

Artículo 3. *Expedición del título.*

El título a que se refiere el apartado 1 del artículo 1 será expedido por el Rector de la Universidad de Vigo, de acuerdo con lo establecido en el apartado 2 del artículo 34 de la Ley Orgánica 6/2001, de 21 de diciembre, y demás normas vigentes, con expresa mención de este real decreto que homologa el título.

Disposición final primera. *Habilitación para el desarrollo reglamentario.*

Por el Ministro de Educación y Ciencia, en el ámbito de sus competencias, se dictarán las disposiciones necesarias para el desarrollo y aplicación de este real decreto.

Disposición final segunda. *Entrada en vigor.*

El presente real decreto entrará en vigor el día siguiente al de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Dado en Madrid, a 21 de mayo de 2004.

JUAN CARLOS R.

La Ministra de Educación y Ciencia,

MARÍA JESÚS SAN SEGUNDO GÓMEZ DE CADIÑANOS

MINISTERIO DE LA PRESIDENCIA

10381 *ORDEN PRE/1629/2004, de 2 de junio, por la que se modifica el anexo del Real Decreto 2257/1994, de 25 de noviembre, por el que se aprueban los métodos oficiales de análisis de piensos o alimentos para animales y sus primeras materias.*

El Real Decreto 2257/1994, de 25 de noviembre, por el que se aprueban los métodos oficiales de análisis de piensos o alimentos para animales y sus primeras materias, incorpora la Directiva 92/89/CEE de la Comisión, de 3 de noviembre, por la que se modifica el anexo I de la cuarta Directiva 73/46/CEE, por la que se determinan métodos de análisis comunitarios para el control oficial de los alimentos para animales; las Directivas de la Comisión 92/95/CEE, de 9 de noviembre y 92/14/CE, de 29 de marzo, por las que se modifica el anexo de la séptima Directiva 76/372/CEE, que establece métodos de análisis comunitarios para el control oficial de piensos; y las Directivas 93/70/CEE de la Comisión, de 28 de julio, 93/117/CEE de la Comisión de 17 de diciembre, por las que se fijan métodos de análisis comunitarios para el control oficial de los alimentos para animales, y 93/28/CEE, de la Comisión de 4 de junio, por la que se modifica el anexo 1.º de la tercera Directiva 72/199/CEE, por la que se determinan métodos de análisis comunitarios para el control oficial de alimentos para animales.

El Real Decreto 609/1999, de 16 de abril, por el que se modifica el Real Decreto 2257/1994, dio nueva redacción a la disposición final primera, facultando a los Ministros de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo, en el ámbito de sus respectivas competencias, para modificar el Anexo cuando ello sea consecuencia de la modificación de la normativa comunitaria. En base a esta habilitación, el Anexo ha sido modificado por diversas Órdenes ministeriales. De entre

ellas, la Orden de 24 de junio de 1999 por la que se aprueban diversos métodos oficiales de análisis de alimentos para animales (piensos y sus primeras materias), traspone, entre otras, la Directiva 98/88/CE de la Comisión, de 13 de noviembre, por la que se establecen directrices para la identificación de los componentes de origen animal y el cálculo de sus cantidades mediante examen microscópico a los efectos del control oficial de los piensos.

Mediante la presente Orden se incorpora al derecho interno la Directiva 2003/126/CE de la Comisión, de 23 de diciembre de 2003, relativa a los métodos de análisis para determinar los componentes de origen animal a los efectos del control oficial de los piensos, por la que se deroga la Directiva 98/88/CE.

La presente Orden se dicta en base a la habilitación establecida por la citada disposición final primera del Real Decreto 2257/1994.

En la tramitación, la presente Orden ha sido sometida a consulta de las Comunidades Autónomas y los sectores afectados y a informe de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria.

En su virtud, a propuesta de las Ministras de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo, dispongo:

Artículo único. *Modificación del Real Decreto 2257/1994.*

Se modifica el Anexo del Real Decreto 2257/1994, de 25 de noviembre, por el que se aprueban diversos métodos oficiales de análisis de piensos o alimentos para animales y sus primeras materias, sustituyendo el epígrafe 63, «directrices para la identificación de los componentes de origen animal y el cálculo de sus cantidades en los piensos mediante examen microscópico», por el Anexo de la presente Orden.

Disposición final primera. *Título competencial.*

La presente Orden se dicta al amparo de lo dispuesto en el artículo 149.1, reglas 13.ª y 16.ª de la Constitución, por los que se atribuye al Estado la competencia exclusiva en materia de, respectivamente, bases y coordinación de la planificación general de la actividad económica y bases y coordinación general de la sanidad.

Disposición final segunda. *Entrada en vigor.*

La presente Orden entrará en vigor el 1 de julio de 2004.

Madrid, 2 de junio de 2004.

FERNÁNDEZ DE LA VEGA SANZ

Excmas. Sras. Ministras de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo.

ANEXO

«63. Condiciones para la detección, identificación o estimación, mediante examen microscópico, de los componentes de origen animal presentes en los piensos.

1. Objetivo y ámbito de aplicación.

Las presentes condiciones se aplicarán al realizar exámenes microscópicos para detectar la presencia de componentes de origen animal, definidos como productos derivados del procesado de cuerpos y partes de cuerpos de mamíferos, aves de corral y pescado, en el marco del programa coordinado de controles en el ámbito de la alimentación animal establecido en el Real Decreto 354/2002, de 12 abril, por el que se establecen los

principios relativos a la organización de los controles oficiales en el ámbito de la alimentación animal, que incorpora la Directiva 95/53/CE, del Consejo, de 25 de octubre, del mismo título que el Real Decreto, con sus modificaciones posteriores.

Si se utilizan todos los métodos del presente anexo en todos los exámenes oficiales, podrá también efectuarse un segundo examen, utilizando variantes de los métodos o métodos alternativos, para mejorar la detección de determinados tipos de componentes de origen animal o precisar más el origen de dichos componentes. Por otra parte, en el examen de determinados componentes animales específicos, como la presencia de plasma o huesos en el sebo, véase el punto 9, podrá utilizarse una variante del protocolo, a condición de que esos análisis se realicen como complemento de los previstos en el programa coordinado de control.

Los laboratorios autorizados o designados para realizar los análisis a que se refiere el artículo 7 del Real Decreto 354/2002, de 12 de abril, deberán participar periódicamente en pruebas de competencia en los métodos de análisis y el personal de laboratorio que realiza los análisis deberá recibir una formación adecuada para la realización de los mismos.

2. Sensibilidad.

En función de su naturaleza, las cantidades de componentes de origen animal de los piensos que pueden detectarse son muy pequeñas (< 0,1 %).

3. Principio.

Para la identificación se utiliza una muestra representativa y preparada de forma adecuada, tomada de conformidad con lo dispuesto en la Directiva 76/371/CEE de la Comisión, de 1 de marzo de 1976, sobre determinación de métodos comunitarios de toma de muestras para el control oficial de la alimentación animal, incorporada en el Real Decreto 2257/1994, de 25 de noviembre. El siguiente protocolo es apto para tratar piensos con bajo contenido de humedad. Los piensos con un contenido de humedad superior al 14 % deberán secarse (condensarse) antes de ser tratados. Determinados alimentos animales, por ejemplo, grasas y aceites, requieren un tratamiento específico (véase el punto 9). Los componentes de origen animal se identifican a partir de características típicas microscópicamente identificables (por ejemplo, fibras musculares y otras partículas de carne, cartílago, huesos, cuerno, pelo, cerdas, sangre, plumas, cáscaras de huevo, huesos o escamas de pescados). La identificación debe realizarse tanto a partir de la fracción de tamiz (6.1) como del sedimento concentrado (6.2) de la muestra.

4. Reactivos.

4.1 Agentes de imbibición.

4.1.1 Hidrato de cloral (acuoso, 60 % peso/volumen).

4.1.2 Lejía (NaOH 2,5 % peso/volumen o KOH 2,5 % peso/volumen) para fracciones de tamiz.

4.1.3 Aceite de parafina o glicerol (viscosidad: 68-81) para las observaciones microscópicas en el sedimento.

4.2 Agentes de lavado.

4.2.1 Alcohol, 96 %.

4.2.2 Acetona.

4.3 Agente de concentración.

4.3.1 Tetracloroetileno (densidad 1,62).

4.4 Reactivos de coloración.

4.4.1 Solución de yodo/yoduro de potasio (disolver 2 g de yoduro de potasio en 100 ml de agua y añadir 1 g de yodo, agitando frecuentemente).

4.4.2 Rojo de alizarina (diluir 2,5 ml de ácido clorhídrico 1 M en 100 ml de agua y añadir a la solución 200 mg de rojo de alizarina).

4.4.3 Reactivo de cistina (2 g de acetato de plomo, 10 g de NaOH/100 ml de agua).

4.4.4 Solución de yodo/yoduro potásico.

4.5 Reactivo decolorante.

4.5.1 Solución comercial de hipoclorito de sodio (9,6 % de cloro activo).

5. Equipo y accesorios.

5.1 Balanza analítica (precisión de 0,01 g salvo para el sedimento concentrado: 0,001 g).

5.2 Material de trituración (trituradora o mortero, especialmente para los alimentos con más del 15 % de grasa en análisis).

5.3 Tamiz de malla cuadrada con orificios de 0,50 mm de lado como máximo.

5.4 Ampolla de decantación o vaso de precipitados de fondo cónico.

5.5 Microscopio estereoscópico (mínimo: 40 aumentos).

5.6 Microscopio compuesto (mínimo: 400 aumentos) de luz transmitida o polarizada.

5.7 Material de vidrio normal de laboratorio.

Todo el equipo se limpiará a fondo. Los embudos de separación y el material de vidrio deben lavarse en máquina lavadora. Los tamices deben limpiarse con un cepillo de cerdas rígidas.

6. Procedimiento.

Los alimentos granulados pueden tamizarse previamente si ambas fracciones se analizan como muestras distintas.

Se tratarán al menos 50 g de muestra, cuidadosamente molidos, si fuera necesario mediante el equipo adecuado (5.2), para lograr una estructura apropiada. Tomar dos partes representativas de la materia molida, una para la fracción de tamiz, al menos 5 g (6.1), y otra para el sedimento concentrado al menos 5 g (6.2). Para facilitar la identificación, pueden utilizarse también reactivos de coloración (6.3).

Para indicar la naturaleza de las proteínas animales y el origen de las partículas, puede utilizarse un sistema de apoyo a la toma de decisiones (como ARIES) y aportar muestras de referencia.

6.1 Determinación de componentes de origen animal en las fracciones de tamiz.

Se tamizará un mínimo de 5 g de la muestra (5.3) en dos fracciones. La fracción o fracciones de tamiz con partículas grandes (o una parte representativa de la fracción) se aplicarán en una capa fina a un soporte adecuado y se observarán sistemáticamente mediante el microscopio estereoscópico (5.5) y en diversas ampliaciones para comprobar la presencia de componentes de origen animal.

Las láminas hechas con la fracción o fracciones de tamiz con partículas finas se observarán sistemáticamente al microscopio compuesto (5.6) en diversas ampliaciones para comprobar la presencia de componentes de origen animal.

6.2 Determinación de componentes de origen animal del sedimento concentrado.

Se transferirá un mínimo de 5 g (precisión de 0,01 g) de la muestra a una ampolla de decantación o un vaso de precipitados de fondo cónico y se tratará al menos con 50 ml de tetracloroetileno (4.3.1). La mezcla se agitará o se revolverá en varias ocasiones.

Si se utiliza una ampolla de decantación cerrada, el sedimento deberá dejarse reposar durante suficiente tiempo (al menos 3 minutos) antes de separarlo. A continuación volverá a agitarse y a dejarse reposar durante al menos 3 minutos. Seguidamente el sedimento volverá a separarse.

Si se utiliza un vaso abierto, el sedimento se dejará reposar durante al menos 5 minutos antes de separarlo.

El total del sedimento se secará y posteriormente se pesará (precisión de 0,001 g). El pesaje será sólo necesario en caso de que se requiera una estimación. Si el sedimento contiene muchas partículas grandes, puede tamizarse (5.3) en dos fracciones. El sedimento seco se examinará para buscar componentes óseos al microscopio estereoscópico (5.5) y al microscopio compuesto (5.6).

6.3 Uso de agentes de imbibición y de reactivos de coloración.

La determinación microscópica de los componentes de origen animal puede verse facilitada mediante el uso de agentes de imbibición y reactivos de coloración especiales:

Hidrato de cloral (4.1.1): al calentarse cuidadosamente, las estructuras celulares pueden apreciarse más claramente, gracias a que los granos de almidón gelatinizan y se elimina el contenido celular no deseado.

Lejía (4.1.2): tanto el hidróxido de sodio como el hidróxido de potasio clarifican las materias constitutivas de los piensos, lo que ayuda a detectar fibras musculares, pelos y otras estructuras queratinicas.

Aceite de parafina y glicerol (4.1.3): los componentes óseos pueden identificarse bien en este agente de imbibición, gracias a que la mayor parte de las lagunas se mantienen llenas de aire y aparecen como agujeros negros de 5-15 micrómetros.

Solución de yodo/yoduro de potasio (4.4.1): se utiliza para la detección de almidón (azul violáceo) y proteínas (amarillo anaranjado). Si es necesario, las soluciones pueden diluirse.

Solución roja de alizarina (4.4.2): colorante rojo/rosado de huesos, espinas y escamas de pescados. Antes de secar el sedimento (véase el punto 6.2), el sedimento total se transferirá a un tubo de ensayo de vidrio y se lavará dos veces con aproximadamente 5 ml de alcohol (4.2.1) (en cada lavado se utilizará un agitador mecánico y se dejará reposar el disolvente durante aproximadamente un minuto antes de decantarlo). Antes de utilizar este reactivo de coloración, el sedimento se blanqueará añadiendo al menos 1 ml de solución de hipoclorito de sodio (4.5.1). Dejar reaccionar durante 10 minutos. El tubo se llenará de agua y se dejará sedimentar durante 2-3 minutos, tras lo cual se decantará el agua y las partículas suspendidas. El sedimento se lavará dos veces más con aproximadamente 10 ml de agua (utilizar un agitador mecánico, dejar reposar y decantar el agua cada vez). Añadir entre 2 y 10 gotas o más (dependiendo de la cantidad de residuo) de la solución roja de alizarina. Agitar la mezcla y dejar reaccionar algunos segundos. Aclarar el sedimento coloreado dos veces con aproximadamente 5 ml de alcohol (4.2.1) y seguidamente enjuagar una vez con acetona (4.2.2) (cada vez que se use el agitador mecánico, dejar reposar

el disolvente alrededor de un minuto y decantar). Será entonces cuando el sedimento esté listo para secar.

Reactivo de cistina (4.4.3): calentados cuidadosamente, los componentes que contienen cistina (pelo, plumas, etc.) adquieren un color marrón oscuro.

6.4 Examen de alimentos susceptibles de contener harina de pescado.

Se examinará en el microscopio compuesto al menos una lámina de las fracciones de tamiz y de sedimento de menor granulometría (véanse los puntos 6.1 y 6.2).

En los casos en que la etiqueta indique que los ingredientes incluyen harina de pescado, se sospeche tal presencia o se haya detectado en el examen inicial, se examinarán al menos dos láminas adicionales de la fracción de tamiz de menor granulometría de la muestra original, y se examinará la fracción total de sedimento.

7. Cálculo y evaluación.

Las Autoridades competentes velarán por la aplicación de los procedimientos descritos en este punto cuando se realice un análisis oficial para estimar la cantidad (y no sólo la presencia) de componentes de origen animal.

El cálculo sólo puede hacerse si los componentes de origen animal contienen fragmentos óseos.

En las láminas microscópicas, los fragmentos óseos de especies terrestres de sangre caliente (es decir, mamíferos y aves) pueden distinguirse de los diversos tipos de huesos de pescado gracias a sus típicas lagunas. La proporción de componentes de origen animal en la materia de muestra se estima tomando en consideración:

la proporción estimada (porcentaje en peso) de fragmentos óseos en el sedimento concentrado,

la proporción (porcentaje en peso) de hueso presente en los componentes de origen animal.

El cálculo debe basarse en al menos tres (si es posible) láminas y al menos cinco campos por lámina. En los piensos compuestos, el sedimento concentrado por regla general contiene no sólo huesos de animal terrestre y fragmentos de hueso de pescado sino también otras partículas del peso específico elevado como, por ejemplo, minerales, arena, fragmentos vegetales lignificados y similares.

7.1 Valor estimado del porcentaje de fragmentos óseos.

Porcentaje de fragmentos de huesos de animales terrestres = $(S \times c)/W$.

Porcentaje de fragmentos de huesos y escamas de pescados = $(S \times d)/W$.

[S = peso (mg) del sedimento, c = factor de corrección (%) para la porción estimada de huesos de animales terrestres del sedimento, d = factor de corrección (%) para la porción calculada de fragmentos de huesos y escamas de pescado del sedimento, W = peso de la materia de muestra para la sedimentación (mg).]

7.2 Valor estimado de los componentes de origen animal.

La proporción de componentes óseos en productos animales puede variar considerablemente. (El porcentaje óseo en el caso de las harinas de huesos es del orden del 50-60 % y en el caso de las harinas de carne del orden del 20-30 %; en el caso de las harinas de pescado el contenido de huesos y escamas varía según la categoría y el origen de la harina, normalmente es del orden del 10-20 %.)

Si el tipo de harina animal presente en la muestra es conocido, pueden hacerse las siguientes estimaciones del contenido:

Contenido estimado de componentes de productos de animales terrestres (%) = $(S \times c)/(W \times f) \times 100$.

Contenido estimado de componentes de productos de pescado (%) = $(S \times d)/(W \times f) \times 100$.

[S = peso (mg) del sedimento, c = factor de corrección (%) para la porción estimada de componentes óseos de animales terrestres del sedimento, d = factor de corrección (%) para la porción estimada de fragmentos de huesos y escamas de pescado del sedimento, f = factor de corrección para la proporción ósea de los componentes de origen animal en la muestra examinada, W = peso del material de muestra para la sedimentación (mg).]

8. Expresión del resultado del examen.

El informe contendrá al menos los datos sobre la presencia de componentes derivados de animales terrestres y de harina de pescado. Los diversos casos se describirán de la siguiente forma:

8.1 En cuanto a la presencia de componentes derivados de animales terrestres:

En el examen microscópico de la muestra presentada, no se ha detectado ningún componente derivado de animales terrestres.

En el examen microscópico de la muestra presentada, se han detectado componentes derivados de animales terrestres.

8.2 En cuanto a la presencia de harina de pescado:

En el examen microscópico de la muestra presentada, no se han detectado componentes derivados del pescado.

En el examen microscópico de la muestra presentada, se han detectado componentes derivados del pescado.

En caso de que se detecten componentes derivados del pescado o de animales terrestres, el informe del resultado del examen puede incluir también, si procede, una

estimación de la cantidad de componentes detectada ($\times$ %, $< 0,1$ %, $0,1-0,5$ %, $0,5-5$ % o > 5 %), especificar, si es posible, el tipo de animal terrestre y de los componentes animales identificados (fibras musculares, cartílago, huesos, cuerno, pelo, cerdas, plumas, sangre, cáscaras de huevo, huesos y escamas de pescado).

Si se hace una estimación de la cantidad de ingredientes animales, se indicará el factor de corrección, f, utilizado.

Si se identifican los componentes óseos de animales terrestres, el informe deberá incluir la frase siguiente:

"No puede excluirse la posibilidad de que los componentes mencionados sean originarios de mamíferos."

La inclusión de esta frase no será necesaria cuando los fragmentos óseos de animales terrestres se identifiquen como originarios de aves de corral o de mamíferos.

9. Protocolo opcional para el análisis de grasas o aceites.

En el análisis de las grasas y los aceites podrá utilizarse el siguiente protocolo:

Si la grasa es sólida, deberá calentarse, por ejemplo, en un microondas hasta su fusión.

A continuación, se transferirán mediante una pipeta 40 ml de grasa de la base de la muestra a un tubo de centrifugación.

Centrifugar durante 10 minutos a 4000 rpm.

Si, tras la centrifugación, la grasa se solidifica, deberá calentarse una vez más en un horno hasta su fusión. Repetir la centrifugación durante 5 minutos a 4000 rpm.

A continuación se transferirá mediante una cucharilla o una espátula, la mitad de las impurezas decantadas a una pequeña placa de Petri o a una lámina de microscopio, para determinar al microscopio la eventual presencia de componentes de origen animal (fibras de carne, plumas, fragmentos óseos, etc.). Como agente de imbibición para el examen microscópico se recomienda aceite de parafina o glicerol.

Las impurezas restantes se utilizarán para la sedimentación descrita en el punto 6.2.»