

INDICE DE AMINOACIDOS LIBRES Y ESTRUCTURAS CELULARES COMO INDICADORES DE CALIDAD EN JUGOS DE FRUTA

Jesús Rumiche B., Eloísa Hernández F.

Facultad de Farmacia y Bioquímica de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

RESUMEN

Se estudian dos parámetros que, en las Normas Técnicas Peruanas a consultar (ITINTEC), no se han considerado como paradigmas para el control de calidad de jugos de frutas naturales. Estos parámetros: a) índice de aminoácidos libres (IAL) y b) las estructuras celulares (EC) nos aportarían datos cuantitativos y cualitativos para evidenciar genuinidad y calidad. En 11 jugos, preparados a nivel de laboratorio (durazno, fresa, mandarina, mango, manzana, maracuyá, melón, naranja, pera, piña y uva) se ha determinado: a) Sus características celulares microscópicas (método de Wallis) y el b) Índice de aminoácidos libres, a través del índice de formol método oficial de la AOAC. También se aplicaron estos parámetros a 18 jugos industrializados de marcas que se comercializan en el país. Estos resultados se reportan gráficamente en fotografías tomadas al momento de la observación microscópica de sus EC y en cuadros cuyos valores han sido sometidos a análisis estadísticos. Estos indican que el índice de formol, expresado como IAL y la presencia de EC son independientes ($r=0,2587$) y que en ausencia de EC, el índice de formol adquiere un carácter confirmatorio acerca de la genuinidad de la materia prima empleada en la elaboración de jugos. En los jugos industrializados se reportan cantidades dosables de nitrógeno amínico, aunque los valores están por debajo de los obtenidos a partir de jugos de fruta preparados en laboratorio.

Palabras clave: Estructuras celulares, indicadores de calidad, jugos de fruta

ABSTRACT

Two parameters not considered as paradigms for quality control of natural fruit juice in the Peruvian Technical Norms are studied here. These parameters a) free amino acid index (FAI) and b) cellular structures (CE), would contribute with quantitative and qualitative data to evidence genuinely and quality. In 11 juices prepared at lab level according to pH, acidity and soluble solids specifications and of high consume (peach, strawberry, mandarin orange, mango, apple, maracuya, orange, melon, pear, pineapple and grape) it has been determined: A) the microscopic cellular characteristics (Wallis method) and b) free amino acid index, by means of the formalin index (an A.O.A.C. official method). The same parameters were analyzed in 18 manufactured trademark juices that are commercialized in the country. This result is reported graphically in photographs taken at the moment of CE microscopic observation and values reported in tables submitted to statistical analysis. These ones indicate that the formalin index, expressed as a free amino acid index in the presence of cellular structures, is independent ($r=0,2587$) and that in absence of cellular structures, the free amino acid index acquires a confirmative character about the genuinely of the raw materials employed in juice manufacture. In manufactured juices, quantifiable amounts of aminic nitrogen are reported, although these values are below the ones obtained with laboratory prepared fruit juices.

Key words: Cellular structures, fruit juice, quality control

INTRODUCCIÓN

Actualmente, en el Perú, la comercialización de productos a base de frutas, procedentes de diferentes países se ha incrementado; sobre todo el consumo de jugos de frutas no fermentados (1). Sin embargo, la legislación bromatológica sobre jugos de frutas es muy limitada (2, 3, 4) y no garantizan al consumidor la genuinidad de la materia prima empleada en su fabricación, por eso se hace necesario: a) Establecer estándares de calidad microscópicas; b) Cuantificar aminoácidos libres a través de la determinación del índice de formol y c) Proponer el uso de técnicas analíticas microscópicas en el control de calidad de jugos, con la finalidad de establecer parámetros indicadores de la genuinidad de la materia prima.

MATERIAL Y MÉTODOS

Las muestras fueron: 11 jugos de fruta (5) naturales, preparados a nivel de laboratorio, de durazno (*Prunus persica*), fresa (*Fragaria vesca*), mandarina (*Citrus nobilis*), mango (*Mangifera indica*), maracuyá (*Passiflora edulis*), manzana (*Pyrus malus*), melón (*Cucumis melo*), naranja (*Citrus sinensis*), pera (*Pyrus communis*), piña (*Ananas comosus Merr*) y uva (*Vitis vinifera*) y 18 jugos de fruta industrializados y comercializados en el mercado nacional.

A.- Preparación de jugos de fruta en el laboratorio

El jugo se obtuvo de acuerdo a las características de cada fruta (6) así a la manzana, pera, durazno y mango se les hizo un escaldado, por 2 minutos, antes de extraer el jugo usando un extractor de jugos; a la naranja y mandarina se les aplicó extrusión y filtración en un extractor de cítricos, para retener ollejos y semillas; a la piña, fresa y uva, directamente en extractor, el melón y maracuyá se licuaron antes de tamizar.

Se trabajó con 3 jugos de frutas obtenidos con frutas de diferente grado de maduración (verde, pintón y maduro), tratando de obtener un jugo de acuerdo a las especificaciones físico-químicas (pH, acidez, sólidos solubles) dadas por ITINTEC (3) para piña, naranja, manzana y maracuyá, Para los otros jugos se adecuaron a normas internacionales (7,8,9,10). A cada uno de los jugos, se les realizó ensayos por triplicado

B.- Identificación de estructuras celulares en jugos preparados a nivel de laboratorio.

Jugos preparados a nivel de laboratorio: (9,11) A 100 ml de jugo obtenido según lo indicado en ítem A, se centrifuga a 2500 rpm por 5 minutos y en el sedimento se realiza el análisis cualitativo (10,11) (se identifican estructuras celulares) y cuantitativo (porcentaje de sedimentación) (3). Para examinar al microscopio el sedimento, se preparan láminas portaobjeto, por extensión, se cubre con una laminilla cubre objeto y se le añade una gota de azul de algodón, si es necesario. Para manzana, se le adiciona 1 gota de lugol, para evidenciar los gránulos de almidón, característicos de esta fruta. Se observan a un aumento de 10X y luego a 100X.

C.- Características físico- químicas de los jugos naturales. (12,13,14,15)

Determinaciones físicas: pH en unidades potenciométricas y sólidos solubles en grados Brix a 20° C.

Determinaciones Químicas:

Acidez Total: Expresada en g% de ácido cítrico (3,15) a excepción del jugo de manzana que se expresa en g% de ácido málico y de la uva en g% de ácido tartárico.

A 25 ml de jugo se le determinó el pH inicial y se tituló con NaOH 0,1N hasta un pH 8,1 - 8,2. Para los cálculos se utilizaron 0,064 = miliequivalentes de ácido cítrico, 0,067 = miliequivalentes en ácido málico y 0,075 miliequiv en ácido Tartárico según sea la fruta empleada.

Índice de formol (14,15) Se basa en la fijación del grupo amino de los alfa aminoácidos mediante la reacción del formaldehído 40% sobre los aminoácidos neutros. Los grupos amino son fijados como derivados del metileno o como productos similares; luego, los grupos carboxilos pueden titularse con NaOH 0,1N.

Procedimiento: A 25 ml de jugo natural se titula su acidez, con NaOH 0,1N, hasta pH 8,1 - 8,2 añadir 10 ml de formol al 40% (previamente neutralizado a pH 8,1 con NaOH 0,1N). Dejar por 1 minuto. Titular nuevamente con NaOH 0,1N hasta pH 8,1 - 8,2.

$$IF \% = \frac{g \times f}{v} \times 100g = \text{ml de gasto total de NaOH 0,1N}$$

f = factor de corrección de la normalidad
v = volumen de muestra.

Cuando el gasto para determinar la acidez total es mayor de 50 ml, (naranja, maracuya, fresa) se adiciona 15 ml de formol al 40%.

Índice de aminoácidos libres (12, 13, 14)
Valor calculado sobre la base del IF %.

I.F. x 1,4 = índice de aminoácidos libres

C.- Jugos industrializados: Se les realiza las mismas determinaciones de los ítem. A y B, a fin de comparar los resultados con los obtenidos en jugos de fruta preparados en el laboratorio.

RESULTADOS

A.- Identificación de Estructuras celulares:

Se presentan en fotografías, con la respectiva descripción de la observación microscópica y que constituye un estándar referencial.

Identificación De Estructuras Celulares

1.- Jugo de durazno : *Prunus pérsica* L. (Fig. 1-2)

Mesocarpio: Células grandes en forma de saco, con paredes finas, conteniendo cromatóforos. Algunas contienen rosetas de cristales en agujas de oxalato de calcio. Haces fibrovasculares formados por: vasos espiraloides, vasos puntuados y reticulares, fibras esclerenquémicas con paredes finas y por fibras cristalíferas.

En la sub epidermis: Se presentan células poligonales pequeñas con paredes gruesas en forma de cuentas con espacios intercelulares.

Epicarpio: Células poligonales con paredes en forma de cuentas, interceptadas por numerosos pelos largos y cortos, con paredes gruesas y lumen estrecho, afilados en la base y extremidad.

2.- Jugo de fresa: *Fragaria vesca* L. (Fig. 3-4)

En el receptáculo: Células poligonales con paredes finas, separadas por estomas, pelos largos agudos, unicelulares con paredes gruesas y ligero estrangulamiento en la base.

Estigma: Células grandes. En la pulpa (parénquima), células redondeadas con espacios intercelulares; haces constituídos por vasos anulares y espiralados.

Estilo: En la epidermis, células transparentes, vasos anulares y espiralados acompañados por fibras cristalíferas con cristales de oxalato de calcio en forma de roseta.

3.- Mandarina: *Citrus nobilis* Lour var. *Deliciosa Swingle* (Fig. 5-6)

Color rojo anaranjado intenso, su peculiaridad es su aromático sabor (aceites esenciales). Su

estructura microscópica es similar a la naranja común excepto, que los granos de clorofila se encuentran al interior de la epidermis y cotiledones.

4.- Jugo de Mango: *Mangífera indica* L. (Fig. 7-8)

El pericarpio tiene 5 capas bien delimitadas:

- a) Epicarpio: De células pequeñas con paredes gruesas y cutícula y lumen circular
- b) Hipodermis: Células grandes en varias hileras, con paredes porosas, gruesas; también pasajes oleoresinosos.
- c) Mesocarpio: Las células de la pulpa, son en forma de saco conteniendo ocasionalmente granos de almidón y cromatóforos naranja y paquetes fibrovasculares que van a atravesar el endocarpio.
- d) Endocarpio: de fibra y paquetes fibrovasculares, que se extienden en varias direcciones, las fibras de paredes gruesas y a menudo grotescas; cristales en forma de fibra y roseta.

La asociación de los haces fibrovasculares con las células de la pulpa, le dan una peculiar textura.

5.- Jugo de Manzana: *Pyrus malus* (Fig. 9-10)

- A. En el jugo límpido sólo ocasionalmente son observados elementos histológicos.
- B. En el jugo turbio, con sólidos insolubles se observa:

Células grandes en forma de saco, con granos de almidón pequeños, esféricos y ovoides; haces fibrovasculares con fibras esclerenquémicas. En la base del pedúnculo, células pétreas de varias formas. Ocasionalmente, células más o menos cuadriláteras, muchas veces con poros; células madres con paredes gruesas divididas por paredes finas en células hijas (epidermis).

En la hipodermis se encuentran células isodiamétricas con paredes gruesas y espacios intercelulares grandes, en los ángulos.

Fibras esclerenquémicas cruzadas, presencia de pelos típicos de formas diversas, tanto en la cavidad central de la fruta y en las grietas del endocarpio.

Los pelos, algunos son unicelulares, con extremidades dilatadas y paredes finas y lisas; otros son articulados con células ásperas y lisas; cuando son ásperas pueden ser verrugosas y ramificadas.

6.- Jugo de Maracuyá: *Passiflora edulis*

Células de paredes finas alargadas longitudinalmente con contenido granuloso, pueden o no contener granos de almidón pequeños de acuerdo con la especie. Ocasionalmente se pueden encontrar: células poligonales grandes con paredes finas revestidas por cutícula gruesa del endocarpio; del mesocarpio se encuentran células de contorno irregular, con paredes finas (parénquima esponjoso) , así como haces fibrovasculares.

7.- Jugo de Melón: *Cucumis melo* L.

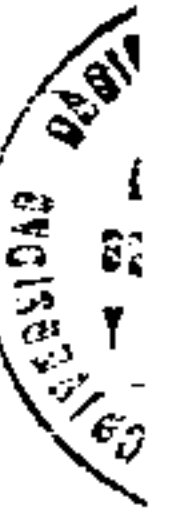
Epicarpio: Células transparentes con paredes gruesas y radiales, prominencias y pelos de dos tipos; la apariencia de malla es debida a sus células porosas (de corcho). Los pelos cortos de las frutas inmaduras, van desapareciendo a medida que van madurando, los pelos verrugosos , articulados y puntiagudos persisten en la madurez.

Mesocarpio: En la capa media hay células grandes con numerosos paquetes de fibras vasculares y tubos de latex ; en la capa interna , células parenquimáticas redondeadas de paredes finas.

Endocarpio: Células alargadas con paredes finas. El endocarpio está fuertemente unido al mesocarpio.

8.- Jugo de naranja: *Citrus sinensis* (Fig. 11-12)

Células alargadas y células isodiamétricas, de paredes finas conteniendo cromatóforos (vesículas).



Ocasionalmente se encuentra células ramosas típicas, estrechas de contorno irregular procedentes del parénquima esponjoso del mesocarpio y células alargadas con paredes porosas y nudosas del endocarpio.

9.- Jugo de Pera: *Pyrus communis* L. (Fig. 13-14)

Bloque de células pétreas isodiamétricas o alargadas con paredes gruesas y canales ramificados, bien distinguibles, rodeadas de células amielíferas alargadas formando roseta. También células cristalíferas pequeñas conteniendo cristales prismáticos de oxalato de calcio así como ejes fibrovasculares constituidos por fibras esclerenquemáticas, con vasos en espiral, punteados y reticulares.

10.- Jugo de Piña: *Ananas comosus* (Fig. 15-16)

En el jugo turbio se observan células grandes redondeadas, algunas células mayores conteniendo haces de cristales aciculares, alargados de oxalato de calcio. Del endocarpio, se observan células alargadas de paredes porosas, cruzadas por células finas de paredes lisas. Los haces fibrovasculares, están constituidos por vasos que contienen espirales simples y dobles, acompañados por numerosas fibras con paredes porosas.

11.- Jugo de Uva: *Vitis vinífera*

En jugo turbio se observa células redondeadas grandes, con paredes finas, conteniendo granulaciones y pequeños cristales de bitartrato de potasio y otros; asimismo, presenta haces fibrovasculares con vasos finos reticulares, espiralados y puntiagudos acompañados por fibras largas y cristalíferas. Ocasionalmente, células poligonales con paredes gruesas, recubiertas por cutícula y células poligonales del epicarpio y células con paredes porosas y pigmentadas de la subepidermis.

B.- Determinaciones físico - químicas (Cuadro 1 y 2)

Se reportan los datos obtenidos en jugos de 11 frutas, preparados a nivel de laboratorio, y que proponemos como estándares referenciales. Los jugos que presentan mayor porcentaje de índice de aminoácidos libres, son los de mandarina y maracuyá y los jugos con menor contenido, son los de manzana y piña. En general, todos los jugos industrializados analizados, a excepción del jugo de piña y uva, presentan valores muy por debajo de los valores referenciales.

C.- **Análisis de datos:** se aplica la prueba "r" de Pearson para las siguientes variables:

- 1.- índice de aminoácidos libres y pH, obteniéndose una "r" de 0,3946
- 2.- índice de aminoácidos libres y porcentaje de sedimentación (estructuras celulares), reportándose una "r" de 0,2587.

DISCUSIÓN

Los estándares de referencia propuestos, obtenidos experimentalmente a partir de jugos de fruta natural (índice de aminoácidos libres y características microscópicas celulares), constituyen un aporte importante al control de calidad de productos elaborados en base a frutas naturales.

A fin de determinar grado de asociación entre ambos estándares propuestos, se sometieron a pruebas de grado de correlación, determinándose que son valores independientes y por lo tanto, son parámetros que deben ser considerados dentro de los requisitos mínimos de control de calidad de jugos de fruta naturales.

En los jugos de fruta, preparados a nivel de laboratorio, según la definición dada por ITINTEC, siempre se obtuvo presencia de

Cuadro 1. Características Físico – Químicas de jugos de fruta naturales preparados a nivel de laboratorio.

JUGO DE FRUTA NATURAL	Características físicas			Características químicas		
	pH	Estruct. Celul.	Grados Brix	Acidez Total	Índice de Formol	Ind. Aminoac. Libres
	Unid. potenc.	(% sediment.)	(20°C)	(% ac. cítrico)	(%)	Mg. % N amin.
1.- Durazno	4,30	100*	13	0,4087	25,07	35,10
2.- Fresa	3,20	70	8	0,9153	11,85	16,58
3.- Mandarina	4,20	25	14	0,6010	36,50	51,00
4.- Mango	3,90	90	17	0,5467	9,50	13,29
5.- Manzana**	3,00	75	12	0,4732	2,50	3,49
6.- Maracuyá	2,85	25	17	4,80	28,77	40,29
7.- Melón	6,70	90	10	0,0805	26,03	36,55
8.- Naranja	3,65	12	12	1,39	19,39	27,14
9.- Pera	3,75	90	12	0,2877	7,17	10,00
10.- Piña	4,00	20	12	0,3080	7,20	9,13
11.- Uva***	3,00	65	15	0,6618	7,15	10,00

Correlación: Ind. Aminoac. libres vs pH = 0,3948

Ind. Aminoac. Libres vs estructuras celulares = 0,2587

* No hay separación de fases después de centrifugar a 2500 rpm por 5 minutos

** Acido málico

*** Acido Tartárico

Cuadro 2. Índice de Formol y de Aminoácidos libres de jugos industrializados

JUGO DE FRUTA	Ind. de formol	I. Aminoac libres	Jugo de fruta	Ind. de formol	I. Aminoac. libres
1.- Durazno			4.- Uva		
a	6,22	8,70	a	3,77	5,30
b	2,36	3,30	b	17,92	25
c	5,56	7,78			
2.- Naranja			5.- Mango		
a	11,41	15,97	a	0,75	1,06
b	1,50	2,11			
c	9,80	13,72			
d	8,86	12,40	6.- Mandarina		
e	8,67	12,13	a	7,92	11,08
3.- Piña			7.- Manzana		
a	7,63	10,68	a	1,89	2,64
b	13,69	19,66	b	2,36	3,30
c	3,21	4,49			
d	3,68	5,15			

DURAZNO: *Prunus persica*



Fig. N° 1 - DURAZNO
VASOS ESPIRALOIDEOS - FIBRASCLERENQUEMATICAS CON PAREDES FINAS
AUMENTO 3 - VELOC. 125 LUZ 8



Fig. N° 2 - DURAZNO
CELULAS POLIGONALES
AUMENTO 2 - VELOC. 80 LUZ 8

FRESA: *Fragaria vesca*

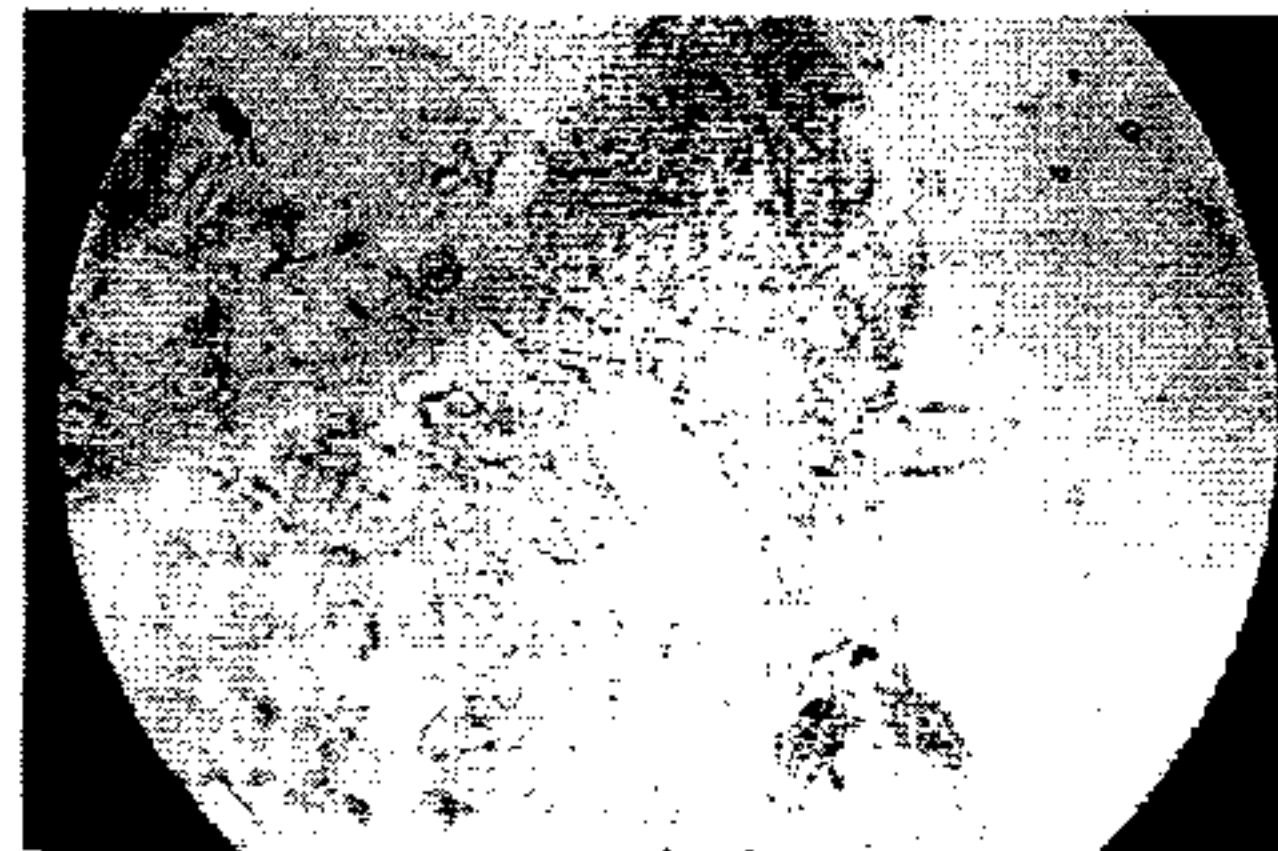


Fig. N° 3 - FRESA
CELULAS POLIGONALES (RECEPTACULO) DE EPIDERMIS
AUMENTO 2 - VELOC. 80 LUZ 9



Fig. N° 4 - FRESA
CELULAS DE LA EPIDERMIS DEL RECEPTACULO CON PELOS GRANDES PUNTEACUDOS DE PAREDES GRUESAS
AUMENTO 2 - VELOC. 125 LUZ 10

MANDARINA: *Citrus nobilis*

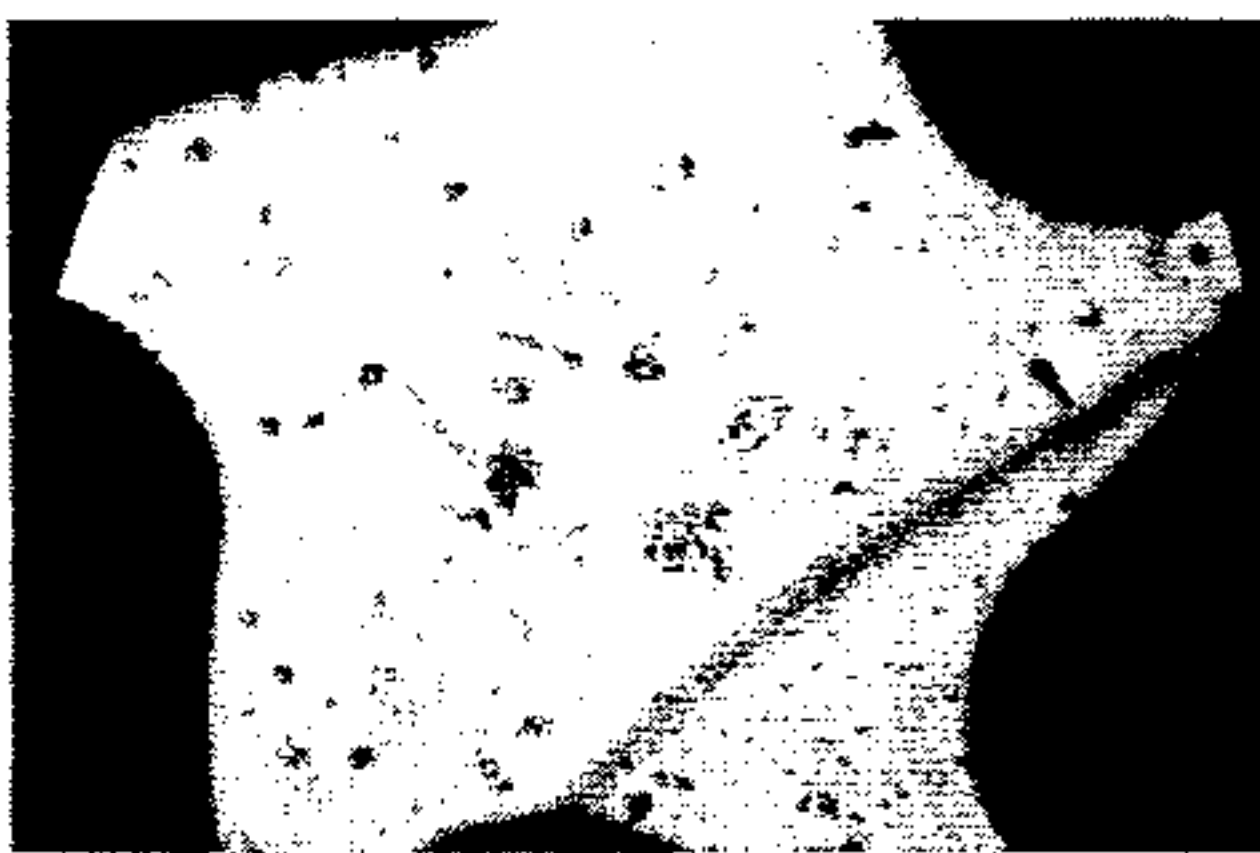


Fig. N° 5 - MANDARINA
CELULAS ISODIAMETRICAS CON CROMOFOROS - CRISTALES
AUMENTO 2 VELOC. 125 - LUZ 10

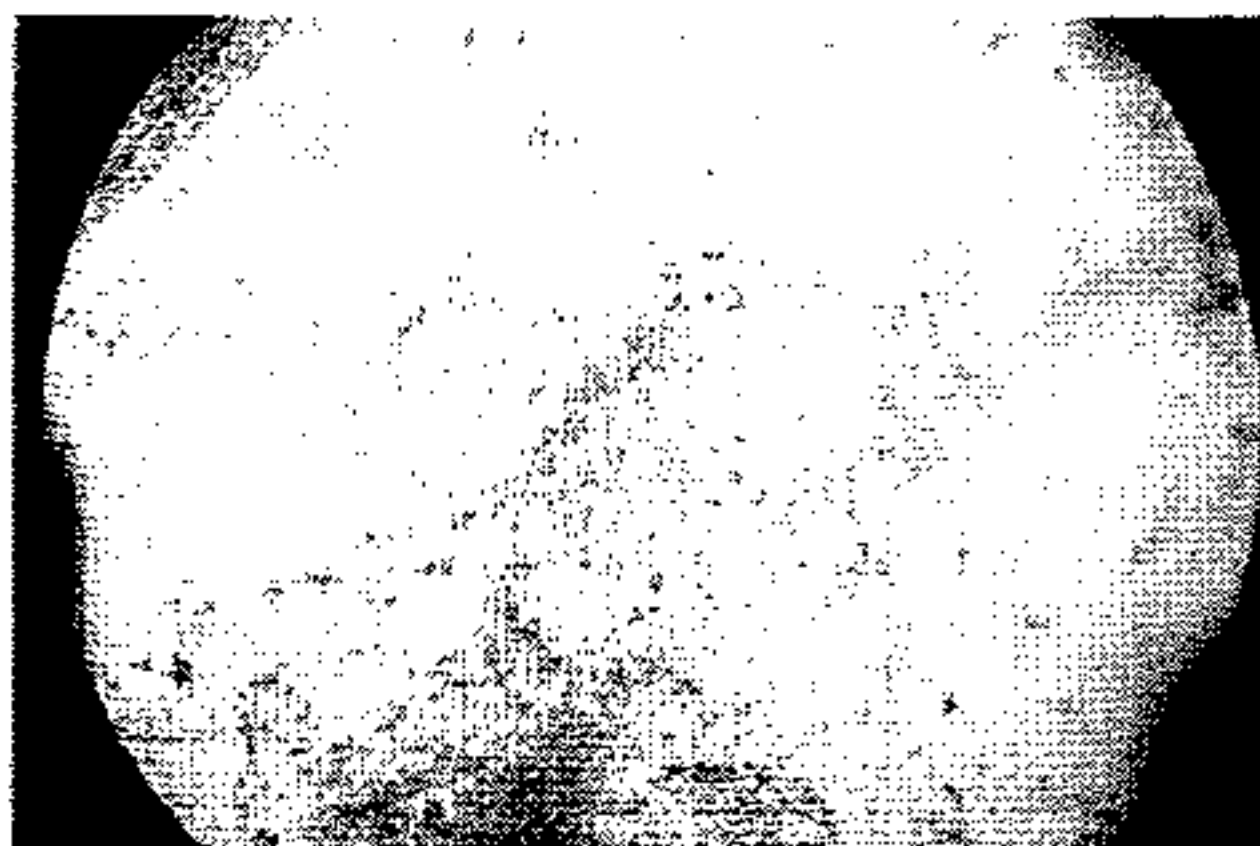


Fig. N° 6 - MANDARINA
CELULAS RAMOSAS TÍPICAS CON CROMOFOROS Y CRISTALES - ACEITES
AUMENTO 2 VELOC. 80 - LUZ 8



Fig. N° 7 - MANGO
FIBRAS CARACTERISTICAS (CONTRASTE)
AUMENTO 2 - VELOC. 80 LUZ 8

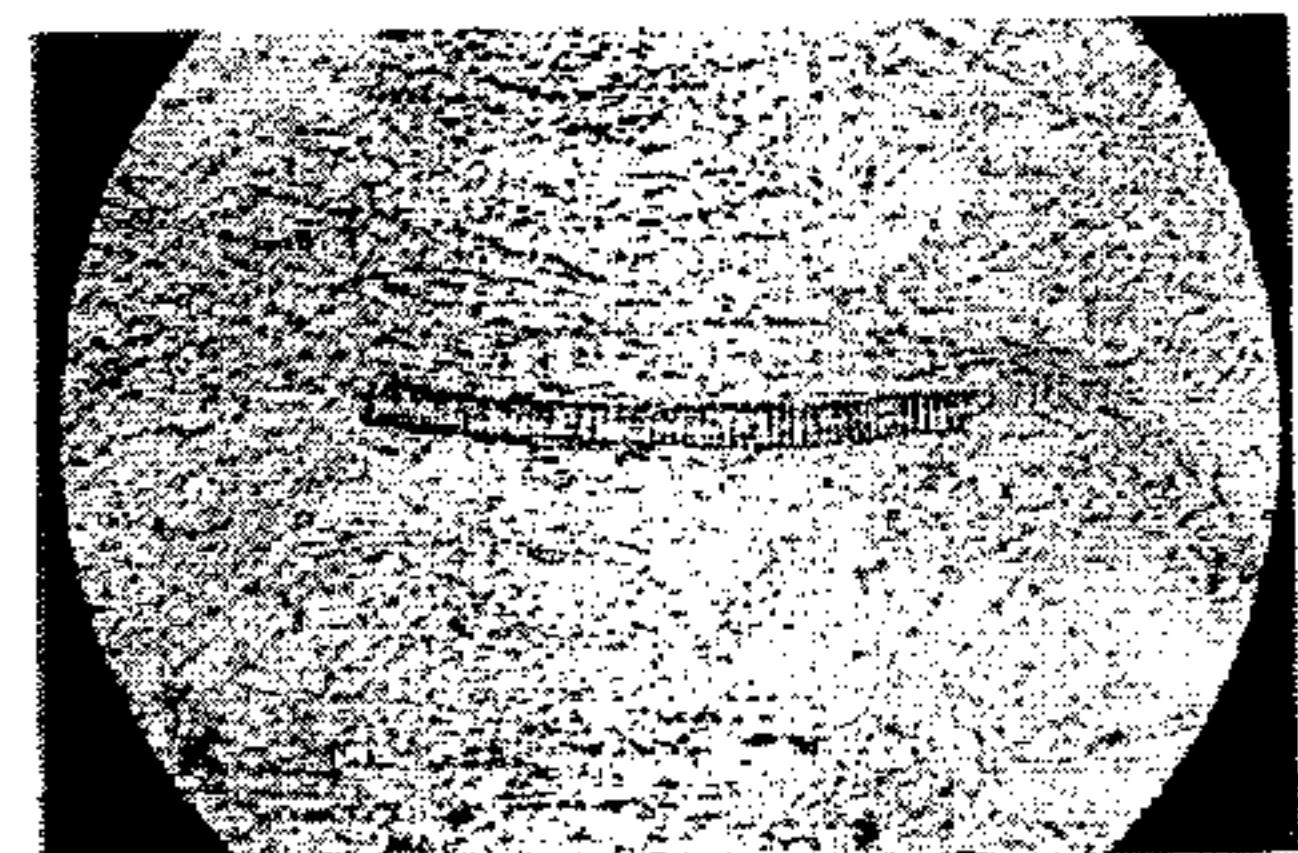


Fig. N° 8 - MANGO
VASOS ESPIRALADOS CON CELULAS
AUMENTO 3 - VELOC. 80 (CONTRASTE)

MANDARINA: *Citrus sinensis*



Fig. N° 9 - MANZANA
TEJIDO MESOCARPIO CELULAS - FIBRAS - GRANULOS DE ALMIDON CON CONTRASTE
AUMENTO 1 - VELOC. 125 LUZ 10



Fig. N° 11 - NARANJA
CELULAS ALARGADAS E ISODIAMETRICAS - CRISTALES Y CROMATOFOROS
AUMENTO 3 - VELOC. 60 LUZ 10



Fig. N° 10 - MANZANA
PELOS TIPICOS ARTICULADOS
AUMENTO 3 - VELOC. 125 8

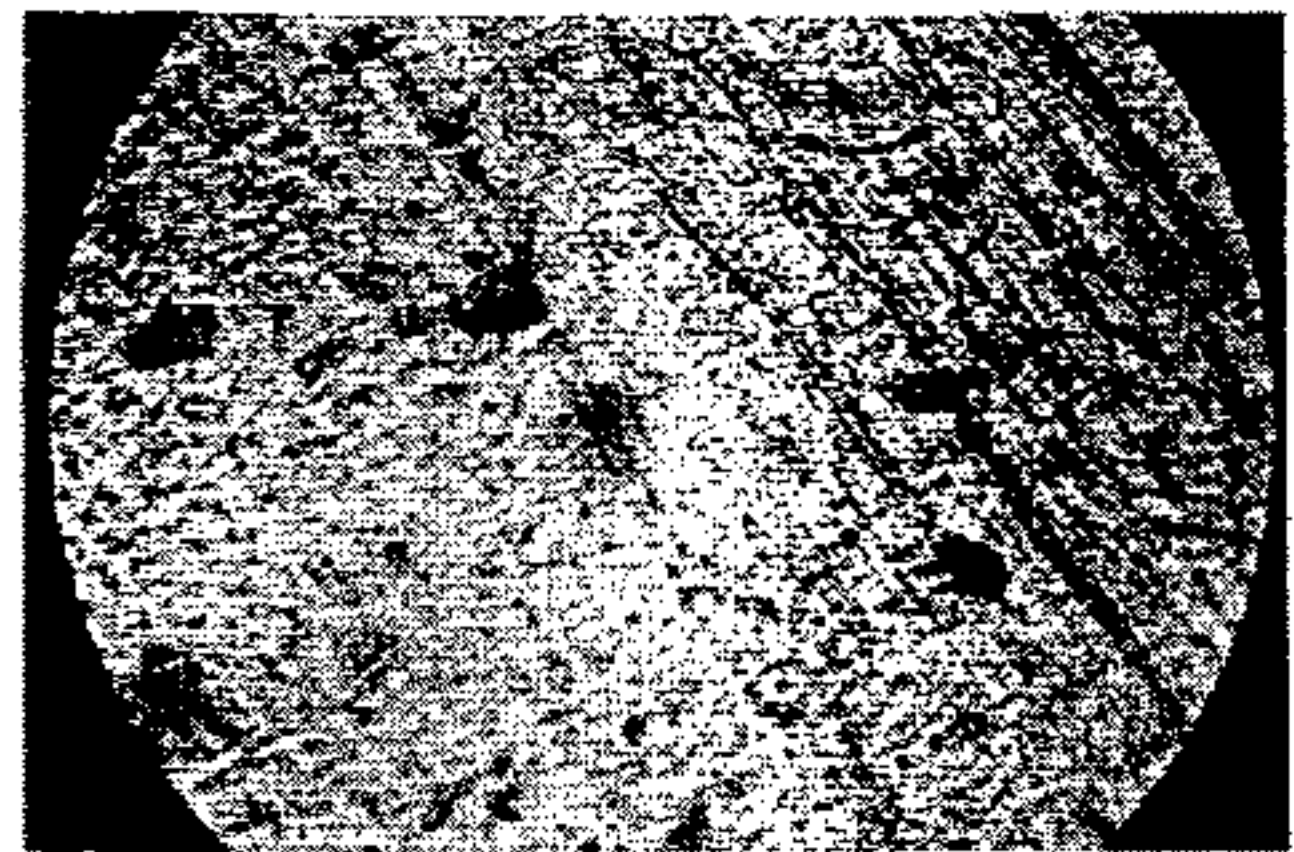


Fig. N° 11 - NARANJA
CELULAS ALARGADAS E ISODIAMETRICAS - CRISTALES Y CROMATOFOROS
AUMENTO 3 - VELOC. 60 LUZ 10

PERA: *Pyrus communis*



Fig. N° 13 - PERA
CELULAS GRANDES Y CELULAS PETREAS
AUMENTO 3 - VELOC. 80 LUZ 10

PIÑA: *Ananas comosus*



Fig. N° 15 - PINA
LAMINAS DE CELULAS ALARGADAS CRUZADAS POR CELULAS FINAS (ENDOCARPIO)
AUMENTO 2 - LUZ. 8 VELOC 125

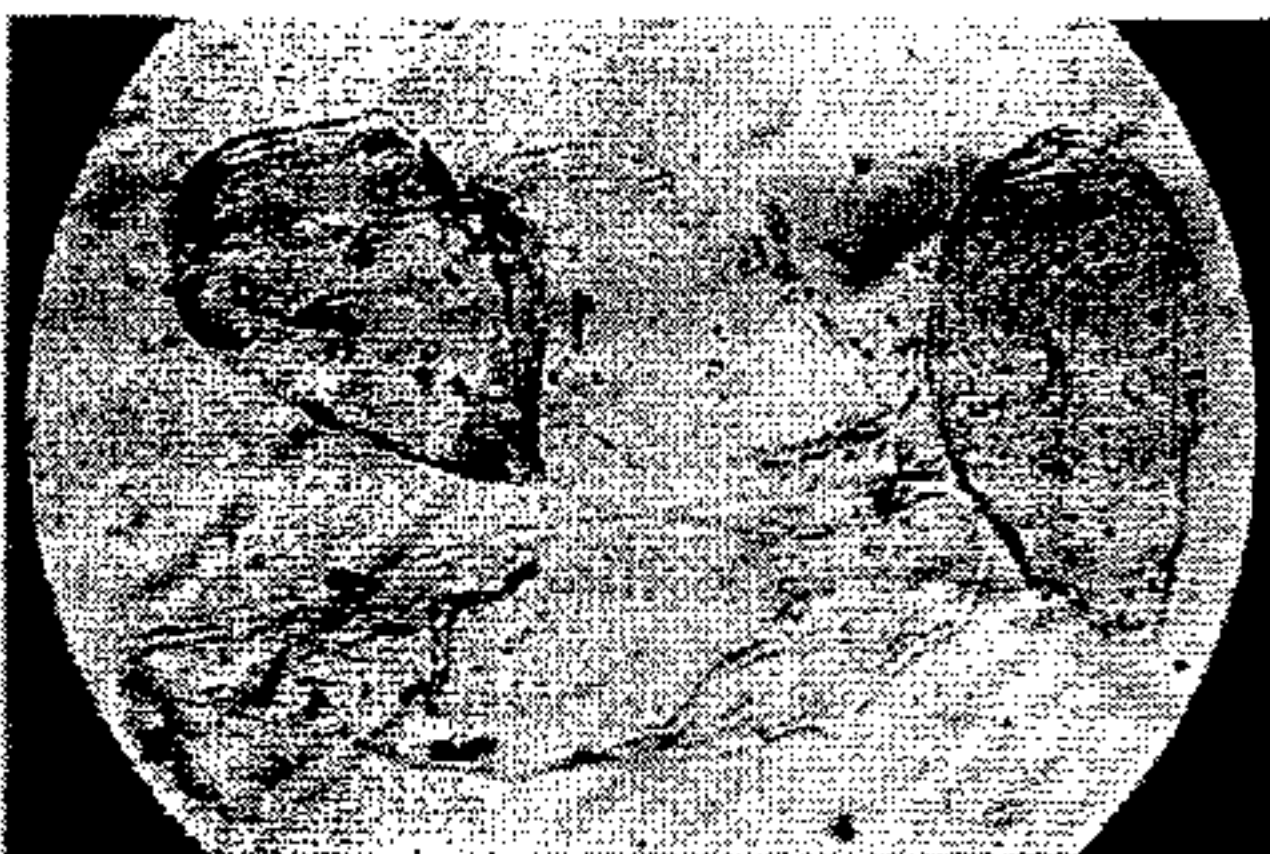


Fig. N° 14 - PERA
CELULAS GRANDES - CONTRASTE
AUMENTO 3 - VELOC. 80 LUZ 10



Fig. N° 16 - PINA
CAPAS DE CELULAS
AUMENTO 3 - LUZ. 8 VELOC 125

estructuras celulares, características y tipificadoras de las frutas de las cuales procedían; la diversidad de estructuras celulares se repite pero cada fruta adquiere una configuración típica que permite diferenciarlas entre sí, lo cual nos lleva a proponer estas características celulares microscópicas como parte de las Normas Legales para establecer calidad de productos elaborados a partir de frutas. En los jugos industrializados, a excepción del jugo de manzana, todos presentaron iguales estructuras microscópicas identificadas para los jugos referenciales, pero en menor número por campo, lo que indica que el factor de dilución es mayor.

La ausencia de estructuras celulares en jugos de manzana, se debe a que son jugos clarificados o preparados a partir de jugos concentrados deshidratados.

Como se demuestra, el índice de formol, como expresión del índice de aminoácidos libres y la presencia de estructuras celulares, son dos parámetros independientes y en ausencia de estructuras celulares, como podría suceder en el caso del jugo de manzana industrializado, no necesariamente significa que no estaría elaborado con materia prima natural, pues el valor de índice de formol podría demostrar genuinidad de la materia prima. De este modo, el índice de formol adquiriría un carácter confirmatorio, cuando hay ausencia de estructuras celulares. La presencia de estructuras celulares atípicas para la fruta que se investiga, podría estar sugiriéndonos que estamos frente a un caso de adulteración. Los bajos valores de índice de aminoácidos, significaría que, a pesar de ser preparados a partir de fruta natural, los parámetros establecidos como norma, para su control de calidad (pH, sólidos solubles, acidez etc) son alcanzados con aditivos químicos (esencia, ácido ascórbico, carboximetil celulosa).

CONCLUSIONES

- 1.- Los parámetros de Índice de formol, como expresión de Índice de aminoácidos libres, y la presencia de estructuras celulares, son independientes entre sí.
- 2.- Ambos parámetros son indicadores de calidad, objetivos y valederos para determinar genuinidad de la materia prima, con la cual se elaboran jugos de fruta declarados como naturales.
- 3.- El índice de formol, adquiriría un carácter confirmatorio, en ausencia de estructuras celulares.
- 4.- Por los resultados obtenidos, se propone que ambos parámetros se adopten como patrones referenciales en las Normas Técnicas Peruanas a consultar para evidenciar calidad de jugos de fruta.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. **Saenz C. 1987.** *Rev. Chilena de Nutrición.* Abril Vol. 15, Nº 1: 9 - 16
2. **Ministerio de Salud .1990.** Dirección Técnica de Salud Ambiental. Legislación Sanitaria sobre aspectos de Salud ambiental. Tercera Edición. Tomo II - Lima .
3. **Instituto de Investigación Tecnológica Industrial y de Normas Técnicas (ITINTEC). 1976.** Normas Técnicas Nacionales Enero. Lima
4. **OPS/OMS/FAO. 1990.** Legislación Alimentaria en Latinoamérica. Editores : Cruz B, Quevedo F Belotto A. Industria Editorial Mexicana. México DF .
5. **Winton A, Winton K. 1935.** The structure and composition of foods. Vol II, Part. II. Press of Braunworth – brooklyn – New York.
6. **Paltrinieri G, Figuerola F, 1993.** Manual para el curso sobre

- procesamiento de frutas y hortalizas a pequeña escala en el Perú. Oficina Regional De la FAO para América Latina y el Caribe. Lima - Perú
7. **España, Ministerio de Sanidad y Consumo.1989.** Código alimentario Español y su desarrollo normativo. Normas Generales de Calidad. Reglamentaciones Técnico- sanitarias. Edición Enero . Vol. XIV: Frutas y derivados. Madrid.
 8. **Programa Conjunto FAO/OMS.1993.** Comisión del Codex Alimentarius. Normas alimentarias. Segunda edición . Roma
 9. **OPS/OSP Oficina regional OMS-1968.** Normas sanitarias de alimentos. Aprobadas por el consejo de Ministros de Salud Pública de Centro América y Panamá. Tomo I y II. Edición Enero
 10. **Código Alimentario Argentino actualizado.1995.** Capítulo XII. Editorial La Canal y Asoc. Buenos Aires .
 11. **Wallis T. 1968** Microscopía analítica. Trad. por Gallegos J. Editorial ACRIBIA . Zaragoza.
 12. **A.O.A.C.1980.** Official methods of Analyses. Edit. Horwitz W. Thirteen edition. Washington DC.
 13. **Egan H, Kirk R, Sawyer R. 1991.** Análisis Químico de alimentos de Pearson y compañía. Editorial Continental S.A. de C.V. México D.F. 4ta impresión
 14. **Lotti G. 1986.** .Análisis Químico Agrario. Trad. Por García Torres. Edit.ALHAMBRA S.A. Madrid.
 15. **Madrid A. 1994.** Métodos oficiales de análisis de los alimentos COEDITAN: A. Madrid Vicente. Edic. /Mundi Prensa Libros S.A. Madrid.