

OBTENCION CONSERVACION Y DETERMINACION DE LAS CARACTERISTICAS DE CALIDAD DE PULPA CONGELADA Y NECTAR DIETETICO Y FORTIFICADO DE MARACUYA

SALOMÓN FERREIRA*
CLAUDIA PATRICIA CARO*
MARÍA VICTORIA MILLÁN*

RESUMEN

Este trabajo se realizó con el fin de obtener pulpa congelada de maracuyá y con ella un nectar dietético con un edulcorado con aspartame y con un buen contenido nutricional a base de suero de leche y pulpa de maracuyá y se evaluó su estabilidad.

Se elaboró un nectar fortificado estabilizado con metabisulfito. Se estudió el comportamiento y se hizo el control de calidad de los nectares y de la pulpa desde el punto de vista sensorial, fisicoquímico y microbiológico.

Se obtuvo un producto dietético con un buen contenido nutricional, un buen grado de aceptación y un tiempo de vida de cuatro semanas para el nectar dietético y fortificado de maracuyá sin metabisulfito y de seis semanas para el nectar dietético y fortificado estabilizado con metabisulfito.

SUMMARY

This research work was aimed to obtain frozen passion fruit pulp and a dietetic product with a good nutritional content, sweetened with aspartame, designed on the basis of milk serum and the pulp. At the same time the stabilities of the pulp and the nectar were evaluated.

Then the dietetic and fortified nectar was processed as well as a control nectar for comparison purposes. A dietetic and

fortified nectar stabilized with sodium metabisulfite was also produced. The three products were studied from the point of view of behaviour during storage, the sensorial, physico-chemical and microbiological quality was determined.

The results indicated that a dietetic product with an acceptable nutritional level was obtained and that the dietetic nectar has a storage time of four weeks and the same product stabilized with metabisulfite has a storage time of six weeks under the storage conditions (-5 °C).

INTRODUCCION

El maracuyá pertenece a la familia Passifloraceae del orden Passiflorales el cual comprende doce generos y mas de 500 especies (1,2). Existen dos variedades: el «púrpura» que corresponde a la especie botánica *Passiflora edulis Sims* y el amarillo variedad identificada botánicamente *Passiflora edulis var, Flavicarpa*.

La fruta tiene forma redonda u oval, con piel dura, lisa y brillante, cuyo color varía entre el verde y el amarillo canario, la capa interna es de color blanco. La fruta fresca esta compuesta por 30-40% de pulpa, 50-60% de cáscara y 10-15% de semillas (3).

El cultivo de maracuyá se adapta bien a los climas cálidos con alturas entre 0-1.300 m sobre el nivel del mar con temperaturas entre 20-30 °C y con precipitaciones pluviales del orden de 1.500 mm anuales.

En Colombia se han observado dos ciclos de producción, la cosecha principal en diciembre y enero y la llamada de mitaca entre mayo y agosto (3,4, 5).

Segun ICONTEC el néctar (7) se define como el producto constituido por jugo o puré de frutas, adicionado con agua, edulcorantes naturales y ácidos permitidos.

* Universidad Nacional, Facultad de Ciencias, Departamento de Farmacia, A.A. 14490. Santafé de Bogotá. Colombia.

Según el Ministerio de Salud de Colombia el néctar se define como el producto elaborado con jugo, pulpa o concentrado de frutas, adicionado de agua, aditivos e ingredientes permitidos (8).

El suero es un subproducto de la industria láctea (6) que contiene elementos de alto valor nutricional como proteínas hidrosolubles (albúminas y globulinas), lactosa, vitaminas y sales minerales etc.

PARTE EXPERIMENTAL

Procedimientos generales.

Para el procesamiento de la fruta se realizaron las siguientes operaciones: higienización de la planta piloto de procesamiento, recepción de la fruta proveniente de Issa (Huila) empacada en sacos de fique, selección y clasificación de la fruta operación en la cual se retiraron las hojas, tallos y frutas en mal estado y la fruta se clasificó atendiendo al grado de adurez, tamaño y peso.

Luego se hizo el despulpado para separar las semillas de la pulpa en una despulpadora de acero inoxidable (Marca Langsenkamp, Indianápolis U.S.A.) provista de una malla #8. Después se pasteurizó (80 °C x 1 min.) para destruir la gran mayoría de los microorganismos e inactivar las enzimas y esto se hizo en marmita abierta (Elatt Coppar & Brass Co. Ltd. Mod. 2P7131 B.C.) controlando parámetros como la temperatura y el tiempo de calentamiento. Seguidamente la pulpa se envasó en bolsas de polietileno de baja densidad, empleando una llenadora de pistón (Simplex A.S.) y en cada bolsa se colocó un peso de aproximadamente 600 g, cada bolsa se rotuló debidamente y se colocó en una caja plástica que luego se colocó en un congelador tipo tanque (Industrial Cartagena Mod. 10920, Col.) a una temperatura de -18 a -20 °C.

La preparación del néctar se realizó después de hacer la caracterización de los ingredientes suero y pulpa (°Brix, pH, acidez, sólidos totales etc), se mezclaron las cantidades calculadas de pulpa (21% P/P), azúcar (12 % P/P) y agua; para el fortificado se empleó 48% P/P de suero y aspartame (0,060% P/P) y otro se estabilizó con metabisulfito de sodio (0,025% P/P). Se hizo una preformulación y se hizo análisis sensorial para determinar la más aceptada por el consumidor. Luego las muestras se envasaron en frascos de vidrio transparentes y cuerpo cilíndrico, con una capacidad total de 135 ml y provistos de tapa metálica de rosca. El néctar envasado se pasteurizó en marmita abierta controlando la temperatura y el tiempo de calentamiento, se retiraron los envases, se dejaron enfriar y se colocaron en un refrigerador a -5 °C. (9, 10).

Control de Calidad.

Se hizo control de calidad integral a la pulpa y a los néctares para evaluar sus características fisicoquímicas, microbiológicas y sensoriales.

Se determinó la viscosidad y el comportamiento reológico (Viscosímetro de Brookfield mod. RVT) con los vástagos #2 para la pulpa y #1 para el néctar, dejando 2 minutos de reposo entre lectura y lectura y aumentando la velocidad y luego disminuyéndola, se determinaron los sólidos solubles (refractómetro Carl Zeiss de Jena Modelo I.411693), el pH y la acidez (Potenciómetro Methrom Erisau Mod 350 E), las cenizas totales en mufla, la densidad, la prueba de peroxidasa para constatar la eficacia del calentamiento para inhibir las peroxidases, los sólidos totales por secado al vacío y a 60 °C (Estufa al vacío Lab Line Instruments Inc 3610) contenido de proteínas y nitrógeno proteico por el método de Kjeldahl y la densidad por medio de picnómetro a 20 ± 2 °C. (11, 12, 13, 14)

Para los análisis microbiológicos se tomaron grupos de microorganismos indicadores que mostraron la forma higiénico-sanitaria como se llevó a cabo el proceso, siguiendo las recomendaciones de la APHA, se hizo recuento de mesófilos aerobios, hongos y levaduras (15).

Para el análisis sensorial se empleó directamente el néctar fortificado comparándolo con el néctar control, empleando como mínimo 10 panelistas previamente entrenados y un máximo de 2 muestras para cada uno. Las muestras se sirvieron en vasos blancos de plástico, se suministró agua para enjuagarse la boca entre degustaciones y se le suministró a cada panelista una guía donde se describían las características a evaluar junto con un formato donde cada juez consignó sus observaciones y calificaciones dadas a cada uno de los parámetros de calidad como color, sabor, aroma, apariencia y consistencia. El protocolo para calificación de la pulpa y de los néctares tenía un valor máximo de 20 puntos.

Metodología para la formulación del Néctar

El cálculo de los ingredientes para la formulación se hizo tomando como base el siguiente planteamiento el peso de pulpa, azúcar y agua debe ser de 100 g de néctar y debe presentar un porcentaje de sólidos solubles entre 12 y 14 grados Brix finales.

Para el néctar dietético y fortificado el azúcar se substituyó por aspartame tomando como base el equivalente de dulzura (1:200) y la cantidad de suero indicada en los análisis sensoriales de los lotes de ensayo.

RESULTADOS Y DISCUSION

Selección y Clasificación.

El maracuyá presentó gran variabilidad en cuanto a tamaño, peso y grado de madurez con un peso entre 129,8 y 291,3 g (promedio 212,8) una longitud promedio de 8,04 cm y un diámetro promedio de 7,14 cm.

Cortado de la Fruta.

La operación manual presentó el menor rendimiento debido a que exige mucho manejo cuidadoso de la fruta al cortarla y al retirar su contenido con cucharas inoxidable.

Separación de las semillas y la pulpa.

Esta operación disminuye la viscosidad y mejora la textura proporcionando un producto mas homogéneo y de mejor aspecto .

Pasteurización.

La operación produjo la inactivación de las enzimas presentes tal como se comprobó por la prueba de la peroxidasa y al mismo tiempo permitió reducir la carga microbiana .

Envasado y Empacado.

Las operaciones fueron de fácil ejecución y los envases y empaques empleados para la pulpa y para el nectar resultan fáciles de manejar, de bajo costo, dan buena protección al producto en estudio y no requieren tecnología sofisticada y costosa para su implementación a nivel industrial .

Viscosidad y Consistencia.

Durante el tiempo de almacenamiento no se observó variación en la viscosidad de la pulpa y de los néctares fortificados con o sin metabisulfito tal como se observa en las Tablas 1, 2, 3 y 4.

Los valores de viscosidad obtenidos para la pulpa fueron mayores que los obtenidos para los néctares esto debido probablemente al mayor contenido de sólidos solubles de la pulpa .Los néctares presentan valores de viscosidad similares entre sí .

TABLA 1. VISCOSIDAD(CPS) DE LA PULPA DE MARACUYÁ DURANTE EL ALMACENAMIENTO REFRIGERADO

Velocidad (rpm)	Semanas de Almacenamiento					
	1	2	3	4	5	6
0,5	1.200,00	1.300,00	1.200,00	1.200,00	1.200,00	1.100,00
1,0	750,00	750,00	700,00	700,00	700,00	650,00
2,5	380,00	420,00	360,00	380,00	360,00	360,00
5,0	250,00	270,00	220,00	240,00	230,00	220,00
10,0	170,00	175,00	145,00	155,00	155,00	160,00
20,0	137,50	115,00	100,00	107,50	107,50	110,00
50,0	104,00	85,00	70,00	72,00	76,00	82,00
100,0	74,00	69,50	60,00	61,50	69,00	74,00

Agitación Descendente

100,0	76,00	70,00	61,50	62,00	68,00	73,50
50,0	104,00	84,00	72,00	70,00	72,00	83,00
20,0	135,00	112,50	100,00	107,50	97,50	107,50
10,0	170,00	160,00	145,00	155,00	140,00	145,00
5,0	250,00	240,00	220,00	240,00	210,00	200,00
2,5	380,00	280,00	360,00	380,00	340,00	360,00
1,0	750,00	700,00	700,00	700,00	650,00	600,00
0,5	1.200,00	1.200,00	1.200,00	1.200,00	1.100,00	1.100,00

TABLA 2. VISCOSIDAD(CPS) DEL NÉCTAR CONTROL DE MARACUYÁ DURANTE EL ALMACENAMIENTO REFRIGERADO

Velocidad (rpm)	Semanas de Almacenamiento					
	1	2	3	4	5	6
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2,5	0,00	0,00	20,00	0,00	0,00	0,00
5,0	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
10,0	10,00	15,00	10,00	10,00	10,00	10,00
20,0	10,00	12,00	10,00	10,00	10,00	10,00
50,0	10,00	12,00	15,00	12,00	13,00	14,00
100,0	11,00	17,50	19,00	15,00	17,00	18,00

Agitacion Descente

100,0	15,00	17,00	19,00	15,00	17,00	18,00
50,0	13,00	13,00	15,00	12,50	13,00	13,00
20,0	7,50	12,50	10,00	10,00	10,00	10,00
10,0	10,00	15,00	10,00	10,00	10,00	10,00
5,0	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00	10,00
2,5	0,00	0,00	20,00	0,00	0,00	0,00
1,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

TABLA 3. VISCOSIDAD(CPS) DEL NÉCTAR FORTIFICADO DE MARACUYÁ DURANTE EL ALMACENAMIENTO REFRIGERADO

Velocidad (rpm)	Semanas de Almacenamiento					
	1	2	3	4	5	6
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
5,0	10,00	20,00	20,00	20,00	10,00	10,00
10,0	10,00	15,00	15,00	15,00	10,00	10,00
20,0	7,50	15,00	15,00	10,00	10,00	7,50
50,0	20,00	17,00	14,00	14,00	14,00	13,00
100,0	26,00	21,00	17,50	16,50	17,00	16,00

Agitacion Descendente

100,0	25,50	20,00	17,00	16,00	18,00	15,50
50,0	20,00	16,00	14,00	14,00	15,00	12,50
20,0	10,00	12,50	15,00	10,00	10,00	7,50
10,0	10,00	15,00	20,00	10,00	10,00	10,00
5,0	10,00	20,00	20,00	20,00	10,00	10,00
2,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

TABLA 4 . VISCOSIDAD(CPS) DEL NÉCTAR FORTIFICADO DE MARACUYÁ CON METABISULFITO DURANTE EL ALMACENAMIENTO REFRIGERADO

Velocidad (rpm)	Semanas de Almacenamiento			
	1	2	3	4
0,5	0,00	0,00	0,00	0,00
1,0	0,00	0,00	0,00	0,00
2,0	20,00	20,00	40,00	20,00
5,0	20,00	20,00	20,00	20,00
10,0	15,00	15,00	15,00	15,00
20,0	12,50	12,50	12,50	12,50
50,0	15,00	15,00	14,00	16,00
100,0	19,00	20,00	18,00	22,00

Agitación Descendente

100,0	19,50	20,00	19,00	21,50
50,0	15,00	15,00	14,00	16,00
20,0	12,50	15,00	12,50	12,50
10,0	15,00	15,00	15,00	15,00
5,0	20,00	20,00	20,00	20,00
2,5	20,00	20,00	40,00	20,00
1,0	0,00	0,00	0,00	0,00
0,5	0,00	0,00	0,00	S 0,00

Los resultados anteriores indican que la pulpa de maracuyá se comporta como un fluido no newtoniano con características plásticas y los néctares se comportan como fluidos newtonianos

Esto en términos prácticos significa que para empezar a fluir debe aplicársele una fuerza de cizallamiento o agitación la cual es mayor para la pulpa que para los néctares .

Acidez y pH.-

En general durante el almacenamiento de la pulpa y de los néctares no se presentó variación de estos parámetros ni ninguna tendencia definida de cambio tal como se observa en la Tabla #5 y la Tabla #6.

TABLA 5. ACIDEZ TOTAL (ACIDO CÍTRICO ANHIDRO)

Tiempo Almacenamiento (Semanas)	Pulpa (g/100g)	N.Control (g/100 ml)	N.Fortificado (g/100 ml)	N.F + Metab. (g/100 ml)
1	5,78	0,94	0,70	1,06
2	5,57	0,92	0,87	1,07
3	5,17	0,70	0,92	1,06
4	4,61	0,67	0,95	1,00
5	4,73	0,72	1,06	1,06
6	4,75	0,71	1,10	1,10

TABLA 6. pH a 20 °C

Tiempo Almacenamiento (Semanas)	Pulpa	N.Control	N.Fortificado	N.F. + Metab.
1	3,00	3,10	3,30	3,21
2	2,90	2,90	3,30	3,21
3	3,00	3,10	3,30	3,20
4	3,12	2,92	3,15	3,20
5	3,09	3,00	3,21	3,19
6	3,10	3,00	3,16	3,16

Grados Brix y Perdida por Secado.-El contenido de sólidos solubles prácticamente no varió durante el almacenamiento tal como se observa en la Tabla # 7 y en la Tabla #8 .

TABLA 7. SÓLIDOS SOLUBLES (GRADOS BRUX) A 20 °C

Tiempo Almacenamiento (Semanas)	Pulpa	N.Control	N.Fortificado	N.F + Metab.
1	15,00	14,00	7,00	6,80
2	15,00	14,50	6,50	6,60
3	15,00	14,50	6,50	6,60
4	15,50	15,00	6,50	6,60
5	15,50	14,00	6,50	6,60
6	15,50	14,00	6,50	6,60

TABLA 8. PÉRDIDA POR SECADO (% P/P)

Tiempo Almacenamiento (Semanas)	Pulpa	N.Control	N.Fortificado	N.F + Metab.
1	84,33	85,04	92,93	93,34
2	83,62	84,36	92,99	93,29
3	83,11	84,88	92,97	93,28
4	82,80	84,30	92,84	93,28
5	82,78	84,27	92,82	
6	82,80	84,25	92,80	

Cenizas Totales.Los valores correspondientes a pulpa y a nectar no presentaron tendencia alguna y se mantuvieron bastante constantes durante el tiempo del estudio. Los datos pueden observarse en la Tabla #9 .

TABLA 9. CENIZAS TOTALES (% P/P B.H.)

Tiempo Almacenamiento (Semanas)	Pulpa	N.Control	N.Fortificado	N.F + Metab.
1	0,6426	0,2027	0,3518	0,3787
2	0,6316	0,2088	0,3484	0,3484
3	0,6360	0,2087	0,3312	0,3780
4	0,6415	0,1995	0,3480	0,3758
5	0,6416	0,2050	0,348	
6	0,6410	0,2046	0,3458	

Densidad. Se presentó una pequeña diferencia en los valores para la pulpa y para los néctares, sin una tendencia marcada de variación tal como puede observarse en la Tabla # 10.

TABLA 10. DENSIDAD (g/ml) A 20 °C

Almacenamiento (Semanas)	Pulpa	N.Control	N.Fortificado	N.F + Metab.
1	1,0688	1,0571	1,0251	1,0294
2	1,0736	1,0559	1,0212	1,0289
3	1,0728	1,0525	1,0213	1,0286
4	1,0718	1,0601	1,0278	1,0278
5	1,0720	1,0603	1,0276	1,0277
6	1,0723	1,0606	1,0279	1,0280

Contenido Protéico. Estos valores en los néctares si presentaron una diferencia, debida posiblemente a la composición del suero la cual a su vez depende de la composición de la leche de la cual proviene el suero, el tipo de queso y la cuajada a elaborar. Los resultados pueden observarse en la Tabla# 11.

TABLA 11. CONTENIDO PROTÉICO (% P/P)

Tiempo Almacenamiento (Semanas)	N.Fortificado	N.F + Metab.
1	0,4962	0,6753
2	0,5105	0,6720
3	0,5049	0,6667
4	0,5273	0,6625
5	0,5101	
6	0,5017	

Análisis Microbiológico. Según los resultados obtenidos se comprobó que las condiciones del proceso fueron adecuadas para una buena calidad sanitaria lo cual se evidenció en la falta de crecimiento microbiano en los cultivos de control.

Análisis Sensorial .

El mejor porcentaje de aceptación lo presentó el néctar control seguido por el néctar fortificado y estabilizado con metabisulfito y por último el néctar fortificado sin metabisulfito tal como puede observarse en la Tabla # 12 .

TABLA 12. GRADO DE ACEPTACIÓN (%)

Tiempo Almacenamiento (Semanas)	N.Control	N.Fortificado	N.F + Metab.
1	82,95	78,45	83,90
2	85,90	83,85	83,40
3	86,50	83,20	83,10
4	92,50	80,00	82,82
5	90,50	71,45	82,10
6	87,00	65,00	82,06

El tiempo de vida media encontrado para estos néctares fue de cuatro (4) semanas para el néctar fortificado sin metabisulfito y de seis semanas para el néctar fortificado con metabisulfito.

Estos tiempo se determinaron tomando como parámetro las pruebas sensoriales y en ellas se hizo énfasis en el sabor y el aroma.

Considerando finalmente que el tiempo de vida media del néctar fortificado sin metabisulfito de sodio esta determinado por el desarrollo de reacciones químicas, muy probablemente entre los aminoácidos y los carbohidratos presentes los cuales provocaron el daño de las propiedades organolépticas . Esta interpretación esta apoyada en los resultados obtenidos en el ensayo realizado adicionando un bloqueador de los grupos aldehído, lo cual no permite que estos se complejen con los grupos amino de las proteínas impidiendo de esta manera que la reacción tenga lugar con la consiguiente aparición de complejos que afectan el sabor .

En términos generales podemos decir que una selección y clasificación de la fruta (80% de coloración amarilla de la cáscara) es esencial para obtener una pulpa de buena calidad que conserve ,como en este caso, sus características físicoquímicas y sensoriales durante todo el almacenamiento ., las bolsas tubulares de envase (60 g) y la temperatura (-18°C) contribuyeron eficazmente a esto. El néctar fortificado con suero tuvo una vida media de 4 semanas mientras que la estabilización del mismo con metabisulfito extendió este tiempo a seis semanas.

La refrigeración a -5 °C es un método eficaz para la conservación de los néctares .Se comprobó que el suero de leche puede ser empleado con ventajas en la elaboración de

néctares, además se tiene ahora una alternativa para el empleo del suero como subproducto del procesamiento de la leche especialmente en la fabricación de quesos , el cual en la formulación es casi la mitad del producto (48% P/P)

El empleo de aspartame como edulcorante dietético mantiene las calidades del néctar , reduce substancialmente su contenido calórico y ofrece una alternativa para las personas interesadas en disminuir la ingesta calórica por razones médicas o por simple estéticas .

Se encontró que la formulación adecuada para el néctar fortificado y estabilizado con una vida media de seis semanas es como sigue :

Componentes	% P/ P
Pulpa de maracuyá	21,0
Suero de leche	48,0
Aspartame	0,060
Metabisulfito de sodio	0,025
Agua c.s.p.	100,0

Agradecimientos

Agradecemos al Departamento de Farmacia , al Instituto de Ciencia y Tecnología de Alimentos , a todo su personal directivo científico y técnico por la colaboración en el desarrollo de este trabajo .

BIBLIOGRAFIA

1. ITAL, INSTITUTO DE TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, *Maracuyá, Serie de Frutas Tropicales, #9*, Brasil, 1.980.
2. IICA, INSTITUTO INTERAMERICANO DE COOPERACION PARA LA AGRICULTURA, *Manual de Prácticas de Fruticultura*, Costa Rica 1.986.
3. FEDERACION NACIONAL DE CAFETEROS, *El Cultivo del Maracuyá*, Bogotá, 1.987.
4. S. NAGY, P. SHAW, *Tropical and Subtropical Fruit Composition, Properties and Uses*, U.S.A. 1.980. p.50.
5. P. BERNAL, V. DUARTE, *Estudio de Factibilidad para el Desarrollo de una Planta Procesadora de Maracuya para Exportacion*, Trabajo de Grado, Universidad Javeriana Bogota, 1.987.
6. C. SALGADO, *Aprovechamiento del lactosuero en la elaboracion de nectares*, Trabajo de Grado, Universidad Nacional, Bogota, 1.991.
7. ICONTEC, INSTITUTO COLOMBIANO DE NORMAS TECNICAS, *Nectares de Frutas, #659*, Segunda Revision, Bogota, 1.978.
8. MINISTERIO DE SALUD PUBLICA, REPUBLICA DE COLOMBIA, Resolucion #11488, Bogota, Colombia, 1.984.
9. F.S., THATCHER, D.S. CLARK, *Análisis Microbiológico de los Alimentos*, Ed. Acribia, España, 1.973, p.10.
10. R. BUITRAGO, F. VARGAS; *Aspectos Técnicos de la formulaciones de geles de frutas para uso dietético*, Trabajo de Grado, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1.989, p.10.
11. H.G MULLER, *Introducción a la Reología de los Alimentos*, Ed. Acribia, España, 1.977, p.42.
12. G. MAHECHA, *Evaluación Sensorial en el Control de Calidad de Alimentos Procesados*, Universidad Nacional de Colombia, Bogotá, 1.985, p.66.
13. A.O.A.C., Association of Official Analytical Chemist, *Official Methods of Analysis, Fourteen Edition*, Edited by Sidney Williams, Virginia U.S.A., 1.984, p. 413.
14. FAO, *Manual de Métodos de Análisis Químico*, 1980, p. 57.
15. APHA, *American Public Health Association, Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods*, Ed. M.L., Spech Washington D.C., 1.976, p. 91.