

VISTO los expedientes EX- 2021-37515433-APN-DLEIAER#ANMAT, EX-2020-45094250-APN-DLEIAER#ANMAT, EX-2020-65058557-APN-DLEIAER#ANMAT y EX 2019-34419448-APN-DLEIAER#ANMAT de la ADMINISTRACIÓN NACIONAL DE MEDICAMENTOS ALIMENTOS Y TECNOLOGÍA MÉDICA; y

CONSIDERANDO:

Que las presentes actuaciones se inician a raíz de diversas solicitudes ante la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL) de revisar el Capítulo XX “Metodología Analítica Oficial” del Código Alimentario Argentino (C.A.A.).

Que durante la reunión N° 138, se le otorgó al grupo de trabajo (GT) *ad hoc* “Metodología Analítica Oficial”, el mandato de revisar los artículos 1413 y 1414 del Capítulo XX “Metodología Analítica Oficial” del Código Alimentario Argentino (C.A.A.).

Que en este sentido, el mencionado grupo presentó en la Reunión N° 139 de la CONAL, las modificaciones de redacción de los ut supra mencionados artículos.

Que por otra parte, las determinaciones analíticas llevadas a cabo en los laboratorios de alimentos brindan valiosa información a las Autoridades Sanitarias que aplican el Código Alimentario Argentino (C.A.A.) para la oportuna intervención en asuntos de su competencia.

Que la característica federal de nuestro Sistema Nacional de Control de Alimentos, implica que las Autoridades Sanitarias Jurisdiccionales, en conjunto con sus respectivos municipios, requieran de información proveniente de determinaciones analíticas de laboratorio de diversa complejidad para ejercer su poder de regulación, fiscalización y control en productos de su incumbencia.

Que la disponibilidad de equipamientos de laboratorio y recursos no es uniforme en todas las jurisdicciones de nuestro país, lo cual podría impactar en la obtención de información comparable.

Que a los fines de favorecer la generación de información reproducible y comparable en todo el territorio nacional, resulta oportuno establecer criterios de rendimiento, que permitan seleccionar metodologías analíticas con prescindencia de referir a equipamientos específicos.

Que el establecimiento de estos requisitos permitirá demostrar que los métodos analíticos que se utilizan son adecuados para el uso previsto y que cumplen con criterios de aceptación basados en normas internacionales.

Que a su turno, la Cámara Argentina de Especies y Afines – CAEMPA - presentó una propuesta de modificación al Código Alimentario Argentino (CAA) de los artículos 1211, 1215, 1226, 1231, 1233, 1234, 1237, 1242 del Capítulo XVI referidos a especias.

Que en ese sentido, la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL), acordó otorgar el mandato al grupo de trabajo *ad hoc* de la CONAL “Metodología Analítica Oficial”, coordinado por la Red Nacional de Laboratorios Oficiales (RENALOA), la revisión de las metodologías analíticas para las especias orégano, pimentón, canela, cedrón, pimienta blanca y negra, nuez moscada, tomillo.

Que el objetivo principal es establecer metodologías analíticas de referencias internacionales, y asimismo, el establecimiento de criterios de rendimiento que deban verificarse cuando sea necesario el desarrollo y validación de metodologías analíticas alternativas.

Que para ello, se analizaron los principios analíticos de las Metodologías ASTA, tanto de técnicas transversales como particulares, para la caracterización de las especias, como así también se realizó una búsqueda bibliográfica de normas equivalentes de organismos internacionales de estandarización, como ISO (International Organization for Standardization).

Que asimismo, en el ámbito de la Comisión Nacional de Alimentos (CONAL), se detectó la necesidad de avanzar en una propuesta que contemple parámetros de genuinidad relativo a las especias contempladas en el Código Alimentario Argentino (CAA).

Que por ello, la Comisión acordó otorgar el mandato al Grupo de Trabajo *ad hoc* “Metodología Analítica Oficial”, coordinado por la Red Nacional de Laboratorios Oficiales de Análisis de Alimentos (ReNALOA), a través del Laboratorio Nacional de Referencia (LNR) del Instituto Nacional de Alimentos (INAL), que avance con una propuesta.

Que en ese sentido, para la elaboración de la propuesta se tomaron en cuenta los procedimientos para determinar la genuinidad de las especias elaborados por el mencionado LNR.

Que resulta necesario incorporar los mencionados procedimientos en el Capítulo XX “Metodología Analítica Oficial” del CAA, con el objeto de contar con metodología analítica oficial que permita analizar la genuinidad de las especias.

Que por ello se acordó incorporar al mencionado Código la técnica de diafanización de Strittmatter que tiene como objetivo transparentar los tejidos sin disgregarlos.

Que además se acordó incorporar al CAA la metodología para identificación de especias en hojas enteras o fragmentadas y determinación de impurezas, cuyo objetivo es establecer un procedimiento para el análisis macro y microscópico de hojas enteras o fragmentadas de especias, para determinar la genuinidad del producto.

Que por último se acordó incorporar al CAA la metodología para la identificación de especias enteras o molidas y determinación de impurezas, cuyo objetivo es establecer un procedimiento para el análisis macro y microscópico de especias en polvo, en trozos o frutos enteros (no hojas), para determinar la genuinidad del producto.

Que, en consecuencia, resultó necesario la sustitución de los art. 1413, 1414 y 1414 tris y la incorporación al C.A.A. de los artículos 1413 bis y 1414 quater al Capítulo XX.

Que la CONAL ha intervenido expidiéndose favorablemente.

Que los Servicios Jurídicos Permanentes de los organismos involucrados han tomado la intervención de su competencia.

Que se actúa en virtud de las facultades conferidas por los Decretos N° 815 de fecha 26 de julio de 1999; N° 07 del 11 de diciembre de 2019 y N° 50 del 20 de diciembre de 2019; sus modificatorios y complementarios.

Por ello,

EL SECRETARIO DE CALIDAD EN SALUD Y

EL SECRETARIO DE ALIMENTOS, BIOECONOMÍA y DESARROLLO REGIONAL

RESUELVEN:

ARTÍCULO 1º.- Sustitúyese el artículo 1413 del Capítulo XX “Metodología Analítica Oficial” del Código Alimentario Argentino, el que quedará redactado de la siguiente manera: “Artículo 1413: A los efectos establecidos en el Artículo 6º de la Ley N° 18.284, la observancia de las normas del Código Alimentario Argentino, será verificada de acuerdo con la metodología analítica del presente código.”

ARTÍCULO 2º.- Incorporase el artículo 1413 bis al Capítulo XX “Metodología Analítica Oficial” del Código Alimentario Argentino, el que quedará redactado de la siguiente manera: “Artículo 1413 bis: En forma subsidiaria a la utilización de las metodologías analíticas referidas en los distintos artículos del presente código, se podrán aplicar métodos alternativos cuando el laboratorio demuestre las características de eficiencia que se presentan en la siguiente tabla.

Lo dispuesto en el párrafo anterior no será aplicable a las técnicas de identificación y/o recuento de microorganismos, las cuales deberán aplicarse de conformidad con lo establecido en sus respectivos criterios microbiológicos y/o prescripciones normativas específicas. También se excluyen las metodologías analíticas establecidas por las Resoluciones del Mercado Común del Sur (MERCOSUR).

Además de los criterios de rendimiento, será facultativa la participación en ensayos de aptitud o comparaciones interlaboratorio en relación a las metodologías alternativas aplicadas.

Parámetro	Criterio de Aceptación	
Aplicabilidad ⁽¹⁾	El método debe ser aplicable a los analitos específicos, el producto especificado y los niveles especificados (máximo, mínimo o ambos).	
Rango mínimo aplicable ⁽²⁾	Respecto de un límite especificado (LE): $\geq 0,1 \text{ mg/kg}$, $[\text{LE} - 3.\text{sR}, \text{LE} + 3.\text{sR}]$ $< 0,1 \text{ mg/kg}$, $[\text{LE} - 2.\text{sR}, \text{LE} + 2.\text{sR}]$ sR = desviación típica de la reproducibilidad (*)	
Límite de detección (LD) ⁽³⁾	Respecto de un $\text{LE} \geq 0,1 \text{ mg/kg}$, $\text{LD} \leq \text{LE}.1/10$ Respecto de un $\text{LE} < 0,1 \text{ mg/kg}$, $\text{LD} \leq \text{LE}.1/5$	
Límite de cuantificación (LC) ⁽⁴⁾	Respecto de un $\text{LE} \geq 0,1 \text{ mg/kg}$, $\text{LC} \leq \text{LE}.1/5$ Respecto de un $\text{LE} < 0,1 \text{ mg/kg}$, $\text{LC} \leq \text{LE}.2/5$	
Precisión ⁽⁵⁾	Respecto de un $\text{LE} \geq 0,1 \text{ mg/kg}$, valor de HorRat ≤ 2 Respecto de un $\text{LE} < 0,1 \text{ mg/kg}$, la RSDR $< 22\%$ RSDR= desviación típica relativa de la reproducibilidad (*)	
	Se deberá cumplir con los siguientes rangos de recuperación (R).	
	Concentración	R (%)
	100 g/100g	98 – 102

Veracidad ⁽⁶⁾	10 g/100g	98 – 102
	1 g/100g	97 – 103
	1 mg/g	95 – 105
	100 mg/kg	90 – 107
	10 mg/kg	80 – 110
	1 mg/kg	80 – 110
	100 µg/kg	80 – 110
	10 µg/kg	60 – 115
	1 µg/kg	40 – 120
Conformidad	En casos en los que se haya demostrado que la recuperación es una función de la matriz, para la evaluación de la conformidad, debería utilizarse preferiblemente material de referencia certificado.	

(*) La S_R y RSD_R deberían calcularse aplicando la ecuación Horwitz/Thompson. Cuando la ecuación de Horwitz/Thompson no sea aplicable (por motivos analíticos o de acuerdo con un reglamento) o cuando se “conviertan” métodos en criterios, entonces debería basarse en la S_R procedente de un estudio apropiado de funcionamiento del método.

(1) El método de análisis debe poder utilizarse satisfactoriamente para los analitos, matrices, categoría de producto o alimento especificada y concentraciones previstas. La aplicabilidad consiste en una declaración de la capacidad de uso, las especificaciones del método, del margen del funcionamiento satisfactorio para cada parámetro como así también de advertencias acerca de las interferencias conocidas de otros analitos, o de la inaplicabilidad a determinadas matrices y situaciones.

(2) El límite especificado (LE) refiere al límite máximo, límite mínimo, límite regulado o grado de concentración acorde con la normativa vigente, según lo que refiera.

El rango de concentración mínimo aplicable debe equivaler a un intervalo que contenga una fracción importante de la variación esperada. La variación esperada sería la desviación estándar de la reproducibilidad (S_R) multiplicada por un factor de cobertura ($k=2$ equivale a un nivel de confianza del 95% aproximadamente, mientras que un $k=3$ equivale a un 99% de confianza).

Para coeficientes de concentración $\geq 0,1$ mg/kg ($\geq 10^{-7}$) se aplica la ecuación de Horwitz:

$$CV_H (\%) = 100 \cdot S_R / c = 2 \cdot C_{LE}$$

Despejando la ecuación en función de S_R :

$$S_R = (c \cdot 2 \cdot C_{LE}^{-0,1505}) / 100$$

Donde,

CV_H = coeficiente de variación de Horwitz

S_R = desviación estándar prevista

c = concentración de interés (LE)

C_{LE} = coeficiente de concentración del LE, es decir, la concentración expresada en potencia de 10 (Por ejemplo, $10^{-7} = 0,0000001$)

Para coeficientes de concentración $< 0,1$ mg/kg ($< 10^{-7}$) se aplica la teoría de Thompson: $S_R = 0,22 \cdot LE$

A modo de ejemplo, a continuación, se muestra una serie de rangos de concentración mínimos aplicables para LE específicos:

LE (mg/kg)	0,01	0,02	0,05	0,1	1	10	100
Nivel mínimo	0,006	0,011	0,028	0,03	0,52	6,6	76

Nivel máximo	0,014	0,029	0,07 2	0,17	1,48	13,3	12 4
--------------	-------	-------	-----------	------	------	------	---------

(3) El límite de detección (LD) es la menor cantidad o concentración de analito que puede detectarse en una muestra, aunque no necesariamente cuantificarse, bajo las condiciones del experimento indicadas. El valor numérico del LD debe ser:

- no más de una décima parte del LE para niveles $\geq 0,1$ mg/kg
- no más de una quinta parte del LE para niveles $< 0,1$ mg/kg

(4) El límite de cuantificación (LC) es la menor cantidad o concentración de analito en una muestra que puede determinarse con precisión y exactitud aceptables bajo las condiciones del experimento establecidas. El valor numérico del LC debe ser:

- no más de una quinta parte del LE para niveles $\geq 0,1$ mg/kg
- no más de dos quintas partes del LE para niveles $< 0,1$ mg/kg

(5) La precisión se expresa como la desviación estándar relativa obtenida u observada (RSD_R) de la reproducibilidad de los resultados. Este valor se compara con la desviación estándar relativa prevista o teórica ($PRSD_R$) de la reproducibilidad.

El grado de precisión se computa como la desviación estándar de los resultados del método, es decir, evalúa la dispersión de los resultados que se obtienen al realizar medidas replicadas sobre una misma muestra (una mayor desviación estándar de los resultados indica una menor precisión del método).

Según Horwitz, el coeficiente entre el valor observado y el valor teórico debería ser ≤ 2 (conocido como el valor HorRat). Esta afirmación también es aplicable a la ecuación de Thompson de la $PRSD_R = 22\%$

$$\frac{RSD_R}{PRSD_R} \leq 2 \Leftrightarrow RSD_R \leq 2 \cdot PRSD_R$$

A modo de ejemplo, a continuación, se muestra la precisión requerida en distintas concentraciones de acuerdo a la ecuación de Horwitz-Thompson:

	Thompson	Ecuación de Horwitz ($2C^{-0,1505}$)							
Coeficiente de concentración (C)	$< 10^{-7}$	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}	10^{-1}	1
Unidad de concentración	$< 0,1$ mg/kg	0,1 mg/kg	1 mg/kg	10 mg/kg	0,1 g/kg	1 g/kg	10 g/kg	100 g/kg	100 g/kg
$PRSD_R$ (%)	22	22	16	11	8	6	4	3	2
$RSD_R \leq 2 \cdot PRSD_R$ (%)	≤ 44	≤ 44	≤ 32	≤ 22	≤ 16	≤ 12	≤ 8	≤ 6	≤ 4

$PRSD_R$ = Valor previsto para la desviación estándar relativa de la reproducibilidad de los datos RSD_R = Valor observado para la desviación estándar relativa de la reproducibilidad de los datos

(6) La veracidad es el grado de concordancia entre la expectativa relativa al resultado de un ensayo o de una medición y el valor verdadero. La diferencia entre el resultado de la medida y el valor real del mensurando se lo conoce como *sesgo*. Habitualmente, se calcula como el porcentaje de analito recuperado o por la diferencia entre el valor obtenido y el valor real evaluado estadísticamente (% de

recuperación). La recuperación permite ver el rendimiento de un método analítico en cuanto al proceso de extracción y la cantidad del analito existente en la muestra original.

Se calcula de la siguiente manera:

$$R (\%) = [(C_e - C_o) / C_a] \cdot 100$$

Donde,

C_e = es la concentración del analito medida en la muestra enriquecida o fortificada .

C_o = es la concentración de analito medida en la muestra sin fortificar .

C_a = es la concentración de analito adicionado.

NOTA: En los casos en que el límite especificado sea una relación masa/volumen, se podrán considerar los mismos criterios de aceptación de los parámetros a evaluar.”

Artículo 3°. – Sustitúyese el artículo 1414 del Capítulo XX “Metodología Analítica Oficial” del Código Alimentario Argentino, el que quedará redactado de la siguiente manera: “Artículo 1414: A los fines del desarrollo de metodologías analíticas, podrán utilizarse como referencia las siguientes normas internacionalmente reconocidas, sin perjuicio de aquellas otras que establezca la Autoridad Sanitaria Nacional:

AOAC: Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists. AOCS: Official Methods of the American Oil Chemists’ Society.

APHA: American Public Health Association

BAM – FDA: Bacteriological Analytical Manual – U. S. Food and Drug Administration CODEX STAN 234-1999: Recommended Methods of Analysis and Sampling – Codex Alimentarius.

COI: International Olive Council.

Farmacopeas internacionalmente reconocidas.

ICMSF: The International Commission on Microbiological Specifications for Foods. ISO: International Standard Organization.

USDA: United States Department of Agriculture.”

ARTICULO 4° - Sustitúyese el artículo 1414 tris del Código Alimentario Argentino que quedará redactado de la siguiente manera: “Artículo 1414 tris: Las metodologías transversales para las especias orégano, pimentón, canela, cedrón, pimienta blanca y negra, nuez moscada, tomillo son las siguientes:

Parámetro Físico Químico	Determinación⁽¹⁾
Humedad/Agua	ISO 939:1980 Especies y Condimentos – Determinación del contenido de humedad. Método por arrastre. Principio analítico: destilación. ASTA 2.0 y ASTA 2.1*
Cenizas Totales	ISO 928:1997 Especies y Condimentos – Determinación de cenizas totales. Principio analítico: gravimetría. ASTA 3.0
Cenizas Insolubles	ISO 930:1997 Especies y Condimentos – Determinación de cenizas insolubles en ácido. Principio analítico: gravimetría. ASTA 4.0
Aceite volátil/Esencia por destilación	ISO 6571:2008/Cor. 1:2017 Especies, Condimentos y Hierbas – Determinación del contenido de aceite volátil. Principio analítico: destilación. ASTA 5.0
Extracto etéreo	ISO 1108:1992 Especies y Condimentos – Determinación de extracto etéreo no-volátil. Principio analítico: destilación. ASTA 11.0

Materias extrañas	ISO 927:2009/Cor. 1:2012 Especies y Condimentos – Determinación de materia extraña (versión vigente 2015). Principio analítico: examinación visual.
Fibra cruda/Fibra bruta	ISO 5498:1981 Productos alimenticios agrícolas – Determinación del contenido de fibra cruda. Método general. Principio analítico: gravimetría. ASTA 7.0
Pungencia y oleorresinas*	ASTA 21.3-1998 Determinación del grado de pungencia del pimentón, en base a su contenido de capsaicina (g capsaicina/gramo de pimentón, base seca) Principio analítico: cromatografía.

Índice de color*	ASTA 20.1. Determinación de color extractable en pimentón y sus oleorresinas. Principio analítico: colorimetría.
-------------------------	---

⁽¹⁾ o su versión más actualizada.

* Para el caso de pimentón.”

ARTICULO 5° - Incorpórase el Artículo 1414 quater del Código Alimentario Argentino, el que quedará redactado de la siguiente manera: “Artículo 1414 quater: La evaluación de la genuinidad de las especias contempladas en el presente Código se realizará de conformidad con las metodologías analíticas que se detallan a continuación:

A. TÉCNICA DE DIAFANIZACIÓN DE STRITTMATTER

Versión: 1 – Fecha de revisión: septiembre 2020.

1. Objetivo y alcance.

Establecer el procedimiento para transparentar los tejidos sin disgregarlos.

2. Referencias

2.1. "Nueva técnica de diafanización". Dizeo de Strittmatter, C. (1973) Bol.

Soc. Arg. Bot. 15(1):126-129.

3. Desarrollo.

3.1. Equipos y materiales

3.1.1. Mechero o plancha calefactora.

3.1.2. Vaso de precipitados.

3.1.3. Taco de sauco o de telgopor.

3.1.4. Aguja histológica o de disección.

3.1.5. Pinza de punta fina.

3.1.6. Hoja de bisturí u hoja para afeitar.

3.1.7. Espátulas.

3.1.8. Alcohol 96°.

3.1.9. Hidróxido de sodio 5% m/v

3.1.10. Hipoclorito de sodio 50% v/v.

3.1.11. Agua corriente.

3.1.12. Agua destilada.

3.1.13. Hidrato de cloral 5% m/v.

3.1.14. Alcohol 70°.

3.2. Procedimiento.

3.2.1. Colocar el material a diafanizar en un vaso de precipitados con alcohol 96° y llevar a ebullición durante 10 minutos.

3.2.2. Pasar a una solución de alcohol 96° e hidróxido de sodio al 5% en partes iguales. Hervir durante 5 a 10 minutos, según la consistencia del material.

3.2.3. Lavar con agua corriente, haciendo cambios hasta que el agua quede totalmente limpia. Hacer dos cambios más con agua destilada.

3.2.4. Colocar el material en hipoclorito de sodio al 50% hasta que se torne completamente transparente. El tiempo necesario será desde unos pocos minutos hasta una hora. Observar continuamente.

3.2.5. Lavar 5 veces con agua destilada durante 3 minutos cada vez.

3.2.6. Colocar finalmente el material en tratamiento en hidrato de cloral durante 5-10 minutos para quitarle opacidad.

3.2.7. Para conservar el material mantenerlo en alcohol 70°.

B. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIAS EN HOJAS ENTERAS O FRAGMENTADAS Y DETERMINACIÓN DE IMPUREZAS

Versión: 1 – Fecha de revisión: septiembre 2020.

1. Objetivo y alcance.

Establecer un procedimiento para el análisis macro y microscópico de hojas enteras o fragmentadas de especias, para determinar la genuinidad del producto.

2. Referencias.

2.1. “Documento de Mínimos de Calidad”. (2011). Asociación Europea para las Especies.

2.2. Microscopía analítica. Wallis, T.E. (1968). Zaragoza: Ed. Acribia. 318pp.

2.3. Anatomía Vegetal. Esau, K. (1976). Barcelona: Ed. Omega, S.A. 779pp.

2.4. Morfología de las plantas superiores. Valla, J.J. (1979). Buenos Aires: Ed. Hemisferio Sur S.A. 332pp.

2.5. Spices, Volumen II. Parry, J. W. (1969). Nueva York: Chemical Publishing Company, Inc.

2.6. The Microscopy of Vegetable Foods. Winton, A. L., Moeller J. & Barber Winton K. (1916). Nueva York: John Wiley & Sons.

- 2.7. Mikroskopie der Nahrungs- und Genußmittel aus dem Pflanzenreiche. Moeller, J. & Dr. Griebel, C. (1928). Berlín: Verlag von Julius Springer.
- 2.8. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d'Analyse. Atlas Microphotographique d'Anatomie Végétale. Tome I: Céréales, Légumineuses, Féculents. Stoll, S. (1966). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.
- 2.9. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d'Analyse. Atlas Microphotographique d'Anatomie Végétale. Tome II: Épices-Aromates, Fruits, Stimulants. Stoll, S. (1967). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.
- 2.10. ISO 927.2009 Spices and condiments – Determination of extraneous matter and foreign matter content. Versión vigente.
- 2.11. IRAM 18983 Especies y hierbas culinarias – Determinación del contenido de las impurezas por observación directa. Versión vigente.
3. Desarrollo.
 - 3.1. Definiciones.
 - 3.1.1. Materia ajena macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que no es parte de la planta a la que pertenece la especia o hierba. Esta puede ser no animal (por ejemplo, tallos, piedras, vidrios, plásticos, metal, etc.) o animal (por ejemplo, insectos enteros, fragmentos de insectos, excrementos, etc.).
 - 3.1.2. Materia extraña macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que es otra parte de la planta diferente de la parte empleada (por ejemplo, tallos, flores).
 - 3.2. Equipos y materiales.
 - 3.2.1. Microscopio óptico.
 - 3.2.2. Microscopio estereoscópico o lupa.
 - 3.2.3. Mechero o plancha calefactora.
 - 3.2.4. Vasos de precipitado.
 - 3.2.5. Placas de Petri.
 - 3.2.6. Espátulas.
 - 3.2.7. Agujas histológicas o de disección.
 - 3.2.8. Pinzas de punta fina.
 - 3.2.9. Balanza analítica de precisión.
 - 3.2.10. Balanza granataria.
 - 3.2.11. Portaobjetos.
 - 3.2.12. Cubreobjetos.

3.2.13. Taco de sauco o telgopor.

3.2.14. Hojas de bisturí u hoja para afeitar.

3.2.15. Agua corriente.

3.2.16. Hidróxido de sodio al 5 % m/v.

3.2.17. Lugol (IK 1 g: iodo metálico: 1 g: agua destilada: 100 ml).

3.3. Procedimiento.

3.3.1. Homogeneizar la muestra previamente a la toma de la porción de ensayo. El tamaño mínimo de la porción de ensayo considerado para hojas de hierbas es de 5 g.

3.3.2. Colocar la porción de ensayo en una placa de Petri y examinar a ojo desnudo o en la lupa con aumento de 10X como máximo, el estado general del producto separando toda la materia extraña o ajena, o ambas.

3.3.3. Pesar la materia extraña y ajena no animal separadas en el punto 3.3.2.

3.3.4. Calcular la fracción en masa de la materia extraña, W_{ME} , y la fracción en masa de la materia ajena no animal, W_{MA} , expresadas en porcentaje, mediante las siguientes fórmulas:

$$W_{ME} = \frac{m_{ME}}{M_s} \cdot 100$$

$$W_{MA} = \frac{m_{MA}}{m_s} \cdot 100$$

siendo:

m_{ME} : masa de la materia extraña, en gramos.

m_{MA} : masa de la materia ajena no animal, en gramos.

m_s : masa de la muestra de laboratorio o de la porción de ensayo según corresponda, en gramos.

3.3.5. Para observar los elementos histológicos disgregados, a partir de la muestra original, colocar una pequeña cantidad en un vaso de precipitado de 50 ml con hidróxido de sodio al 5% y llevar a ebullición. El tiempo de hidrólisis dependerá de la consistencia de la muestra.

3.3.6. Retirar de la plancha calefactora y agregar agua corriente fría al material hidrolizado para detener la hidrólisis.

3.3.7. Dejar decantar, descartar el sobrenadante y volver a enjuagar con agua corriente fría, descartando cada vez el sobrenadante.

3.3.8. Encender el microscopio.

- 3.3.9. Montar entre portaobjeto y cubreobjeto una pequeña cantidad de material hidrolizado.
- 3.3.10. Observar el material hidrolizado en microscopio óptico a 100X – 400X, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).
- 3.3.11. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.
- 3.3.12. Para observar cortes transversales de hojas, colocarlas en un taco directamente si son frescas o darles un hervor previo en el caso de material seco entre 2-4 minutos, dependiendo de la consistencia de la hoja.
- 3.3.13. Realizar los cortes a mano alzada.
- 3.3.14. Colocar el material con ayuda de una pinza sobre un portaobjetos, montar con agua y observar al microscopio, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).
- 3.3.15. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.
- 3.3.16. Si resultara necesario transparentar aún más los tejidos o identificar su disposición estructural sin disgregarlos, utilizar la Técnica de Diafanización de Strittmatter.

C. IDENTIFICACIÓN DE ESPECIAS ENTERAS O MOLIDAS Y DETERMINACIÓN DE IMPUREZAS

Versión: 1 – Fecha de revisión: septiembre 2020.

1. Objetivo y alcance.

Establecer un procedimiento para el análisis macro y microscópico de especias en polvo, en trozos o frutos enteros (no hojas), para determinar la genuinidad del producto.

2. Referencias

- 2.1. “Documento de Mínimos de Calidad”. (2011). Asociación Europea para las Especies.
- 2.2. Microscopía analítica. Wallis, T.E. (1968). Zaragoza: Ed. Acribia. 318pp.
- 2.3. Anatomía Vegetal. Esau, K. (1976). Barcelona: Ed. Omega, S.A. 779pp.
- 2.4. Morfología de las plantas superiores. Valla, J.J. (1979). Buenos Aires: Ed. Hemisferio Sur S.A. 332pp.
- 2.5. Spices, Volume II. Parry, J. W. (1969). Nueva York: Chemical Publishing Company, Inc.
- 2.6. The Microscopy of Vegetable Foods. Winton, A. L., Moeller J. & Barber Winton K. (1916). Nueva York: John Wiley & Sons.
- 2.7. Mikroskopie der Nahrungs- und Genußmittel aus dem Pflanzenreiche. Moeller, J. & Dr. Griebel, C. (1928). Berlín: Verlag von Julius Springer.

- 2.8. "Adulterants in Spices: Microscopic Examination Method Procedure". AOAC Official Method 916.01. (2005).
- 2.9. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d'Analyse. Atlas Microphotographique d'Anatomie Végétale. Tome I: Céréales, Légumineuses, Féculents. Stoll, S. (1966). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.
- 2.10. Annexes microphotographiques aux Méthodes Officielles d'Analyse. Atlas Microphotographique d'Anatomie Végétale. Tome II: Épices-Aromates, Fruits, Stimulants. Stoll, S. (1967). París: Service de la Répression des Fraudes et du Contrôle de la Qualité.
- 2.11. ISO 927.2009 Spices and condiments – Determination of extraneous matter and foreign matter content.
- 2.12. IRAM 18983 Especies y hierbas culinarias – Determinación del contenido de las impurezas por observación directa. Versión vigente.

3. Desarrollo.

3.1. Definiciones.

- 3.1.1. Materia ajena macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que no es parte de la planta a la que pertenece la especia o hierba. Esta puede ser no animal (por ejemplo, tallos, piedras, vidrios, plásticos, metal, etc.) o animal (por ejemplo, insectos enteros, fragmentos de insectos, excrementos, etc.).
- 3.1.2. Materia extraña macroscópica: Toda materia visible al ojo desnudo o con un aumento de 10X como máximo, que es otra parte de la planta diferente de la parte empleada (por ejemplo, tallos, flores).

3.2. Equipos y materiales

- 3.2.1. Microscopio óptico.
- 3.2.2. Microscopio estereoscópico o lupa.
- 3.2.3. Mechero o plancha calefactora.
- 3.2.4. Vasos de precipitado.
- 3.2.5. Placas de Petri.
- 3.2.6. Espátulas.
- 3.2.7. Agujas histológicas o de disección.
- 3.2.8. Pinzas de punta fina.
- 3.2.9. Balanza analítica de precisión.
- 3.2.10. Balanza granataria.
- 3.2.11. Portaobjetos.
- 3.2.12. Cubreobjetos.

3.2.13. Taco de sauco o telgopor.

3.2.14. Hojas de bisturí u hoja para afeitar.

3.2.15. Agua corriente.

3.2.16. Hidróxido de sodio al 5 % m/v.

3.2.17. Lugol (IK 1 g: iodo metálico: 1 g: agua destilada: 100 ml).

3.3. Preparación de la muestra.

3.3.1. Productos en polvo: Homogeneizar. Conservar en un recipiente cerrado.

3.3.2. Productos en trozos/fruto entero: Raspar, moler, rallar o picar.

3.4. Procedimiento.

3.4.1. Tomar la porción de ensayo según indica la tabla 1 y colocarla en placa de Petri para examinar, a ojo desnudo o en la lupa con aumento de 10X como máximo, el estado general del producto separando toda la materia extraña o ajena, o ambas.

3.4.2. Pesar la materia extraña y ajena no animal separadas en el punto 3.4.1.

3.4.3. Calcular la fracción en masa de la materia extraña, WME, y la fracción en masa de la materia ajena no animal, WMA, expresadas en porcentaje, mediante las siguientes fórmulas:

$$w_{ME} = \frac{m_{ME}}{m_s} \cdot 100$$

$$w_{MA} = \frac{m_{MA}}{m_s} \cdot 100$$

siendo:

m_{ME} : masa de la materia extraña, en gramos.

m_{MA} : masa de la materia ajena no animal, en gramos.

m_s : masa de la muestra de laboratorio o de la porción de ensayo según corresponda, en gramos.

TABLA 1 – Tamaño de la muestra de laboratorio y de la porción de ensayo.

Densidad del producto	Producto	Tamaño de la muestra de laboratorio (g)	Tamaño apropiado de la porción de ensayo (g)	Tamaño mínimo de la porción de ensayo (g)
-----------------------	----------	---	--	---

Alta	Pimienta de Jamaica	500	100	100
	Anís (semillas)		100	10
	Alcaravea (semillas)		100	10
	Cardamomo (semillas)		100	100
	Casia / canela		100	50
	Apio (semillas)		100	10
	Clavos		100	10

	Coriandro (semillas)		100	10
	Comino (semillas)		100	10
	Eneldo (semillas)		100	10
	Hinojo (semillas)		100	10
	Ajo		100	10
	Jengibre		100	100
	Enebro (bayas)		100	100
	Nuez moscada (entera y quebrada)	100 nueces enteras o 500 g de nueces quebradas	100 nueces enteras o 500 g de nueces quebradas	50 nueces enteras o 250 g de nueces quebradas

	Cebolla	500	100	10
	Pimienta (negra y blanca)		100	100
	Amapola (semillas)		100	10
	Sésamo (semillas)		100	10
	Cúrcuma		100	100
Baja	Pimientos	250	100	100

	Macis		25	25
	Hojas de hierbas		25	5
Otra	Azafrán	3	3	0,5

3.4.4. Hidratar el material preparado según ítem 3.3.

3.4.5. Montar con agua entre portaobjeto y cubreobjeto una pequeña cantidad de material hidratado y observar al microscopio a 100X – 400X, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).

3.4.6. De ser necesario, para diferenciar y/o identificar los amiloplastos teñir con lugol, colocando una gota en uno de los bordes entre portaobjeto y cubreobjeto.

3.4.7. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.

3.4.8. Para observar los elementos histológicos disgregados, a partir de la muestra original, colocar una pequeña cantidad en un vaso de precipitado de 50 ml con hidróxido de sodio al 5% y llevar a ebullición. El tiempo de hidrólisis dependerá de la consistencia de la muestra.

3.4.9. Retirar de la plancha calefactora y agregar agua corriente fría al material hidrolizado para detener la hidrólisis.

- 3.4.10. Dejar decantar, descartar el sobrenadante y volver a enjuagar con agua corriente fría, descartando cada vez el sobrenadante.
- 3.4.11. Encender el microscopio.
- 3.4.12. Montar entre portaobjeto y cubreobjeto una pequeña cantidad de material hidrolizado.
- 3.4.13. Observar el material hidrolizado en microscopio óptico a 100X – 400X, contrastando con material de referencia (especies testigo) y/o bibliografía (ver ítem 2.0. Referencias).
- 3.4.14. Preparar y observar tantos preparados como sean necesarios para asegurarse la conclusión de lo que se observa.”

Artículo 6º. — La presente resolución entrará en vigencia a partir del día siguiente al de su publicación en el Boletín Oficial.

Artículo 7º. — Regístrese, comuníquese a quienes corresponda. Dése a la Dirección Nacional del Registro Oficial para su publicación. Cumplido, archívese.