

Placas de Petri de diámetro superior al del filtro de membrana.  
Estufa de cultivo regulada a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$ .  
Material de uso corriente en el laboratorio.

## 6.3.3 Medios de cultivo:

6.3.3.1 Medio agar cetrimida.  
Como en 6.2.3.2.

6.3.3.2 Medio de cultivo: m P A-C de Brodsky y Ciebin.

L-lisina .....	5 g
Cloruro sódico .....	5 g
Extracto de levadura .....	2 g
Tiosulfato sódico ( $\text{S}_2\text{O}_3\text{Na}_2\cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) .....	5 g
Xilosa .....	1,2 g
Sacarosa .....	1,2 g
Lactosa .....	1,2 g
Rojo de fenol .....	0,08 g
Sulfato magnésico ( $\text{SO}_4\text{Mg}\cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) .....	1,5 g
Citrato férrico amónico .....	0,8 g
Agar .....	15 g
Agua destilada .....	1.000 ml

Disolver los productos por calentamiento hasta ebullición, ajustar el pH a 7,4 y esterilizar en autoclave a  $121^\circ\text{C}$  durante 10 minutos o por ebullición.

Enfriar el medio a  $55^\circ\text{C}$  e incorporarle Kanamicina, 8 mg; ácido nalidixico, 37 mg. Distribuir en placas de Petri.

Los antibióticos en solución pueden conservarse congelados hasta su empleo. El medio estéril, distribuido en las placas, se puede conservar en frigorífico a  $6-8^\circ\text{C}$  de cuatro a ocho semanas, si se evita su desecación.

6.3.3.3 Medio sólido King A.  
Como en 6.2.3.4.

6.3.3.4 Agua de triptona.  
Como en 6.2.3.5.

## 6.3.4 Reactivo.

6.3.4.1 Reactivo de citocromo-oxidasa (Kovacs).  
Como en 6.2.4.1.

## 6.3.5 Procedimiento.

Los elementos del sistema de filtración que vayan a entrar en contacto con el agua a analizar deben estar estériles. Colocar un filtro de membrana estéril sobre el soporte de filtración, utilizando pinzas estériles.

Adaptar el embudo.

Filtrar 100 ml de la muestra de agua previamente homogeneizada, efectuando el vacío necesario.

Lavar con unos 30 ml de agua de dilución estéril.

Retirar el embudo.

Mediante las pinzas esterilizadas transferir la membrana filtrante sobre el medio de cultivo agar cetrimida o M PA-C contenido en una placa de Petri de modo que la superficie de filtración quede hacia arriba.

Cerrar e invertir la placa e incubar a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $24 \pm 2$  horas.

## 6.3.6 Lectura.

La lectura de los resultados requiere el examen de las colonias aparecidas sobre la membrana.

En el medio agar-cetrimida las colonias son de 1-2 mm, redondas, superficie lisa, brillante, color blanco cremoso y aspecto mucoso. Por incubación prolongada las colonias toman una coloración oscura con bordes claros. Debido a la difusión de pigmento, el medio o la membrana, adquieren un tono verdoso.

Las colonias aparecidas sobre la membrana utilizando como soporte el medio mPA-C son de 0,8 - 2,2 mm de diámetro, planas con bordes transparentes y los centros parduzco a verde oscuro. Es característico el viraje a púrpura del medio en contacto con la colonia.

6.3.6.1 Morfología y tinción.  
Como en 6.2.5.2.1.

6.3.6.2 Reacción de la oxidasa.  
Como en 6.2.5.1.1.

## 6.3.6.3 Movilidad.

Sembrar parte de la colonia a estudiar, en un tubo que contenga agua de triptona e incubar a  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  durante  $24 \pm 2$  horas.

Comprobar la movilidad mediante observación al microscopio utilizando la técnica de la gota pendiente.

## 6.3.6.4 Comprobación de pigmentos.

Sembrar en estrías sobre el medio King A.

Incubar a  $42 \pm 1^\circ\text{C}$  durante 48-72 horas.

En este medio se exalta la síntesis de la piocianina.

## 6.3.7 Interpretación.

## 6.3.7.1 Morfología y tinción.

Se deben observar unos bacilos Gram negativos finos de unos  $0,3 \times 3$  micrómetros, sin cápsulas ni esporos.

## 6.3.7.2 Reacción de la oxidasa.

*Pseudomonas aeruginosa* es citocromo-oxidasa positiva.

## 6.3.7.3 Movilidad.

*Pseudomonas aeruginosa* es un bacilo móvil.

## 6.3.7.4 Comprobación de pigmentos.

Como en 6.2.6.1.2.

## 11624 ORDEN de 8 de mayo de 1987 por la que se aprueban los métodos oficiales de análisis de anís.

Entre las previsiones de la Ley 25/1970, de 2 de diciembre, que aprobó el Estatuto de la Viña, del Vino y de los Alcoholes, establecía en su artículo 34,2, que los aguardientes compuestos y los licores y, entre ellos el anís, serían objeto de Reglamentaciones especiales.

Como consecuencia de la anterior previsión fue publicado el Real Decreto 644/1982, de 5 de marzo («Boletín Oficial del Estado» de 2 de abril), que aprobaba la Reglamentación especial para la elaboración, circulación y comercio de anís, procediendo ahora regular sus correspondientes métodos analíticos.

En la redacción de métodos oficiales de análisis se ha procurado, en la medida de lo posible y siguiendo las directrices establecidas en el artículo 9.º del Real Decreto 1908/1984, de 26 de septiembre («Boletín Oficial del Estado» de 29 de octubre), por el que se modifican algunos de los artículos y epígrafes de determinadas Reglamentaciones para la elaboración, circulación y comercio de bebidas derivadas de alcoholes naturales, su adaptación a los métodos aprobados por los Organismos internacionales especializados en la materia, con el fin de aprovechar las experiencias obtenidas de su aplicación.

En su virtud, a propuesta de los Ministerios de Economía y Hacienda, de Industria y Energía, de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Sanidad y Consumo, oídos los representantes de los sectores afectados, y previo informe preceptivo de la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria,

Este Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría de Gobierno dispone:

Primero.-Se aprueban como oficiales los métodos de análisis para el anís que se citan en el anexo 1.

Segundo.-Las determinaciones analíticas se realizarán de acuerdo con los métodos oficiales vigentes. Cuando no existan métodos oficiales para determinados análisis y hasta tanto los mismos no sean propuestos por el Organismo competente y previamente informados por la Comisión Interministerial para la Ordenación Alimentaria, podrán ser utilizados los aprobados por los Organismos nacionales e internacionales de reconocida solvencia.

### DISPOSICION DEROGATORIA

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

### DISPOSICION FINAL

La presente Orden entrará en vigor a los seis meses de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado», salvo los métodos

número 6, anetol, y número 9, aceites esenciales, que entrarán en vigor a los dieciocho meses de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Madrid, 8 de mayo de 1987.

#### ZAPATERO GOMEZ

Excmos. Sres. Ministros de Sanidad y Consumo, de Economía y Hacienda, de Industria y Energía y de Agricultura, Pesca y Alimentación.

#### ANEXO

1. *Obtención del destilado.*
2. *Peso específico del aceite esencial natural (en materia prima).*
3. *Punto de fusión del aceite esencial natural (en materia prima).*
4. *Grado alcohólico.*
5. *Azúcares totales.*
6. *Anetol.*
7. *Metanol.*
8. *Bases nitrogenadas.*
9. *Aceites esenciales.*
10. *Furfural.*
11. *Arsénico.*
12. *Plomo.*
13. *Cinc.*
14. *Cobre.*

#### 1. OBTENCIÓN DEL DESTILADO

##### 1.1 Principio

Destilación de la muestra en condiciones determinadas.

##### 1.2 Material y aparatos

- 1.2.1 Matraz de 500 a 1.000 mililitros de capacidad, de fondo redondo y boca esmerilada.
- 1.2.2 Alargadera tipo Kjeldahl o similar.
- 1.2.3 Refrigerante tipo Dimroth, 20-30 centímetros de longitud o similar.
- 1.2.4 Matraces aforados de 100 y 200 mililitros de capacidad.
- 1.2.5 Manta eléctrica o mechero de gas.

##### 1.3 Reactivos

- 1.3.1 Agua destilada.

##### 1.4 Procedimiento

- 1.4.1 Muestras con menos de 60 por 100 de etanol. Medir 200 mililitros de muestra en un matraz aforado que antes de enrasar se mantiene en baño de agua a 20 grados centígrados durante media hora. Enrasar con pipeta, limpiando el interior del cuello del matraz con papel de filtro de posibles gotas adheridas. Debe evitarse que queden burbujas de aire adheridas a las paredes del matraz. Pasar cuantitativamente el volumen medido al matraz de destilación, lavando tres veces consecutivas el matraz aforado de 200 mililitros con 20 mililitros de agua destilada cada vez, añadiendo las aguas de lavado al matraz de destilación. Cuando se trate de bebidas siruposas, por su gran contenido en azúcar, el lavado debe hacerse consecutivamente con tres porciones de 50 mililitros de agua destilada.

Proceder a la destilación.

Es conveniente añadir bolitas de vidrio para facilitar la ebullición suave. En algunos casos, si se teme la formación de espuma, añadir un antiespumante inerte (como silicona).

El matraz de recogida del destilado es el mismo en que se efectuó la medida. Se le añaden 10 mililitros de agua destilada y se dispone ligeramente inclinado, de forma que el destilado resbale sin salpicaduras por la pared del matraz, que debe estar dentro de un baño de hielo o agua a menos de 1 grado centígrado.

El refrigerante debe ir dotado de una alargadera que penetre por lo menos 4-5 centímetros en el cuello del matraz.

Cuando se hayan recogido aproximadamente 190 mililitros llevar el matraz tapado al baño de agua a 20 grados centígrados.

Cuando se alcance dicha temperatura, dentro del mismo baño, enrasar con agua destilada mediante pipeta.

Tapar el matraz e invertirlo varias veces para homogeneizar su contenido antes de proceder a la determinación del etanol.

- 1.4.2 Muestras con más de 60 por 100 de etanol.

El procedimiento anteriormente descrito difiere únicamente en que la muestra se mide en matraz aforado de 100 mililitros, que se lava varias veces con agua hasta alcanzar un volumen aproximadamente de 230 mililitros. El destilado se recoge en matraz aforado de 200 mililitros y se enrasa con agua destilada dentro del baño de agua a 20 grados centígrados.

##### 1.5 Observaciones

- 1.5.1 El sistema de destilación debe comprobarse en ambos casos como sigue: Destilar 200 mililitros de una mezcla hidroalcohólica al 10 por 100 en volumen cinco veces sucesivas. Determinar en la última destilación el título alcohométrico del destilado que no debe ser menor de 9,9 por 100 en volumen de etanol.
- 1.5.2 La destilación debe efectuarse procurando que el flujo del destilado sea uniforme.
- 1.5.3 El tiempo de recogida del destilado estará comprendido entre 45 y 90 minutos.
- 1.5.4 El destilado podrá tener aspecto lechoso como consecuencia de la emulsión de los aceites esenciales.

##### 1.6 Referencias

1. Métodos oficiales de análisis del ron, ginebra y whisky.

#### 2. PESO ESPECÍFICO DEL ACEITE ESENCIAL NATURAL (EN MATERIA PRIMA)

##### 2.1 Principio

Se basa en la determinación de la densidad relativa del aceite esencial respecto al agua a la misma temperatura.

Se determinará esta densidad relativa a 25 grados centígrados para evitar la posible solidificación de la muestra.

##### 2.2 Material y aparatos

- 2.2.1 Baño de agua termostatzado a  $25 \pm 0,1$  grados centígrados.
- 2.2.2 Picnómetro de 50 mililitros, según figura adjunta (fig. 2.1).
- 2.2.3 Termómetro de 10 grados centígrados - 30 grados centígrados, graduado en décimas de grado.
- 2.2.4 Tubo capilar.
- 2.2.5 Balanza analítica.

##### 2.3 Procedimiento

- 2.3.1 Llenar completamente el picnómetro con agua recientemente destilada, tapar y colocar en 2.2.1, de forma que el nivel del agua del baño esté ligeramente por encima del nivel de enrase del picnómetro.
- 2.3.2 Después de treinta minutos quitar el tapón y con 2.2.4 ajustar el nivel del agua hasta que la parte inferior del menisco sea tangente a la señal de enrase del picnómetro.
- 2.3.3 Sacar el picnómetro del baño. Con un pequeño rollo de papel de filtro secar el interior del cuello del picnómetro y el tapón. Introducirlo en baño a temperatura ambiente durante quince minutos para acelerar la atemperación del líquido. Pasado este tiempo sacar el picnómetro del baño, secarlo cuidadosamente, dejarlo otros quince minutos a temperatura ambiente y pesar.
- 2.3.4 Vaciar el picnómetro, enjuagar con acetona y secar completamente con corriente de aire. Dejar quince minutos a temperatura ambiente, tapar y pesar.  
Según lo descrito:

Pa = Peso aparente del agua = Peso del picnómetro lleno - Peso del picnómetro vacío.

- 2.3.5 Del mismo modo que con el agua, se procede con el líquido problema, siendo:

Pw = Peso del picnómetro lleno con el líquido problema - Peso del picnómetro vacío.

##### 2.4 Cálculos

$$\text{Peso específico: } P = \frac{25 \text{ Pa}}{25 \text{ Pw}}$$

### 2.5 Observaciones

Para evitar la solidificación de la muestra, es conveniente que la temperatura de la habitación esté próxima a los 25 grados centígrados.

### 2.6 Referencias

1. Official Methods of Analysis of the AOAC, 13.<sup>a</sup> edición, 1984: 9.020-9.022.

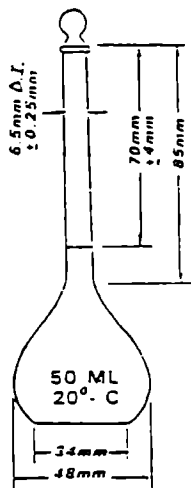


FIGURA 2.1

### 3. PUNTO DE FUSIÓN DEL ACEITE ESENCIAL NATURAL (EN MATERIA PRIMA)

#### 3.1 Principio

Observación, con un sistema adecuado, de la temperatura a la que se produce la fusión del aceite esencial, previamente congelado. Como el aceite esencial no es un compuesto puro, no tendrá punto de fusión fijo, sino que fundirá en un rango determinado desde que se observan los primeros síntomas en los cristales hasta que la muestra se vuelve completamente líquida.

#### 3.2 Material y aparatos

- 3.2.1 Agitador.
- 3.2.2 Termómetro de 10 grados centígrados - 30 grados centígrados, graduado en décimas de grado.
- 3.2.3 Tubos capilares de vidrio.
- 3.2.4 Lupa o lente de aumento.
- 3.2.5 Vaso de precipitado de 1.000 mililitros, forma baja.

#### 3.3 Procedimiento

Se dispone un sencillo sistema de medida consistente en un agitador magnético con placa de calefacción variable, un vaso de precipitado de 600 mililitros, un termómetro y una lupa.

Preparar un tubo capilar cerrado en su extremo, donde se hace llegar una gota del aceite esencial con la ayuda de otro tubo capilar más fino.

Introducir la punta del tubo capilar en un baño de hielo, durante dos horas, para que se congele.

Llenar el vaso aproximadamente a la mitad con agua destilada e introducir la punta del capilar y el termómetro de forma que queden al menos 30 milímetros por debajo de la superficie.

Empezando 8-10 grados centígrados por debajo del punto de fusión de la muestra, calentar suavemente para incrementar la temperatura del baño 0,5 grados centígrados/minuto, aproximadamente, agitando simultáneamente el agua del baño con ayuda del agitador.

Anotar la temperatura a la que se produce la fusión completa de la muestra, que se observará con la ayuda de una lupa o lente de aumento.

#### 3.4 Resultado

El punto de fusión del aceite esencial será la media aritmética de tres determinaciones sucesivas que deberán coincidir en un rango de 0,5 grados centígrados.

### 3.5 Referencias

1. Official Methods of Analysis of the AOAC, 14.<sup>a</sup> edición, 1984: 28.014.

### 4. GRADO ALCOHÓLICO

#### 4.1 Principio

Destilación del producto y posterior medida de la densidad del destilado por areometría.

#### 4.2 Material y aparatos

- 4.2.1 Aparato de destilación como en el método oficial número 1.
- 4.2.2 Alcohómetro graduado en décimas de grado de  $d_{20}^{20}$  debidamente contrastado.
- 4.2.3 Termómetro graduado en décimas de grado centígrado.
- 4.2.4 Probeta transparente de 36 milímetros de diámetro interior y 320 milímetros de altura.
- 4.2.5 Baño termostático a 20 grados centígrados.

#### 4.3 Procedimiento

- 4.3.1 Obtención del destilado: Según método oficial número 1.
- 4.3.2 Determinación aerométrica:

Limpiar y secar el alcohómetro antes de su empleo. Verter el destilado debidamente homogeneizado en la probeta.

Introducir el alcohómetro y el termómetro en el líquido. Esperar veinte minutos para que el termómetro, el alcohómetro y el destilado adquieran la temperatura del baño termostático.

Alcanzada esta temperatura, sacar el termómetro, secar el vástago del alcohómetro y dejarlo introducir en el destilado con un ligero movimiento de rotación.

Anotar el grado alcohólico leído.

Repetir estas operaciones varias veces. Las lecturas obtenidas son válidas si tienen aproximación de 0,1 grados alcohólicos. Si no fuera así, realizar lecturas adicionales y calcular la media.

#### 4.4 Cálculos

El grado alcohólico es la lectura obtenida en 4.3.2, expresada en grados y décimas de grado de alcohol.

Si en la obtención del destilado 100 mililitros de muestra se destilaron a 200 mililitros, la lectura hay que multiplicarla por dos.

### 4.5 Referencias

1. Official Methods of Analysis of the AOAC, 14.<sup>a</sup> edición, 1984: 9.023-9.024.

### 5. AZÚCARES TOTALES

#### 5.1 Principio

Dilución previa de la muestra, inversión y posterior valoración basada en la acción reductora de los azúcares sobre una solución cuproalcalina.

#### 5.2 Material y aparatos

- 5.2.1 Erlenmeyer de 250 mililitros con boca esmerilada.
- 5.2.2 Refrigerante de reflujo de 30 centímetros de longitud útil.
- 5.2.3 Material necesario para volumetría.
- 5.2.4 Baño de agua con termostato.

#### 5.3 Reactivos

- 5.3.1 Acido clorhídrico concentrado 12 N.
- 5.3.2 Solución de hidróxido de sodio 12 N.
- 5.3.3 Solución de hidróxido de sodio 0,1 N.
- 5.3.4 Solución cuproalcalina:

Disolver por separado 25 gramos de sulfato de cobre (II) puro pentahidrato ( $\text{SO}_4\text{Cu} \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) en 100 mililitros de agua destilada; 50 gramos de ácido cítrico monohidrato en 300 mililitros de agua destilada y 388 gramos de carbonato de sodio decahidrato en 300-400 mililitros de agua caliente. Mezclar cuidadosamente las soluciones de ácido cítrico y de carbonato de sodio. Añadir enseguida la solución de sulfato de cobre y llevar a un litro.

- 5.3.5 Solución de yoduro de potasio al 30 por 100 (p/v). Conservar en frasco topacio. Es aconsejable no preparar más de lo que se vaya a consumir diariamente.

- 5.3.6 Solución de ácido sulfúrico al 25 por 100 en volumen.  
 5.3.7 Engrudo de almidón de 5 gramos/litro. Para preparar esta solución mantenerla en ebullición durante diez minutos. Añadir 200 gramos de cloruro de sodio por litro para asegurar su conservación.  
 5.3.8 Solución de tiosulfato de sodio 0,1 N.

#### 5.4 Procedimiento

Pipetear 10 mililitros de anís (o el volumen adecuado en función del contenido en azúcares) en un matraz de 500 mililitros, enrasándose con agua destilada (solución A).

En un matraz de 200 mililitros se pipetea 25 mililitros de la solución A, enrasándose con agua destilada (solución B).

Se realiza la inversión de la forma siguiente:

En un matraz de 50 mililitros pipetear 20 mililitros de solución B. Se añaden 3 mililitros de ácido clorhídrico concentrado, llevándose durante cinco minutos a un baño a 75 grados centígrados.

Se saca y se deja enfriar.

Se añade fenolftaleína y se neutraliza con solución de hidróxido de sodio 12 N hasta cerca del punto de viraje y posteriormente con solución de hidróxido de sodio 0,1 N hasta viraje. Se enrasa con agua destilada y se procede al análisis de los azúcares reductores totales (solución M).

En un erlenmeyer se ponen 25 mililitros de la solución cuproalcalina y 25 mililitros de la solución M, se somete a ebullición con refrigerante de reflujo manteniendo la ebullición diez minutos; se enfría rápidamente, se añaden 2 mililitros de almidón, 10 mililitros de solución de yoduro potásico y 25 mililitros de ácido sulfúrico al 25 por 100, valorándose inmediatamente con solución de tiosulfato sódico 0,1 N. Se repite la valoración con un blanco, sustituyendo los 25 mililitros de solución M por 25 mililitros de agua destilada.

#### 5.5 Cálculos

Sea D la diferencia entre lo gastado por el blanco y lo gastado por la muestra.

La concentración de azúcares totales en la muestra se obtiene a partir del valor de D en la tabla, interpolando en caso necesario y multiplicando el valor obtenido por 40 (factor de dilución).

Concentración azúcares totales gramos/litros = Valor obtenido en tabla  $\times$  40.

#### 5.6 Observaciones

- 5.6.1 En el caso de haber tomado un volumen distinto de anís, tener en cuenta para los cálculos el factor dilución.

#### 5.7 Referencias

1. Recueil des méthodes internationales d'analyse des vins OIV A4 - 126-127.

TABLA

D = ml de tiosulfato	Mg	Diferencia
1	2,4	2,4
2	4,8	2,4
3	7,2	2,5
4	9,7	2,5
5	12,2	2,5
6	14,7	2,6
7	17,2	2,6
8	19,8	2,6
9	22,4	2,6
10	25,0	2,6
11	27,6	2,7
12	30,3	2,7
13	33,0	2,7
14	35,7	2,7
15	38,5	2,8
16	41,3	2,9
17	44,2	2,9
18	47,1	2,9
19	50,0	3,0
20	53,0	3,0
21	56,0	3,0
22	59,1	3,1
23	62,2	-

## 6. ANETOL

### 6.1 Principio

Separación, identificación y cuantificación del anetol por cromatografía de gases.

### 6.2 Material y aparatos

- 6.2.1 Cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama.  
 6.2.2 Columna de acero inoxidable de 3 metros de longitud de 1/8 pulgadas de diámetro interno, rellena de SE 52 al 4 por 100 sobre Chromosob. AW. DMCS, de 100-120 mallas.  
 6.2.3 Microjeringa de 1  $\mu$  l.

### 6.3 Reactivos

- 6.3.1 Trans-anetol patrón con un contenido en cis-anetol menor de 0,5 por 100.  
 6.3.2 Mentol.  
 6.3.3 Etanol absoluto.

### 6.4 Procedimiento

- 6.4.1 Curva de calibrado.

#### 6.4.1.1 Patrón interno.

Pesar 0,25 gramos de mentol y llevar a un matraz aforado de 100 mililitros, disolver en 40 mililitros de etanol absoluto y enrasar con agua destilada.

#### 6.4.1.2 Solución patrón.

Pesar 1 gramo de anetol y disolver en 400 mililitros de etanol absoluto, enrasar a 1 litro con agua destilada. Este patrón debe estar en el momento de su utilización recientemente preparado.

#### 6.4.1.3 Solución de calibrado. A partir de la solución 6.4.1.2 preparar soluciones que contengan 0,1, 0,25, 0,50, 0,75 y 1 gramo/litro en alcohol de 40 grados.

A 100 mililitros de estas soluciones se le añade 5 mililitros de la solución 6.4.1.1.

Estas soluciones se inyectan en el cromatógrafo obteniendo la curva de calibrado, representándose:

$$\frac{\text{Area del patrón}}{\text{Area del patrón interno}} \text{ frente a concentraciones}$$

- 6.4.2 Condiciones cromatográficas aproximadas.

Temperatura del horno: 130 grados centígrados.

Temperatura del inyector: 220 grados centígrados.

Temperatura del detector: 220 grados centígrados.

- 6.4.3 Preparación de la muestra.

Tomar 100 mililitros del destilado, según método 1, añadir 5 mililitros de patrón interno e inyectar en el cromatógrafo.

### 6.5 Cálculos

- 6.5.1 Calcular la relación  $\frac{A_{im}}{A_{pm}}$  y llevar a la curva de calibrado, obteniéndose el valor de la concentración de anetol en la muestra problema.

- 6.5.2 También se puede emplear un patrón de concentración fija de anetol, calculándose el factor de respuesta y la concentración de la muestra aplicando las fórmulas siguientes:

$$Fr = Ci \frac{A_p}{A_i}$$

$$\text{Concentración de la muestra g/l} = Fr \times \frac{A_{im}}{A_{pm}} \times f.$$

Siendo:

Ci = Concentración del anetol en la solución patrón, que será similar a la esperada en la muestra problema.

Ap = Área del patrón interno en la solución patrón.

Ai = Área del anetol en la solución patrón.

Aim = Área del anetol en la muestra problema.

Apm = Área del patrón interno en la muestra problema.

F = Factor de dilución de la muestra.

Se debe realizar el cálculo de la concentración en anetol de la muestra con un patrón de riqueza aproximada a la esperada. En caso de no conocerse ésta, se debe efectuar una inyección previa para fijar el nivel de anetol refiriéndola al patrón de 1 gramo/litro y una vez evaluado se inyectará un patrón, si fuese necesario, de concentración próxima a la de la muestra, obteniendo el resultado final por referencia a este segundo patrón.

### 6.6 Referencias

1. José Ramón García Hierro y Gertrudis Marin Esteban. Informe del Laboratorio Arbitral de la Subdirección General de Laboratorios Agrarios.

## 7. METANOL

### 7.1 Principio

Separación, identificación y cuantificación del metanol por cromatografía gaseosa.

### 7.2 Material y aparatos

- 7.2.1 Cromatógrafo de gases equipado con detector de ionización de llama.
- 7.2.2 Columna cromatográfica.  
Columna de 4 metros de longitud, de 1/8 pulgadas de diámetro interno, rellena de Carbowax 1500, al 15 por 100 sobre Chromosorlo W, 80-100 mallas, lavada a los ácidos.
- 7.2.3 Microjeringas de 1  $\mu$  l.

### 7.3 Reactivos

- 7.3.1 Metanol pureza cromatográfica.
- 7.3.2 4-metil-2-pentanol.
- 7.3.3 Etanol pureza cromatográfica.

### 7.4 Procedimiento

- 7.4.1 Obtención del destilado como en el método oficial número 1.
- 7.4.2 Condiciones cromatográficas:  
Las condiciones cromatográficas orientativas son: Gas portador, nitrógeno, 20 mililitros/mín, temperatura del horno, 85 grados centígrados; temperatura del inyector y del detector, 150 grados centígrados.
- 7.4.3 Calibrado:
  - 7.4.3.1 Patrón interno: Solución de 5 gramos/litro de 4-metil-2-pentanol en etanol de 40 grados.
  - 7.4.3.2 Solución patrón: Preparar una solución de metanol en etanol a 40 grados, de concentración similar a la esperada en la muestra. A 10 mililitros de esta solución añadir 1 mililitro de la solución de patrón interno 7.4.3.1 e inyectar 1  $\mu$  l en el cromatógrafo.
  - 7.4.4 Muestra problema: A 10 mililitros del destilado de anís, llevado a 40 grados, se le añade 1 mililitro de patrón interno 7.4.3.1 e inyectar 1  $\mu$  l en las mismas condiciones en que se hizo para el calibrado.

### 7.5 Cálculos

Calcular el factor de respuesta y la concentración de metanol aplicando las siguientes fórmulas:

$$\text{Factor de respuesta (Fr)} = C_i \frac{A_p}{A_i}$$

$$\text{Concentración de la muestra (mg/l)} = \text{Fr} \frac{A_{im}}{A_{pm}} f, \text{ siendo:}$$

$C_i$  = Concentración del metanol en la solución patrón.  
 $A_p$  = Área del patrón interno en la solución patrón.  
 $A_i$  = Área del metanol en la solución patrón.  
 $A_{im}$  = Área del metanol en la muestra problema.  
 $A_{pm}$  = Área del patrón interno en la muestra problema.  
 $f$  = Factor de dilución de la muestra.

### 7.6 Referencias

1. «Official Methods of Analysis of the A. O. A. C.», 14.<sup>a</sup> edición, 1984: 5.008-5.011.

## 8. BASES NITROGENADAS

### 8.1 Principio

Fijación de las bases nitrogenadas y del amoniaco mediante el ácido fosfórico en el destilado de la muestra.

Liberación de éstos mediante solución de hidróxido de sodio y valoración con ácido clorhídrico.

El límite de detección de este método es de 1 miligramo/litro.

### 8.2 Material y aparatos

- 8.2.1 Destilador simple con dispositivos para adición (figura 8.1).
- 8.2.2 Probeta de 100 mililitros de capacidad.
- 8.2.3 Tubos de ensayo de boca esmerilada de 30 mililitros de capacidad.
- 8.2.4 Bureta de 25 mililitros de capacidad.
- 8.2.5 Pipetas de 50 mililitros de capacidad.
- 8.2.6 Matraz de 50 mililitros.

### 8.3 Reactivos

- 8.3.1 Acido fosfórico ( $d = 1,34$  gramos/mililitro).
- 8.3.2 Disolución de hidróxido de sodio al 1 por 100.
- 8.3.3 Disolución de ácido clorhídrico 0,01 N.
- 8.3.4 Disolución de rojo de metilo: Pesar 0,1 gramos de rojo de metilo, disolver en 50 mililitros de etanol del 90 por 100 v/v).
- 8.3.5 Agua bidestilada y desionizada pH 6,5-7,5.

### 8.4 Procedimiento

Obtener el destilado de 100 mililitros de muestra, operando según método de análisis número 1.

En un matraz de fondo redondo de 250 mililitros introducir 60 mililitros del destilado, 40 mililitros de agua destilada y dos gotas de ácido fosfórico; destilar, recogiendo los primeros 80 mililitros del destilado en 8.2.2 y desecharlos.

Enfriar el matraz y al residuo frío añadir 20 mililitros de disolución de hidróxido sódico al 1 por 100. Destilar de nuevo, recogiendo alrededor de 10 mililitros de destilado en un tubo de ensayo, en el que previamente se han introducido 2 mililitros de agua destilada y una gota de disolución de rojo de metilo, procurándose que el destilado caiga en el fondo del tubo con la ayuda de una alargadera.

Valorar a continuación con disolución de ácido clorhídrico 0,01 N hasta viraje del indicador.

Efectuar el mismo procedimiento sobre un blanco de etanol al 40 por 100.

### 8.5 Cálculos

Concentración de bases nitrogenadas expresadas como hidróxido de amonio (miligramos/litro) =  $2,8 (v-v)$ .

Siendo:

$v$  = Volumen, en mililitros, de disolución de ácido clorhídrico 0,01 N gastados en la valoración.

$v'$  = Volumen, en mililitros, de disolución de ácido clorhídrico 0,01 N gastados en el blanco.

### 8.6 Referencias

1. «Codex Oenologique International, O. I. V.», 1978, página 17.

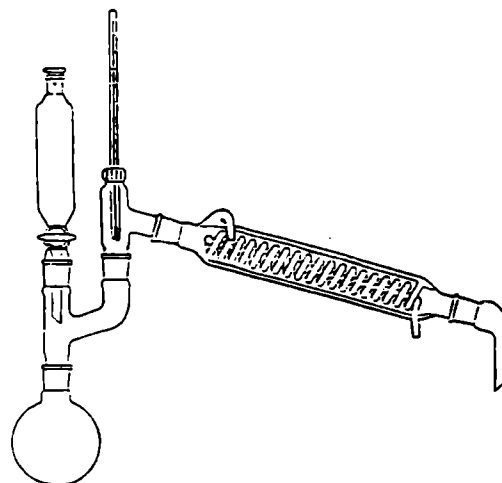


FIG. 8.1.

DESTILADOR SIMPLE CON DISPOSITIVO PARA ADICION

## 9. ACEITES ESENCIALES

## 9.1 Principio

Extracción de los aceites esenciales y cuantificación.

## 9.2 Material y aparatos

- 9.2.1 Embudos de decantación de 500 mililitros.  
 9.2.2 Desecador con dispositivo para hacer vacío o rotavapor.  
 9.2.3 Matraces de 100 mililitros de forma corazón con boca adecuada para adaptar al rotavapor.

## 9.3 Reactivos

- 9.3.1 n-pentano.  
 9.3.2 Cloruro de sodio.  
 9.3.3 Eter etílico.  
 9.3.4 Anetol Patrón.

## 9.4 Procedimiento

Tomar 40 mililitros de anís e introducir en un embudo de decantación añadiendo 160 mililitros de agua destilada, 40 gramos de ClNa y 60 mililitros de n-pentano. Agitar y dejar decantar durante unos diez minutos.

Una vez separadas las fases, tomar la correspondiente al pentano. Añadir sulfato de sodio anhidro. Filtrar. Llevar al rotavapor para evaporar al pentano, sin que la temperatura del baño alcance los 30 grados centígrados.

Disolver el residuo obtenido en 5 mililitros de éter etílico e inyectar en el cromatógrafo en las mismas condiciones del método número 6. Normalizar esta inyección obtenido el porcentaje de anetol.

## 9.5 Cálculos

El contenido en aceites esenciales totales expresado en gramos por litro vendrá dado por la siguiente fórmula:

$$\text{Aceites esenciales (g/l)} = A \frac{100}{B}$$

Siendo:

A = Contenido de anetol, expresado en gramos/litro, obtenido en el método 6.  
 B = Contenido en porcentaje de anetol obtenido en la normalización.

## 9.6 Referencias

- «Dosage des huiles essentielles totales dans les liqueurs anisées». A. Maurel. Annales des Falsifications de L'Expertise Chimique et Toxicologique, 1941.
- Informe interno del Grupo de Trabajo de Métodos Oficiales de Análisis del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación.

## 10. HIDROXIMETILFURFURAL Y FURFURAL

## 10.1 Principio

Separación y cuantificación por cromatografía líquido-líquido de hidroximetilfurfural y furfural.

## 10.2 Material y aparatos

- 10.2.1 Cromatógrafo líquido-líquido con detector U. V.  
 10.2.2 Columna Sherisorb ODS 5  $\mu$  de 20 x 0,46 centímetros o columna similar de fase reversa.  
 10.2.3 Microjeringa de 25 ó 50  $\mu$  l o cualquier sistema de inyección adecuado según loop e inyector.  
 10.2.4 Equipo de filtración de disolventes para cromatografía líquido-líquido con filtro de 0,45  $\mu$  m o similar.  
 10.2.5 Equipo de filtración de muestras con filtros de 0,5  $\mu$  m o similar.

## 10.3 Reactivos

- 10.3.1 Metanol grado HPLC.  
 10.3.2 Solución tampón de fosfato monopotásico y fosfato dipotásico. Disolver 1,25 gramos de  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  y 1,25 gramos de  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  en agua hasta un litro.  
 10.3.3 Hidroximetilfurfural patrón y furfural recientemente destilado.

## 10.4 Procedimiento

- 10.4.1 Condiciones cromatográficas orientativas:  
 Fase móvil. Solución de metanol al 10 por 100 (v/v) en disolución tampón (10.3.2)  
 Flujo: 0,8 mililitros/mn.

Longitud de onda: 285 nm.

Tiempo de retención aproximado: Siete minutos para hidroximetilfurfural y Diez minutos para el furfural.

## 10.4.2 Soluciones patrón:

Preparar soluciones de hidroximetilfurfural y furfural en metanol de concentraciones aproximadas a 5 miligramos/litro.

## 10.4.3 Diluir 5 mililitros de la muestra en metanol a 25 mililitros. Filtrar e inyectar directamente.

## 10.5. Cálculos

Calcular la concentración de hidroximetilfurfural y furfural expresada en miligramos/litro, mediante las siguientes fórmulas.

$$\text{Hidroximetilfurfural o furfural (mg/l)} = \frac{A_m}{A_p} \times C$$

Siendo:

$A_m$  = Área de la muestra.

$A_p$  = Área del patrón externo.

C = Concentración en miligramos/litros del patrón.

## 10.6 Observaciones

- 10.6.1 Observación.-La preparación del patrón de hidroximetilfurfural debe efectuarse cada día. Para evitar esta preparación se puede utilizar el mismo patrón, pero controlando su riqueza actual, midiendo la absorbancia en U.V. a 284 nm, empleando la siguiente fórmula:

$$c = \frac{A}{E \cdot l} \times 100$$

Siendo:

c = concentración en moles/litro de hidroximetilfurfural.

E = Coeficiente de absorción Molar,  $1,82 \times 10^4$ .

l = Longitud de paso de la cubeta en centímetros.

A = Absorbancia del patrón a 284 nm.

## 11. ARSÉNICO

## 11.1 Principio

La muestra se somete a una digestión ácida con una mezcla de ácido nítrico y sulfúrico.

La determinación del arsénico se realiza por espectrofotometría de absorción atómica, con generador de hidruros.

## 11.2 Material y aparatos

- 11.2.1 Balanzas con exactitud de 0,001 gramos y de 0,1 gramos.  
 11.2.2 Matraces aforados de 50 y 100 mililitros de capacidad.  
 11.2.3 Pipetas de doble aforo.  
 11.2.4 Matraces «Kjeldahl» de 250 mililitros.  
 11.2.5 Espectrofotómetro de absorción atómica equipado con sistema generador de hidruros.  
 11.2.6 Lámpara de descarga sin electrodos.  
 11.2.7 Fuente de descarga sin electrodos.  
 11.2.8 Registrador gráfico.

## 11.3 Reactivos

Se utilizan solamente reactivos de grado de pureza para análisis y agua destilada.

- 11.3.1 Ácido clorhídrico (d = 1,19 gramos/mililitro).  
 11.3.2 Disolución de ácido clorhídrico.  
 Disolver 32 mililitros de ácido clorhídrico (d = 1,19 gramos/mililitro), con agua destilada hasta un volumen de 100 mililitros.  
 11.3.3 Disolución de ácido clorhídrico.  
 Disolver 15 mililitros de ácido clorhídrico (d = 1,19 gramos/mililitro) con agua destilada hasta un volumen de 1.000 mililitros.  
 11.3.4 Ácido nítrico (d = 1,40 gramos/mililitro).  
 11.3.5 Ácido sulfúrico (d = 1,84 gramos/mililitro).  
 11.3.6 Disolución de hidróxido de sodio al 1 por 100.  
 Pesar 1 gramo de hidróxido de sodio y disolverlo con agua destilada hasta un volumen de 100 mililitros.  
 11.3.7 Disolución de borohidruro de sodio al 3 por 100.  
 Pesar tres gramos de borohidruro de sodio y disolverlo hasta 100 mililitros con hidróxido de sodio al 1 por 100.  
 11.3.8 Disolución al 1 por 100 de etilendinitrotetraacetato de disodio, dihidrato (triple III).

- Pesar un gramo de triplex III y disolverlo hasta 100 mililitros con agua destilada.
- 11.3.9 Disolución de hidróxido de potasio al 20 por 100. Pesar 20 gramos de hidróxido de potasio y disolverlo con agua destilada hasta un volumen de 100 mililitros.
- 11.3.10 Disolución de ácido sulfúrico al 20 por 100 (v/v). Diluir 20 mililitros de ácido sulfúrico (11.3.5) con agua destilada hasta un volumen de 100 mililitros.
- 11.3.11 Disolución de ácido sulfúrico al 1 por 100 (v/v). Diluir 1 mililitro de ácido sulfúrico (11.3.5) con agua destilada hasta un volumen de 100 mililitros.
- 11.3.12 Solución patrón de arsénico de concentración 1 gramo/litro. Disolver 0,132 gramos de trióxido de arsénico de 2,5 mililitros de hidróxido de potasio al 20 por 100 (11.3.9), neutralizar con ácido sulfúrico al 20 por 100 (11.3.10), diluir hasta 100 mililitros con ácido sulfúrico 1 por 100 (11.3.11).
- 11.3.13 Solución patrón de arsénico de concentración 10 miligramos/litros. Pipetear 1 mililitro de la solución patrón de arsénico (11.3.12) en un matraz aforado de 100 mililitros. Diluir hasta el enrase con agua destilada.
- 11.3.14 Solución patrón de arsénico de concentración 0,1 miligramos/litros. Pipetear 1 mililitro de la solución de arsénico (11.3.13) en un matraz aforado de 100 mililitros. Diluir hasta el enrase con agua destilada.

#### 11.4 Procedimiento

- 11.4.1 Preparación de la muestra. En un matraz «Kjeldahl» de 250 mililitros introducir 4 gramos de muestra con 20 mililitros de ácido nítrico (11.3.4) y 5 mililitros de ácido sulfúrico (11.3.5). Llevar la ebullición hasta reducir el volumen a 5 mililitros. Dejar enfriar y disolver con agua destilada en un matraz de 50 mililitros la solución resultante.
- 11.4.2 Preparación del blanco y patrones de trabajo. En un matraz «Kjeldahl», introducir 5 mililitros de la solución de arsénico (11.3.14) y someterlo al mismo tratamiento que la muestra. 1 mililitro de la solución contiene diez nanogramos de arsénico. Preparar un blanco con todos los reactivos utilizados siguiendo el tratamiento dado a la muestra.
- 11.4.3 Condiciones del espectrofotómetro. Encender la fuente de alimentación de las lámparas de descarga sin electrodos con el tiempo suficiente para que se establezca la energía de la lámpara. Encender el espectrofotómetro, ajustar la longitud de onda de 193,7 nm, colocando la rejilla de acuerdo con las condiciones del aparato. Encender el generador de hidruros, colocando la temperatura de la celda a 900° C, esperando hasta que se alcance dicha temperatura. Se ajustan las condiciones del generador de hidruros según las especificaciones del aparato. Ajustar el flujo de argón de acuerdo con las características del aparato. Encender el registrador.
- 11.4.4 Determinación. Las determinaciones de la concentración de arsénico se realizan por el método de adición de patrones, por medio de medidas duplicadas en el espectrofotómetro en las condiciones especificadas en (11.4.3) añadiendo al matraz de reacción 3 mililitros de solución (11.4.1) más 3 mililitros de la solución (11.3.2) y 10 mililitros de la solución (11.3.8). Como patrones internos se usan 10, 20 y 50 ng de As. Lavar los matraces antes y después de cada uso con ácido clorhídrico (11.3.3). Al construir la gráfica de adición hay que descontar el valor de absorbancia del blanco obtenido en las mismas condiciones anteriores, pero añadiendo 3 mililitros de la solución blanco.

### 12. PLOMO

#### 12.1 Principio

Determinación del plomo por absorción atómica.

#### 12.2 Material y aparatos

- 12.2.1 Espectrofotómetro de absorción atómica.  
12.2.2 Lámpara de plomo.

- 12.2.3 Cápsulas de platino, cuarzo o similar (de 150 mililitros de capacidad, aproximadamente).  
12.2.4 Baño de arena o placa calefactora con regulación de temperatura o estufa con control de temperatura en el rango de 50 a 150° C.  
12.2.5 Mufla. Conveniente tenerla dentro de vitrina de extracción de humos.  
12.2.6 Matraces de 10, 100 y 1.000 mililitros de capacidad.

#### 12.3 Reactivos

- 12.3.1 Ácido sulfúrico del 96 por 100 (d = 1,835) gramos/mililitro.  
12.3.2 Ácido nítrico del 70 por 100 (d = 1,413) gramos/mililitro.  
12.3.3 Ácido nítrico al 1 por 100 en agua destilada (v/v).  
12.3.4 Solución patrón de 1.000 miligramos de Pb/litro. Disolver 1,598 gramos de nitrato de plomo (II) enrasando a 1.000 mililitros con ácido nítrico al 1 por 100.

#### 12.4 Procedimiento

- 12.4.1 Preparación de la muestra.—Pesar 20 gramos de la muestra en la cápsula (12.2.3); llevarla a evaporación hasta consistencia siruposa en baño de arena (12.2.4). Añadir a continuación 2 mililitros de ácido sulfúrico y carbonizar lentamente el residuo en el baño de arena o placa. Seguidamente introducir la cápsula en la mufla y mantenerla durante dos horas a 450° C; transcurrido dicho tiempo, sacarla y dejarla enfriar. Anadir 1 mililitro de agua destilada, evaporar en el baño de arena o placa e introducir en la mufla, repitiendo esta operación hasta obtener cenizas blancas. Un ligero color marrón-rojizo en las cenizas (posiblemente Fe<sub>2</sub>O<sub>3</sub> es aceptado y no requiere un tratamiento posterior. Disolver a continuación las cenizas con 1 mililitro de ácido nítrico concentrado y 2 mililitros de agua destilada. Llevar la solución a un matraz de 10 mililitros, lavar la cápsula con agua destilada y añadir las aguas de lavado hasta el enrase, filtrando posteriormente.
- 12.4.2 Construcción de la curva patrón.—Diluir alícuotas apropiadas de la solución patrón (12.3.4) con ácido nítrico al 1 por 100 (v/v) para obtener una curva de concentraciones 2, 4, 6, 8 y 10 miligramos/litros.
- 12.4.3 Determinación.—Operar según las especificaciones del aparato, usando llama de aire-acetileno. Medir las absorbancias de la muestra y patrones a 283 nm. Si la solución está muy concentrada, diluirla con ácido nítrico al 1 por 100.

#### 12.5 Cálculos

Calcular el contenido en plomo, expresado en miligramos/litro mediante comparación con la correspondiente curva patrón y teniendo en cuenta el factor de concentración o dilución.

#### 12.6 Referencias

1. Métodos oficiales de análisis de vinos. Ministerio de Agricultura, página 134 (I), 1976.

### 13. CINC

#### 13.1 Principio

Determinación del cinc por absorción atómica previa mineralización de la muestra.

#### 13.2 Material y aparatos

- 13.2.1 Espectrofotómetro de absorción atómica.  
13.2.2 Lámpara de cinc.  
13.2.3 Los utilizados para el Pb en (12.2.3), (12.2.4), (12.2.5) y (12.2.6).

#### 13.3 Reactivos

- 13.3.1 Los utilizados para el plomo en (12.3.1), (12.3.2) y (12.3.3).  
13.3.2 Solución patrón de 1.000 miligramos de cinc/litro. Disolver 1.000 gramos de cinc puro en el mínimo volumen necesario de ácido nítrico (1 : 1) y diluir a 1 litro con ácido nítrico del 1 por 100 (v/v).

#### 13.4 Procedimiento

- 13.4.1 Preparación de la muestra.—Como en (12.4.1).  
13.4.2 Construcción de la curva patrón.—Diluir partes alícuotas de la solución patrón (13.3.2) con ácido nítrico al 1 por 100 para obtener soluciones de 0,5, 1, 1,5 y 2 miligramos/litro.  
13.4.3 Determinación.—Igual que para el plomo. La lectura se efectuará a 213,8 nm.

### 13.5 Cálculos

Partiendo de los valores de absorbancias obtenidos hallar las concentraciones de cinc para la muestra, teniendo en cuenta el factor concentración o dilución.

### 13.6 Referencias

1. H.E. Parker. «Atomic Absorption Newsletter» (1963), 13.

## 14. COBRE

### 14.1 Principio

Determinación del cobre por absorción atómica previa mineralización de la muestra.

### 14.2 Material y aparatos

- 14.2.1 Espectrofotómetro de absorción atómica.
- 14.2.2 Lámpara de cobre.
- 14.2.3 Los utilizados para el plomo en (12.2.3), (12.2.4), (12.2.5) y (12.2.6).

### 14.3 Reactivos

- 14.3.1 Los utilizados para el plomo en (12.3.1), (12.3.2) y (12.3.3).
- 14.3.2 Solución patrón de 1.000 miligramos de cobre/litro. Disolver 1.000 gramos de cobre puro en el mínimo volumen necesario  $\text{NO}_2\text{H}$  (1 : 1) y diluir a 1 litro con ácido nítrico del 1 por 100(v/v).

### 14.4 Procedimiento

- 14.4.1 Preparación de la muestra.—Como en (12.4.1).
- 14.4.2 Construcción de la curva patrón. Diluir partes alícuotas de la solución patrón (14.3.2) con ácido nítrico del 1 por 100 para obtener soluciones que contengan de 1 a 5 miligramos de cobre/litro.
- 14.4.3 Determinación.—Igual que para el plomo. Medir a 324,7 nm.

### 14.5 Cálculos

Partiendo de los valores de absorbancia obtenidos para la muestra, hallar mediante la curva patrón las concentraciones de cobre de la muestra.

### 14.6 Referencias

1. H.E. Parker: «Atomic Absorption Newsletter» (1963), 13.
2. F. Rousselet: «Spectrophotometrie par absorption atomique Boudin». Ed. París (1968), páginas 59-144.

**11625** *ORDEN de 11 de mayo de 1987 por la que se crea un Comité de Expertos para las materias relativas a la organización, programas de actividades y contenidos de la Exposición Universal de Sevilla 1992.*

Creados y estructurados los órganos de apoyo y de gestión del Comisario general para la Exposición Universal de Sevilla 1992, a tenor de lo previsto en el Real Decreto 487/1985, de 10 de abril, y realizada la primera fase de las tareas de planificación y promoción general de la Exposición, procede ahondar en la determinación de los contenidos de la muestra diseñados en el Plan General de la Exposición y en sus aspectos organizativos, a cuyo fin resulta conveniente la constitución de un Comité de Expertos, integrado por personalidades relevantes en el mundo de la cultura y la economía, en el sentido más lato de estos términos que, con su experiencia y conocimientos, pueden prestar una colaboración muy eficaz a que esta celebración se realice con el rigor y la altura que tan magno acontecimiento requiere.

El citado Comité de Expertos, con el carácter de órgano consultivo y de asesoramiento al Comisario general, se inserta en la oficina creada por el Real Decreto 487/1985, de 10 de abril, la cual prestará a aquél la correspondiente asistencia de carácter administrativo y técnico.

En su virtud, de conformidad con lo previsto en la disposición adicional segunda del Real Decreto 487/1985, de 10 de abril, y el acuerdo adoptado por el Alto Patronato para la Conmemoración del V Centenario del Descubrimiento de América, en su sesión del 11 de octubre de 1986, y previa aprobación del Ministro para las Administraciones Públicas, este Ministerio ha tenido a bien disponer:

Artículo 1.º Se crea, con el carácter de órgano consultivo y de asesoramiento al Comisario general de España para la Exposición Universal Sevilla 1992, en el seno de la oficina del Comisario, un Comité de Expertos para las materias relativas a la organización, programa de actividades y contenidos de la Exposición coordina-

dos en sus pabellones, sean de participantes oficiales o dedicados a temas monográficos.

Art. 2.º 1. Formarán parte del Comité de Expertos, en calidad de Vocales, personalidades relevantes en el mundo de las letras, las artes, las ciencias y la economía, designadas, a propuesta del Comisario general, por el Ministro de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno.

2. El Comité de Expertos se estructura en un Pleno y en cuatro Comisiones, que se ocuparán respectivamente de Humanidades, Ciencias Sociales, Ciencias Físico-Naturales y Tecnología y de Economía y Empresa.

3. Los Vocales del Comité de Expertos, en número no superior a 92, se distribuirán en las respectivas Comisiones señaladas en el número anterior.

Art. 3.º 1. El Comisario general será el Presidente del Comité de Expertos.

2. El Comisario general designará un Director del Comité de Expertos.

3. Las funciones de Secretaría Ejecutiva serán desempeñadas por un Subdirector general de la oficina del Comisario general de España para la Exposición Universal.

Art. 4.º Los Vocales del Comité de Expertos ejercerán sus cargos de forma honorífica y gratuita, sin perjuicio de las asistencias, dietas y locomoción, previstas en el Real Decreto 1344/1984, de 4 de julio.

Art. 5.º La presente Orden entrará en vigor al día siguiente de su publicación en el «Boletín Oficial del Estado».

Madrid, 11 de mayo de 1987.

ZAPATERO GOMEZ

**11626** *ORDEN de 12 de mayo de 1987 por la que se instituye el Día Nacional del Libro Agrario, Pesquero y Alimentario.*

Ha sido constante preocupación del Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación ofrecer a la sociedad la máxima información posible sobre los sectores agrario, pesquero y alimentario, información acrecentada, últimamente, con la incorporación de España a la CEE. En este sentido, debe subrayarse tanto la labor que viene desarrollando el propio Departamento, con su importante producción editorial y divulgadora y con la periódica convocatoria de Premios Nacionales de Publicaciones y otras ayudas, como el estímulo que realiza la producción editorial y difusora de otras instituciones públicas y privadas.

El Ministerio de Cultura, permanentemente atento a la promoción y difusión editorial en general, ha venido prestando un particular apoyo a todas las iniciativas editoriales y divulgadoras de carácter científico y técnico y, dentro de ellas, a las concernientes a los sectores agrario, pesquero y alimentario.

Convergentes con estos mismos objetivos, es preciso destacar las actividades de las Comunidades Autónomas y de las Universidades y otras Entidades, así como del sector editorial, distribuidor y librero especializado.

Para conseguir una mayor eficacia de todas las referidas acciones, se considera preciso impulsar e incrementar la divulgación del conjunto de la actividad editorial sobre los sectores agrario, pesquero y alimentario y alentar el interés social por su mayor conocimiento. Por ello, se establece, con carácter nacional, el Día del Libro Agrario, Pesquero y Alimentario, como celebración de periodicidad anual.

En su virtud, a propuesta conjunta de los Ministerios de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Cultura,

Este Ministerio de Relaciones con las Cortes y de la Secretaría del Gobierno ha tenido a bien disponer:

Artículo 1.º Uno. Se instituye, con carácter nacional, el Día del Libro Agrario, Pesquero y Alimentario, cuyo fin será promover un mayor conocimiento de toda la producción editorial, formativa e informativa, tanto pública como privada, sobre tales sectores.

Dos. El Día del Libro Agrario, Pesquero y Alimentario se celebrará el 14 de mayo de cada año. Caso de que dicha fecha fuese festiva, se trasladaría su celebración al primer día laborable siguiente.

Art. 2.º Los Ministerios de Agricultura, Pesca y Alimentación y de Cultura, en colaboración con las Comunidades Autónomas, las Universidades, otras Instituciones públicas y el sector privado especializado, promoverán, estimularán y coordinarán aquellas actividades que redunden en un mejor conocimiento de los fines genéricos del Día del Libro Agrario, Pesquero y Alimentario, cuya celebración se dará a conocer anualmente en una campaña de divulgación, a través, especialmente, de los medios de comunicación social.