

## **ORDEN DE 2 AGOSTO 1991, SOBRE NORMAS MICROBIOLÓGICAS, LÍMITES DE CONTENIDO EN METALES PESADOS Y MÉTODOS ANALÍTICOS PARA SU DETERMINACIÓN EN LOS PRODUCTOS DE LA PESCA Y ACUICULTURA CON DESTINO AL CONSUMO HUMANO**

El Real Decreto 1521/1984, de 1 de agosto («Boletín Oficial del Estado» del 22), por el que se aprueba la reglamentación técnico-sanitaria de los establecimientos y productos de la pesca y acuicultura con destino al consumo humano, en su artículo 24 dispone que las normas microbiológicas, especificaciones bioquímicas y tolerancias en el contenido de metales pesados para todos los productos de la pesca, se determinarán por la Subsecretaría de Sanidad y Consumo, previo informe preceptivo de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, y una vez que hayan sido oídos los sectores afectados.

Consecuentemente con la habilitación citada en el párrafo anterior, se establecen las normas microbiológicas de los diferentes productos de la pesca y acuicultura por grupos, presentaciones, frescos o congelados, y, en razón de su tratamiento, en conserva, ahumados, salazones y similares, así como los límites del contenido en metales pesados y los correspondientes métodos analíticos para la determinación de éstos.

Todo ello sin que lo dispuesto en esta disposición sea obstáculo al principio de la libre circulación de mercancías, establecido en los artículos 30 y 36 del Tratado Constitutivo de la Comunidad Económica Europea.

La presente Orden se dicta al amparo de lo dispuesto en los artículos 149.1.16.º de la Constitución Española y 40.2 de la Ley 14/1986, de 25 de abril, General de Sanidad.

En su virtud, oídos los sectores afectados y previo informe preceptivo de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, he dispuesto:

### **Artículo 1.º**

Las normas microbiológicas para los productos de la pesca y acuicultura citadas a continuación quedan establecidas en la forma siguiente:

1.1 Productos frescos, salpresados, refrigerados y congelados:

Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 °C ± 1 °C): Máx. 1 x 10<sup>6</sup>/g.

«Enterobacteriaceae» totales: Máx. 1 x 10<sup>3</sup>/g.

«Salmonella»-«Shigella»: AUS/25 g.

1.2 Productos seco-salados, salazones y desecados:

Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 °C ± 1 °C): Máx. 1 x 10<sup>5</sup>/g.

«Enterobacteriaceae» totales: Máx. 1 x 10<sup>2</sup>/g.

«Salmonella»-«Shigella»: AUS/25 g.

1.3 Productos cocidos:

Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 °C ± 1 °C): Máx. 1 x 10<sup>5</sup>/g.

«Enterobacteriaceae» totales: Máx. 1 x 10<sup>3</sup>/g.

«Salmonella»-«Shigella»: AUS/25 g.

«Staphylococcus aureus» enterotoxigénico (Biotipos coagulasa, DNsa y fosfatasa positivos): Máx. 1 x 10<sup>2</sup>/g.

1.4 Semiconservas en vinagre:

Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 °C ± 1 °C): Máx. 1 x 10<sup>3</sup>/g.

«Enterobacteriaceae» totales: Máx. 1 x 10<sup>2</sup>/g.

«Salmonella»-«Shigella»: AUS/25 g.

1.5 Anchoas en aceite:

Este tipo de productos se someterá a preincubación durante diez días a 17 °C.

Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 °C ± 1 °C): Máx. 1 x 10<sup>5</sup>/g.

Recuento de anaerobios: Máx. 1 x 10<sup>4</sup>/g.

«Enterobacteriaceae» totales: AUS/g.

«Staphylococcus aureus» enterotoxigénico (Biotipos coagulasa, DNsa y fosfatasa positivos): AUS/g.

Toxina de «Clostridium botulinum»: AUS.

En el acta de toma de muestras deberán reflejarse las condiciones de conservación de la muestra y la fecha de consumo preferente.

El análisis de los tres ejemplares deberá estar iniciado antes de finalizar su fecha de consumo preferente.

#### 1.6 Productos ahumados:

1. Para envases metálicos, este tipo de productos se someterá a preincubación durante diez días a 17 °C.

2. Para envases empaquetados al vacío, este tipo de productos se someterá a preincubación durante tres días a 17 °C.

3. La toma de muestras en los productos ahumados se hará por triplicado, según la legislación vigente y de acuerdo con los métodos siguientes:

A) Como norma general se tomarán cinco unidades del mismo lote para cada uno de los tres ejemplares de la muestra. Cada unidad estará constituida por un envase original e íntegro. Para las muestras tomadas según este apartado las tolerancias serán las indicadas a continuación:

n = Número de unidades que completan la muestra.

c = Número de muestras que pueden rebasar el límite «m» sin ser superior al límite «M».

m = Límite microbiológico que únicamente «c» de las «n» muestras pueden sobrepasar.

M = Nivel límite de aceptabilidad.

B) Excepcionalmente, en los supuestos que no fuera posible tomar el número de muestras indicado en el apartado a) por falta de cantidad suficiente de un mismo lote, se tomará una unidad para cada ejemplar de la muestra. Para las muestras tomadas según este apartado las tolerancias serán las indicadas a continuación:

Recuento de colonias aerobias mesófilas (31 °C ± 1 °C): Máx. 1 X 10<sup>6</sup>/g.

«Enterobacteriaceae» totales: Máx. 1 x 10<sup>3</sup>/g.

«Salmonella»-«Shigella»: AUS/25 g.

«Staphylococcus aureus» enterotoxigénico (Biotipos coagulasa DNsa y fosfatasa positivos): Máx. 2 x 10<sup>1</sup>/g.

Toxina de «Clostridium botulinum»: Ausencia.

En el acta de toma de muestras deberán reflejarse las condiciones de conservación de la muestra y la fecha de consumo preferente.

El análisis de los tres ejemplares deberá estar iniciado antes de finalizar su fecha de consumo preferente.

#### 1.7 Productos en conserva:

Los productos conservados no deberán sobrepasar las siguientes limitaciones microbiológicas:

1. Ausencia de microorganismos que crezcan y se multipliquen, previas las pruebas de preincubación, durante treinta días a 31 °C ± 1 °C y diez días a 44 °C.

2. Flora esporulada: Máximo 10 esporos de «Bacillaceae» termoestables, no patógenos, no toxigénicos e incapaces de alterar la conserva.

3. Ausencia de toxina botulínica en todo el contenido del envase.

En el acta de toma de muestras deberán reflejarse las condiciones de conservación de la muestra y la fecha de consumo preferente.

El análisis de los tres ejemplares deberá estar iniciado antes de finalizar su fecha de consumo preferente.

### Artículo 2.º

Los límites máximos de contenido en metales pesados en la parte comestible, expresados en masa húmeda, para los productos de la pesca y acuicultura citados a continuación, quedan establecidos en la forma siguiente:

#### 2.1 Pescados y cefalópodos frescos, congelados, en conserva y en semiconserva:

Cadmio: 1 ppm.

Cobre: 20 ppm.

Mercurio: 1 ppm.

Plomo:

Pescados y cefalópodos frescos y congelados: 2 ppm.

Pescados y cefalópodos en conserva y semiconserva: 3 ppm.

Estaño: Para conservas y semiconservas, 250 ppm.

#### 2.2 Moluscos bivalvos y gasterópodos en todas sus presentaciones:

Cadmio: 1 ppm.

Cobre: 20 ppm. (para la ostra y coquina, 60 ppm).

Mercurio: 1 ppm.

Plomo: 5 ppm.

Estaño: Para conservas, 250 ppm.

2.3 Crustáceos en todas sus presentaciones:

Cadmio: 1 ppm.

Cobre: 20 ppm.

Mercurio: 1 ppm.

Plomo: 1 ppm.

Estaño: Para conservas, 250 ppm.

Artículo 3.º Los límites máximos de biotoxinas para los moluscos bivalvos en todas sus presentaciones quedan establecidos en la forma siguiente:

Biotoxina hidrosoluble: 80 microgramos por 100 gramos de productos (por bioensayo en ratón).

Biotoxina liposoluble: Ausencia por 100 gramos de producto.

**Artículo 4.º**

Los métodos de análisis de metales pesados para los productos de la pesca y acuicultura serán los que figuran en el anexo I.

**Artículo 5.º Importación.-**

No obstante, las exigencias de esta disposición no se aplicarán a los productos de importación legal y lealmente fabricados y comercializados en los restantes Estados miembros de la Comunidad Económica Europea. Los citados productos, y siempre que no supongan riesgos para la salud humana, y no afecten a la aplicación del artículo 36 del Tratado Constitutivo de la Comunidad Económica Europea, podrán ser comercializados en España con la correspondiente denominación de venta, de acuerdo con lo dispuesto en el artículo 5.º de la Directiva 79/112/CEE del Consejo, de 18 de diciembre de 1978, relativa a la aproximación de las legislaciones de los Estados miembros en materia de etiquetado, presentación y publicidad de los productos alimenticios.

Por otra parte, lo dispuesto en la presente disposición se entiende sin perjuicio de lo dispuesto en los Tratados o Convenios internacionales sobre la materia y que resulten de aplicación en España.

**DISPOSICION DEROGATORIA**

A la entrada en vigor de la presente Orden quedan derogados:

El artículo 11 de la Orden de 31 de mayo de 1985, por la que se aprueba la norma de calidad de los moluscos bivalvos depurados («Boletín Oficial del Estado» de 8 de junio).

Los artículos 11 y 12 de la Orden de 15 de octubre de 1985 por la que se aprueba la norma de calidad para los mejillones cocidos y congelados («Boletín Oficial del Estado» del 22).

Los artículos 11 y 12 de la Orden de 15 de octubre de 1985 por la que se aprueba la norma de calidad para mejillón, almeja y berberecho en conserva («Boletín Oficial del Estado» del 22).

Cuantas disposiciones de igual o inferior rango se opongan a lo dispuesto en la presente Orden.

## ANEXO I

### MÉTODOS DE ANÁLISIS DE METALES PESADOS

#### 1. Plomo

1.1 Principio.-Determinación de plomo por espectrofotometría de absorción atómica previa mineralización de la muestra.

1.2 Material y aparatos.

1.2.1 Balanza analítica.

1.2.2 Espectrofotómetro de absorción atómica con corrector de fondo.

1.2.3 Lámpara de plomo de cátodo hueco o descarga sin electrodos.

1.2.4 Horno eléctrico (mufla) con dispositivo de control de temperatura.

1.2.5 Baño de arena o placa calefactora.

1.2.6 Cápsulas o crisoles de platino, cuarzo o porcelana.

1.3 Reactivos.

1.3.1 Acido nítrico al 70 por 100 (d=1,41) p.a.

1.3.2 Acido nítrico al 1 por 100 en agua destilada (v/v).

1.3.3 Acido clorhídrico al 37 por 100 (d=1,19) p.a.

1.3.4 Disolución de ácido nítrico al 3 por 100 (v/v) y ácido clorhídrico al 6 por 100 (v/v).

1.3.5 Disolución patrón de 1.000 mg. de Pb/1. Disolver 1.598 mg. de (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Pb p.a. enrasando a 1 litro con ácido nítrico al 1 por 100.

1.4 Procedimiento.

1.4.1 Preparación de la muestra. Se pesan en una cápsula 10 g. de muestra homogeneizada procedente de la parte comestible. Se lleva sobre la placa calefactora, teniendo cuidado que la combustión no sea demasiado rápida, de manera que no haya pérdidas de materia sólida por proyección. Seguidamente, introducir la cápsula en la mufla fría, subir la temperatura lentamente hasta 400 °C y mantenerla hasta mineralización total. Dejar enfriar. Si las cenizas no quedaron blancas, añadir 2 ml. de ácido nítrico al 70 por 100, evaporándolo lentamente en la placa calefactora. Pasar a continuación a la mufla fría repitiendo el proceso. Disolver las cenizas con la disolución 1.3.4, llevar a un matraz de 10 ml. y lavar la cápsula sucesivas veces con la disolución 1.3.4, añadiéndose al matraz y enrasando con dicha disolución.

1.4.2 Construcción de la recta de calibración. Diluir alícuotas apropiadas de la disolución patrón (1.3.5) con la disolución 1.3.4 para obtener una recta de calibración de 1, 5 y 10 mg/1 de plomo.

1.4.3 Determinación. Operar según las especificaciones del aparato, usando llama de aire-acetileno. Las longitudes de onda para leer el plomo son 217 ó 283/3 nm.

1.5 Cálculos.-Calcular el contenido en plomo, expresado en mg./kg., mediante comparación con la correspondiente recta de calibración, y teniendo en cuenta el factor de dilución. El límite de cuantificación del método es de 0,2 ppm.

1.6 Referencias.-AOAC. Métodos oficiales de Análisis (plomo en pescados). 1984.

#### 2. Cobre

2.1 Principio.-Determinación de cobre por espectrofotometría de absorción atómica previa mineralización de la muestra.

2.2 Material y aparatos.

2.2.1 Lámpara de cobre de cátodo hueco o descarga sin electrodos.

2.2.2 Los utilizados para el plomo (1.2.1, 1.2.2, 1.2.4, 1.2.5 y 1.2.6).

2.3 Reactivos.

2.3.1 Los utilizados para el plomo (1.3.1, 1.3.2, 1.3.3 y 1.3.4).

2.3.2 Acido nítrico al 50 por 100 (v/v).

2.3.3. Disolución patrón de 1.000 mg. de Cu/1. Disolver 1.000 mg. de Cu puro p.a. en el mínimo volumen necesario de NO<sub>3</sub>H al 50 por 100 y diluir a 1 litro con ácido nítrico al 1 por 100 (v/v).

2.4 Procedimiento.

2.4.1 Preparación de la muestra (como en el punto 1.4.1).

2.4.2 Construcción de la recta de calibración. Diluir alícuotas apropiadas de la disolución patrón (2.3.3) con la disolución 1.3.4, para obtener una recta de calibración que contenga de 1 a 5 mg./l de cobre.

2.4.3 Determinación. Operar según las especificaciones del aparato, usando llama de aire-acetileno. La longitud de onda es 324,8 nm.

2.5 Cálculos.-Calcular el contenido en cobre, expresado en mg./kg., mediante comparación con la correspondiente recta de calibración, y teniendo en cuenta el factor de dilución. El límite de cuantificación del método es de 0,1 ppm.

### 3. Cadmio

3.1 Principio.-Determinación de cadmio por espectrofotometría de absorción atómica previa mineralización de la muestra.

3.2 Material y aparatos.

3.2.1 Lámpara de cadmio de cátodo hueco o descarga sin electrodos.

3.2.2 Los utilizados para el plomo (1.2.1, 1.2.2, 1.2.4, 1.2.5 y 1.2.6).

3.3 Reactivos.

3.3.1 Los utilizados para el plomo (1.3.1, 1.3.3 y 1.3.4).

3.3.2 Acido clorhídrico al 50 por 100 (v/v).

3.3.3 Acido clorhídrico al 1 por 100 (v/v).

3.3.4 Disolución patrón de 1.000 mg. de Cd/l. Disolver 1.000 mg. de cadmio puro p.a. en el mínimo volumen necesario de ácido clorhídrico al 50 por 100 y diluir a 1 litro con ácido clorhídrico al 1 por 100.

3.4 Procedimiento.

3.4.1 Preparación de la muestra (como en el punto 1.4.1).

3.4.2 Construcción de la recta de calibración. Diluir alícuotas apropiadas de la disolución patrón (3.3.4) con la disolución 1.3.4 para obtener una recta de calibración de 0,2 a 1 mg de Cd/l.

3.4.3 Determinación. Operar según las especificaciones del aparato, usando llama de aire-acetileno. La longitud de onda 228,8 nm.

3.5 Cálculos.-Calcular el contenido en cadmio, expresado en mg/kg, mediante comparación con la correspondiente recta de calibración, y teniendo en cuenta el factor de dilución. El límite de cuantificación del método es de 0,05 ppm.

### 4. Mercurio

4.1 Principio.-Determinación de mercurio por absorción atómica con técnica de vapor frío previa digestión de la muestra.

4.2 Material y aparatos.

4.2.1 Balanza analítica.

4.2.2 Espectrofotómetro de absorción atómica.

4.2.3 Lámpara de mercurio de cátodo hueco o descarga sin electrodos.

4.2.4 Cámara de absorción con ventanas de cuarzo acopable al espectrofotómetro.

4.2.5 Equipo de reducción del ion mercurio a mercurio metálico y de arrastre hasta la cámara de absorción, incluyendo sistema de desecación.

4.2.6 Registrador gráfico de voltaje y velocidad de registro variable.

4.2.7 Material de vidrio corriente de laboratorio lavado con ácido nítrico (1:1) y enjuagado con agua destilada.

4.2.8 Bloque de digestión con temperatura programable.

4.2.9 Tubos de digestión de vidrio borosilicatado para el bloque anterior.

4.3 Reactivos.

4.3.1 Acido sulfúrico 95-97 por 100 (d=1,84) p.a.

4.3.2 Acido sulfúrico 1N.

4.3.3 Acido nítrico 70 por 100 (d=1,41) p.a.

4.3.4 Pentóxido de vanadio p.a.

4.3.5 Cloruro estannoso p.a. al 10 por 100 disuelto en ácido clorhídrico al 10 por 100 (prepararse en el momento de su utilización).

4.3.6 Disolución patrón de mercurio concentrada de 1.000 mg/l. Disolver 0,1354 g de cloruro mercúrico (Cl<sub>2</sub>Hg) p.a. en 75 ml de agua destilada.

Añadir 10 ml de ácido nítrico y ajustar el volumen a 100 ml con agua destilada.

---

4.3.7 Disolución patrón de mercurio de 0,1 mg/l. Se obtiene de la anterior por sucesivas diluciones con agua destilada. Debe prepararse, al igual que las disoluciones intermedias, diariamente.

#### 4.4 Procedimiento.

4.4.1 Preparación de la muestra: Colocar de 2 a 5 g de muestra en un tubo digestor. Añadir aproximadamente 40 mg de pentóxido de vanadio y 8 ml de ácido nítrico concentrado (el ácido debe cubrir por completo la muestra).

4.4.2 Digestión de la muestra: Colocar los tubos de digestión en el bloque calefactor previamente calentado a 140 oC (pueden utilizarse tubos de condensación acoplados a los de digestión). Mantener a esta temperatura durante cinco minutos. Retirar los tubos del bloque y dejar que se enfríe ligeramente. Añadir 15 ml de ácido sulfúrico concentrado. Colocar otra vez los tubos en el bloque calefactor y tenerlos quince minutos a 140 oC. Retirar los tubos del bloque, dejarlos enfriar y lavar las paredes del tubo con 10 ml de ácido sulfúrico IN. Colocar de nuevo los tubos en el bloque calefactor otros cinco minutos a 140 oC. Retirarlos, dejar enfriar. Transferir las disoluciones a matraces de 100 ml y enrasar con agua destilada.

4.4.3 Determinación: Se analiza la muestra por la técnica de vapor frío de absorción atómica, según las instrucciones propias de cada aparato, utilizando cloruro estannoso como agente reductor, siendo la longitud de onda de medida 253,7 nm.

4.4.4 Construcción de la recta de calibración: Se obtiene representando en abscisas los contenidos en mercurio de los patrones preparados con alícuotas de 0, 0,5, 1, 2 y 5 ml de solución patrón de 0,1 mg/l, de forma que contengan de 0 a 0,5 mg de mercurio, y en ordenadas la altura de los correspondientes máximos de absorción. Dichos patrones, al igual que el blanco, se habrán sometido al mismo procedimiento que las muestras.

4.5 Cálculos.-Calcular el contenido en mercurio, expresado en mg/kg, mediante comparación con la correspondiente recta de calibración, y teniendo en cuenta el factor de dilución. El límite de cuantificación del método es de 0,05 ppm.

4.6 Observaciones.-La lectura del contenido de mercurio se podrá realizar alternativamente utilizando el accesorio de generación de hidruros.

#### 4.7 Referencias.

4.7.1 Munns y Holland. JAOAC, 60, 833-837, 1977.

4.7.2 Marts y Blaha. JAOAC, 66 (6), 1983.

4.7.3 AOAC. Métodos Oficiales de Análisis. 1984.

### 5. Estaño

5.1 Principio.-Determinación de estaño por espectrofotometría de absorción atómica, previa digestión de la muestra.

#### 5.2 Material y aparatos.

5.2.1 Lámpara de estaño de cátodo hueco o lámpara de descarga sin electrodo.

5.2.2 Los utilizados para el plomo (1.2.1, 1.2.2 y 1.2.5).

#### 5.3 Reactivos.

5.3.1 Acido clorhídrico al 37 por 100 (d=1,19) p.a.

5.3.2 Disolución de clorhídrico 7N.

5.3.3. Disolución patrón de Sn: Disolver 1.000 mg de estaño metálico p.a. en 100 ml de clorhídrico concentrado y diluir en 1 litro con agua destilada.

#### 5.4 Procedimiento.

5.4.1 Preparación de la muestra: Pesar de 5 a 10 g de muestra directamente en un matraz Erlenmeyer. Añadir 25 ml de disolución de ácido clorhídrico 7N. Llevar a ebullición y mantener a fuego lento durante cinco minutos. Transferir la solución resultante, una vez enfriada a un matraz de 50 ml, enrasando con agua destilada, cualquier separación de aceite o grasa se excluye cuando se completa el volumen. Agitar bien y filtrar.

5.4.2 Construcción de la recta de calibración: Diluir alícuotas apropiadas de la disolución patrón 5.3.3 con el ácido clorhídrico necesario para que su concentración sea similar a la concentración final de la muestra para obtener una curva de concentraciones 20, 40 y 60 mg/l.

5.4.3 Determinación: Operar según las especificaciones del aparato usando llama de acetileno-óxido nítrico. Háganse cinco medidas y hacer la media. La longitud de onda es de 286,3 nm.

5.5. Cálculo.-Calcular el contenido en Sn expresado en mg/kg mediante comparación con la correspondiente recta de calibrado y teniendo en cuenta el factor de dilución. El límite de cuantificación del método es de 50 ppm.