al vaso de precipitado de pesado o plato de pesado. Evaporar hasta secar en baño de vapor y secar durante 1 h a 100 °C. Enfriar en el desecador y pesar.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

## 8.7.2 Resultados

Reportar resultados únicamente a dos cifras decimales.

## 8.8 Determinación del color insoluble en alcohol amílico ( $C_5H_{11}OH$ ) en extracto de vainilla por el método colorimétrico.

### 8.8.1 Principio

Cuando las dosificaciones cuantitativas se deben hacer sobre sustancias que en solución resultan con una notable coloración bien visible la determinación se puede efectuar con el método cuantitativo colorimétrico. Este consiste en comparar la coloración de la solución de las sustancias, con la coloración de una solución de la misma sustancia pero de concentración perfectamente conocida. Una de las condiciones necesarias para obtener los mejores resultados, con este método, es que las soluciones que se comparan, tengan en solución, preferentemente la misma sustancia que produce la coloración.

#### 8.8.1.1 Procedimiento

#### 8.8.1.2 Evaporar una muestra de 25 mL hasta quedar seca en el baño de vapor.

Disolver el residuo en agua ( $H_2O$ ) y alcohol ( $C_2H_6O$ ) y diluir a 50 mL usando un volumen total de 26.3 mL de alcohol ( $C_2H_6O$ ).

#### 8.8.1.3 Colocar 25 mL de esta solución en el separador y añadir 25 mL de Agente March (100 mL de alcohol amílico ( $C_5H_{11}OH$ ), 3 mL de ácido fosfórico ( $H_3PO_4$ ) y 3 mL de agua ( $H_2O$ )) recién mezclado; agitar suavemente para no formar una emulsión.

#### 8.8.1.4 Dejar que las capas se separen completamente, drenar la capa baja (la cual contiene el caramelo que esté presente) en 25 mL. Graduar y diluir a un volumen con alcohol ( $C_2H_6O$ ) (50 % por volumen).

#### 8.8.1.5 Comparar la solución en el colorímetro con una muestra de 25 mL sin tratar. De esta lectura calcule el porcentaje de color insoluto en alcohol amílico ( $C_5H_{11}OH$ ).

## 8.9 Determinación de grados Brix

Esta determinación se realiza conforme a lo establecido en la norma mexicana NMX-F-103-NORMEX-2009 (véase 2 Referencias).





SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

## **9 HIGIENE**

Los productos objeto de la presente norma mexicana debe cumplir con las prácticas de higiene establecidas en la NOM-251-SSA-2009 (véase 2 Referencias).

## **10 ENVASE Y EMBALAJE**

### **10.1 Envase**

**10.1.1** Los envases deben satisfacer las características de calidad, higiene, ventilación y resistencia para asegurar la manipulación, el transporte y la conservación adecuada del producto.

**10.1.2** El contenido del producto en cada envase debe ser homogéneo, compuesto por frutos del mismo origen, categoría, tamaño variedad y/o tipo comercial.

**10.1.3** La parte visible del contenido del producto debe ser representativo de todo el contenido.

**10.1.4** El producto debe envasarse de modo que se asegure una protección conveniente del mismo.

**10.1.5** Los materiales usados en el interior del envase deben ser nuevos, limpios y de calidad que evite daños externos o internos al producto.

**10.1.6** El uso de materiales (especialmente papel o sellos) que lleven especificaciones comerciales está permitido en el envase siempre y cuando la impresión o el etiquetado se realice con tintas o pegamentos no tóxicos

### **10.2 Embalaje**

**10.2.1** El embalaje debe ser de un material que garantice el buen manejo y conservación del producto.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

## 11 INFORMACIÓN COMERCIAL

El producto objeto de la presente norma mexicana debe cumplir con las especificaciones indicadas en la NOM-139-SCFI-1999 (véase 2 Referencias).

## 12 VIGENCIA

La presente norma mexicana entrará en vigor 60 días naturales después de la publicación de su declaratoria de vigencia en el **Diario Oficial de la Federación**.

## 13 BIBLIOGRAFÍA

- 13.1 Ley de General de Salud, última reforma 27 de abril de 2010, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de abril de 2010.
- 13.2 Reglamento de Control Sanitario de Productos y Servicios de la Secretaría de Salud, última reforma publicada en el DOF el 31 de mayo de 2009.
- 13.3 Acuerdo por el que se determinan las sustancias permitidas como aditivos y coadyuvantes en alimentos, bebidas y suplementos alimenticios, publicado en el Diario Oficial de la Federación el 17 de julio de 2006.
- 13.4 NOM-002-SCFI-1993 Productos preenvasados - Contenido neto -Tolerancias y métodos de verificación, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 13 de octubre de 1993.
- 13.5 NOM-008-SCFI-2002 Sistema General de Unidades de Medida, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 27 de noviembre de 2002.
- 13.6 NOM-030-SCFI-2006 Información comercial - Declaración de cantidad en la etiqueta - Especificaciones, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 6 de noviembre de 2006.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 13.7** NOM-051-SCFI/SSA1-2010 Especificaciones generales de etiquetado para alimentos y bebidas no alcohólicas preenvasados – Información comercial y sanitaria, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 5 de abril de 2010.
- 13.8** NOM-117-SSA1-1994 Bienes y servicios. Método de prueba para la determinación de cadmio, arsénico, plomo, estaño, cobre, fierro, zinc y mercurio en alimentos, agua potable y agua purificada por espectrometría de absorción atómica, publicada en el Diario Oficial de la Federación el 16 de agosto de 1995.
- 13.9** NMX-F-607-NORMEX-2002 Alimentos – Determinación de cenizas en alimentos – Métodos de Prueba. Declaratoria de vigencia publicada en el Diario Oficial de la Federación el 3 de mayo de 2002.
- 13.10** CODEX STAN 107-1981 Norma general para el etiquetado de aditivos alimentarios.
- 13.11** ISO 3493:1999 Vanilla – Vocabulary. International Organization for Standardization. Ginebra, Suiza. Second edition. 1999.
- 13.12** ISO 5565-1:1999 Vanilla [*Vanilla fragrans* (Salisbury) Ames] -- Part 1: Specification. International Organization for Standardization. Ginebra, Suiza. First edition. 1999.
- 13.13** ISO 5565-2:1999 Vanilla [*Vanilla fragrans* (Salisbury) Ames] -- Part 2: Test methods. International Organization for Standardization. Ginebra, Suiza. First edition. 1999.
- 13.14** (8.7) AOAC 926.09 Resinas de vainilla en extractos de vainilla. Prueba Cuantitativa en cromatografía en papel. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15<sup>th</sup> Edition, 1990. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Volume One.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

NMX-F-188-SCFI-2012  
47/48

- 13.15** (8.6) AOAC 942.06 Alcohol por volumen en licores destilados. Método de picnómetro. 942.06 B. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15<sup>th</sup> Edition, 1990. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Volume One.
- 13.16** (8.1) AOAC 945.06 Gravedad Específica (Aparente) en Licores Destilados. Método del picnómetro. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 17<sup>th</sup> Edition, 1<sup>st</sup> Revision. 2002.
- 13.17** (8.2) AOAC 955.31 Método de separación cromatográfica. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15<sup>th</sup> Edition, 1990. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Volume One.
- 13.18** (8.7) AOAC 960.36 Resinas de vainilla en extractos de vainilla. Prueba Cualitativa. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15<sup>th</sup> Edition, 1990. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Volume One.
- 13.19** (8.5) AOAC 963.16 Método de Selección por cromatografía de papel. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15<sup>th</sup> Edition, 1990. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Volume One.
- 13.20** (8.4) AOAC 964.11 Método de capa fina de cromatografía. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, 15<sup>th</sup> Edition, 1990. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Volume One.
- 13.21** (8.3) AOAC 968.15 Determinación de plomo - Método tritimétrico. Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists, Edition, 1990. Agricultural Chemicals; Contaminants; Drugs, Volume One.



SECRETARÍA DE  
ECONOMÍA

- 13.22** Agroentorno. Proyecto de Producción Intensiva de Vainilla.-  
Fundación Produce Veracruz. No, 49/Año 7/Enero 2004.
- 13.23** Agroentorno. La Vainilla. Retos y perspectivas de su cultivo.-  
Fundación Produce Veracruz. No. 76/Año 9/Julio 2006.
- 13.24** Mata, Bernardino y colaboradores. Agricultura con sabor cítrico  
y aroma de vainilla en la región del Totonacapan. Universidad  
Autónoma Chapingo, Dirección General de Investigación y  
Posgrado. Programa de Desarrollo Regional del Totonacapan,  
CIISMER – UCh. Secretaría de Desarrollo Rural del Estado de  
Puebla. Fundación Produce Puebla, A.C. Marzo, 2007.

**14 CONCORDANCIA CON NORMAS INTERNACIONALES**

La presente norma mexicana no coincide con ninguna norma internacional por no encontrarse referencias al momento de su elaboración.

México, D.F., a 19 de septiembre de 2012

El Director General, **CHRISTIAN TURÉGANO ROLDÁN**.- Rúbrica.