

## Variación de parámetros fisicoquímicos del jugo de manzana en una vida de anaquel de tres meses

S.G. García-Espitia<sup>1</sup>, K.K. García-Aguirre\*<sup>1</sup>, H. Inchaurregui-Méndez<sup>1</sup> y P.S. Alcalá-González<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería Campus Zacatecas, Departamento de Formación Específica, Calle Circuito del Gato No. 202. Col. Ciudad Administrativa, C.P. 98160, Zacatecas, Zacatecas, México. \*[karol.karobiote@gmail.com](mailto:karol.karobiote@gmail.com)

### RESUMEN

Se evaluó la variación en un lapso de algunas propiedades fisicoquímicas, la capacidad antioxidante y contenido de vitamina C de un jugo de manzana (*Malus domestica Borkh Grimes Golden*) del suroeste de Zacatecas. El fruto tenía un nivel de maduración de 13. El jugo presentó una acidez titulable de 0.25 g ácido málico/100 mL y pH de 4.53. Los grados Brix antes y después de la pasteurización convencional fueron 13 y de 14.5 respectivamente. La capacidad antioxidante aumentó 44.9% en el jugo pasteurizado al final de la evaluación y un 32% en el jugo sin pasteurizar; los carbohidratos totales sin pasteurizar de 228 mg/mL y con pasteurizar de 1300 mg/mL, después del tiempo de almacén los valores fueron 2696 y 4600 respectivamente. Se identificaron mohos y levaduras a partir de los 51 días de almacén en el jugo sin pasteurizar. Al evaluar las propiedades nutricionales del jugo de manzana respecto al su tiempo de almacenaje el nutriente que más varío en el tiempo de almacén es la Vitamina C que disminuyó un 47 % en el producto pasteurizado respecto al contenido inicial. En términos generales, el jugo evaluado mantiene su calidad nutricional tras 90 días de almacén.

**Palabras clave:** Frutas, manzana, jugos, actividad antioxidante, vitamina C, vida de anaquel.

### ABSTRACT

The variation in a period of time of some physicochemical properties, antioxidant capacity and vitamin C content of an apple juice (*Malus domestica Borkh Grimes Golden*) from southwestern Zacatecas was evaluated. The fruit had a ripening level of 13. The juice had a titratable acidity of 0.25 g malic acid/100 mL and a pH of 4.53. Brix degrees before and after conventional pasteurization were 13 and 14.5, respectively. The antioxidant capacity increased 44.9% in the pasteurized juice at the end of the evaluation and 32% in the unpasteurized juice; the total carbohydrates without pasteurizing of 228 mg/mL and with pasteurizing of 1300 mg/mL, after the storage time the values were 2696 and 4600 respectively. Molds and yeasts were identified from 51 days of storage in unpasteurized juice. When evaluating the nutritional properties of apple juice with respect to its storage time, the nutrient that varies most in storage time is Vitamin C, which decreased by 47 % in the pasteurized product with respect to the initial content. In general terms, the evaluated juice maintains its nutritional quality after 90 days of storage.

**Keywords:** Fruits, apple, juices, antioxidant activity, vitamin C, shelf life.

## INTRODUCCIÓN

La industria alimentaria intenta ofrecer al consumidor una gran variedad de alimentos durante todo el año que sean de buena calidad y con una mayor duración de vida útil, por este motivo, se ha innovado en el desarrollo de tecnologías de conservación como la aplicación de procesos térmicos en donde se encuentra la pasteurización. La NOM-130-SSA1-1995, Bienes y servicios. Alimentos envasados en recipientes de cierre hermético y sometidos a tratamiento térmico. Disposiciones y especificaciones sanitarias define la pasteurización un “tratamiento térmico que generalmente se realiza a temperatura por debajo de los 100°C y se aplica para la destrucción de microorganismos patógenos viables y la inactivación de enzimas de algunos alimentos líquidos”. Actualmente se pasteurizan gran cantidad de alimentos como refrescos, cerveza, helados, lácteos, ovoproductos y zumos de frutas. Sin embargo, a pesar de los beneficios del tratamiento térmico, una serie de cambios tienen lugar en el producto que altera su calidad final, por ejemplo, sabor, color, textura y aspecto general (Barbosa & Bermúdez, 2010).

En la actualidad los consumidores están buscando en sus alimentos, características similares al alimento fresco, junto con alta calidad sensorial y alto contenido nutricional. Por este motivo se proponen alternativas de pasteurización que sean capaces de preservar los atributos de calidad nutricional del alimento, bajo costo y amigables con el ambiente (Barbosa & Bermúdez, 2010).

La Norma CX-STAN 247-2005 para Zumos (jugos) tiene como definición de jugo de fruta el líquido sin fermentar, pero fermentable, que se obtiene de la parte comestible de frutas en buen estado, debidamente maduras y frescas. Algunos jugos se elaboran junto con sus pepitas, semillas y pieles, que normalmente no se incorporan al zumo, aunque son aceptables algunas partes o componentes de pepitas, semillas y pieles que no puedan eliminarse mediante las buenas prácticas de fabricación (BPF).

El jugo que se prepara mediante procedimientos adecuados mantiene las características físicas, químicas, organolépticas y nutricionales esenciales del jugo de la fruta que proceden. Pueden ser turbios o claros, todos ellos deben obtenerse por procedimientos físicos adecuados y que deben proceder del mismo tipo de fruta para ser llamado jugo o zumo, ya que si se obtiene de más de un tipo de fruta se le conoce como zumo mixto. Para el estudio realizado se obtuvo del puré de fruta, por el procedimiento de tamizado, triturado o desmenuzando la parte comestible de la fruta entera. En México el jugo más consumido es el jugo de Manzana, en segundo lugar, el jugo Mango y, el jugo de menor consumo es el que se obtiene de la Uva.

Por otro lado, el manzano es probablemente el árbol frutal de más amplia distribución mundial. Las variedades de manzana cultivadas comercialmente hoy en día se derivan principalmente de la *Malus pumila*. Entre las variedades de mayor producción mundial de este importante fruto se pueden mencionar las siguientes: *Golden Delicious*, *Red Delicious*, *Rome Beauty*, *Starking* y *Starkimson*, de las cuales *Golden Delicious* y *Red Delicious* se producen en México (González & Holguín., 2016).

El fruto de la manzana se utiliza para elaborar jugo debido a que presenta un 89% de rendimiento, además del aporte nutricional asociado al alto contenido en fibra como la pectina, y además aporta Potasio y Vitamina C y algunos antioxidantes, que son nutrientes en la vida diaria y ayudan a tener una buena nutrición complementando con otros alimentos (Sociedad Española de Nutrición Comunitaria, 2011), (Hidalgo *et al.*, 2016).

Debido a lo mencionado anteriormente, se propone en este trabajo realizar la caracterización de la manzana (*Malus doméstica Borkh Grimes Golden*), la preparación del jugo y la determinación de sus parámetros fisicoquímicos del jugo en vida de anaquel de 3 meses. Este jugo es obtenido y analizado antes y después de la técnica de pasteurización convencional; esto con el objetivo de comparar los resultados en un futuro con los de una pasteurización por cavitación.

### **MATERIALES Y MÉTODOS**

El estudio tuvo 90 días de duración, se consideraron para la comparación los valores de los parámetros fisicoquímicos evaluados al inicio y al final del periodo de estudio, además se realizó una comparación de los parámetros entre el jugo sin pasteurizar el jugo pasteurizado. Las metodologías en general empleadas se describen a continuación.

#### **Caracterización de la manzana antes de elaborar el jugo**

##### **Determinación de acidez titulable**

Se realizó la determinación de acidez titulable por medio de la NMX-FF-011-1982. Productos alimenticios no industrializados, para uso humano. Fruta fresca. Determinación de acidez titulable. Método de titulación. Se pesaron 5 g de manzana a la cual se le agregaron 20 mL de agua destilada para su posterior licuado, después se colocó en un matraz Erlenmeyer de 100 mL, este procedimiento se realizó por triplicado y por último las muestras se titularon con NaOH [0.1N] utilizando como indicador fenolftaleína al 1% en etanol al 80%.

##### **Determinación de pH**

Se licuaron 10 g de manzana en 50 mL de agua y se midió el pH con un Medidor previamente calibrado de la marca Oakton 700.

##### **Elaboración del jugo**

Se elaboró el jugo de manzana bajo la metodología de la Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO). Primero se eligió fruta de calidad y madura, posteriormente se realizó un lavado de la fruta en una solución de hipoclorito al 10% y se dejó en reposo 10 min, en seguida del lavado se descorazonó la fruta y se cortó en 4 para proseguir a realizar el escaldado a una temperatura de 85°C por 5 minutos. Al tener la fruta escaldada se prosiguió a realizar el puré donde se colocó la fruta con piel en una procesadora de alimentos y se licuó, ya obtenido el puré se exprimió para obtener el jugo por el método de prensa. El jugo se centrifugó por 15 min a 2,000 rpm para eliminar bagazo del jugo, cuando se obtuvo el jugo filtrado se colocó el recipiente de vidrio previamente esterilizados.

##### **Pasteurización de jugo a UHT (Ultra High Temperature)**

Se colocó el jugo filtrado en recipientes de vidrio previamente lavados y esterilizados y se colocó en la autoclave a una presión de 1.15 Bar durante 1 min. Posterior a la pasteurización se dejó enfriar y se conservó a refrigeración a 4 °C.

##### **Medición de pH en el jugo**

Se midió el pH con un Medidor de pH para Laboratorio Oakton 700.

### **Medición de grados Brix**

Se tomó una alícuota del jugo y se midió sus grados °Brix con el Refractómetro ABBE-REF 1.

### **Determinación de capacidad antioxidante por ABTS**

El jugo de manzana se diluyó 1:1 con etanol al 96% y se homogenizó en vortex. Para la cuantificación se utilizó una curva tipo de Trolox en un intervalo de concentraciones de 0-10 micromolar. La curva patrón se leyó en el espectro-UV a una absorbancia de 730 nm. Para la lectura de muestras problema se colocaron 40 µL de jugo de manzana previamente ya tratado y, se agregó 3960 µL de ABTS completando un volumen de 4 mL, se dejó en reposo 5 minutos y se leyó la absorbancia. Para obtener la concentración de Trolox en el jugo de manzana se interpoló en la curva tipo obtenida.

### **Determinación de Vitamina C**

Para evaluar la Vitamina C se utilizó la NMX-F-229-1972. Método de prueba para la determinación de vitamina "c" en leche con modificaciones. La cuantificación se realizó empleando una curva tipo de ácido ascórbico con un intervalo de concentraciones de 0-1 mg/mL. Para la lectura de muestras problema se colocó 40 µL de jugo de manzana previamente ya tratado y se agregó 3960 µL de la solución de sal sódica del 2.6 diclorofenol indofenol completando un volumen de 4 mL, se dejó en reposo 5 minutos y se leyó la absorbancia.

### **Azúcares totales**

Se determinaron los azúcares totales por el método Fénol-Sulfúrico. Se realizó una dilución 1:200 con agua destilada para el jugo sin pasteurizar. Agregando 1 mL de jugo de manzana y 200 mL de agua destilada. Para el jugo pasteurizado se realizó una dilución de 1:400 de igual manera se diluyó con agua destilada. Para la cuantificación se empleó una curva tipo de glucosa con un intervalo de concentración de 0-1 mg/mL.

## **Metodología para pruebas microbiológicas**

### **Cuantificación de Coliformes Totales**

En la realización de conteo de coliformes totales en placa se utilizó la NOM-113-SSA1-1994. Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. Se utilizó Agar Bilis Rojo. La preparación de la muestra se realizó bajo la NOM-110-SSA1-1994. Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. Las muestras se colocaron en cajas Petri desechables estériles 0.1 mL de la dilución  $10^{-1}$  y se vertió 15-20 mL del medio ABRV. Se repitió el procedimiento con las demás diluciones, se dejó solidificar el medio y se incubó a 35°C durante 24 h, al terminar el periodo de incubación se realizó la cuantificación de bacterias.

### **Cuantificación de mohos y levaduras por método rápido**

Las muestras se colocaron en placas Petrifilm rápido para recuento de hongos y levaduras 0.1 mL de las diluciones, se homogenizó la muestra en la placa y se incubó a 28°C durante 24 h, posteriormente se realizó el conteo de colonias. Se utilizó la dilución de  $10^{-3}$  para el análisis.

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

La manzana utilizada para la elaboración del jugo tenía un peso promedio de 35 g con una acidez titulable de 0.250 g de ácido málico/100 mL, el pH de la manzana utilizada para el jugo fue de 4.53. Para saber si la manzana tiene la madurez adecuada para elaborar el jugo se debe tener un valor de sólidos solubles 11-13 (Feippe, 1993), los frutos seleccionados cumplieron con un valor de 13.

Para este estudio se consideró jugo sin pasteurizar y jugo pasteurizado por tratamiento térmico, los °Brix obtenidos de cada muestra fueron 13 y 14.5 respectivamente cumpliendo con lo indicado en la NMX-F-045-1982. Alimentos frutas y derivados. Jugo de Manzana.

En la Tabla I, se condensa la información obtenida en el estudio. Al analizar la variación de la capacidad antioxidante en el jugo sin pasteurizar y pasteurizado se observa un aumento en el valor de este parámetro en ambos casos. En el jugo sin pasteurizar tuvo un incremento del 32% y en el jugo pasteurizado 45% el comportamiento de los antioxidantes respecto al tiempo de almacén coincide con lo reportado por (Franco *et al.*, 2016). El aumento de la capacidad antioxidante respecto al tiempo de almacenamiento se puede atribuir a la producción de azúcares reductores durante el almacenamiento; a lo que se refieren como "edulcorante en almacenamiento" y que son estos utilizados como sustratos para la síntesis de compuestos polifenólicos futuros, también puede deberse a un aumento en la actividad fenilalanina amonioliase (PAL), que se traduce en un incremento en la concentración de compuestos polifenólicos libres, junto con el bajo nivel de actividad polifenoloxidasas que pueden reducir la oxidación de sustratos fenólicos a quinonas. A su vez podrían aumentar los metabolitos mencionados, como respuesta al estrés provocado durante el almacenamiento, ocurriendo reacciones derivadas del metabolismo de los compuestos fenólicos (Ginzberg *et al.*, 2009).

**Tabla I.** Valores de los parámetros evaluados al inicio y final del estudio.

Parámetro	Tratamiento	0 días	90 días
Capacidad antioxidante (Trolox µM/mL)	Sin pasteurizar	4.25	6.26
	Pasteurizado	3.8	6.9
Concentración de Vitamina C	Sin pasteurizar	0.089	0.063
	Pasteurizado	0.085	0.045
Carbohidratos totales (mg/mL)	Sin pasteurizar	228	2696
	Pasteurizado	1300	4600

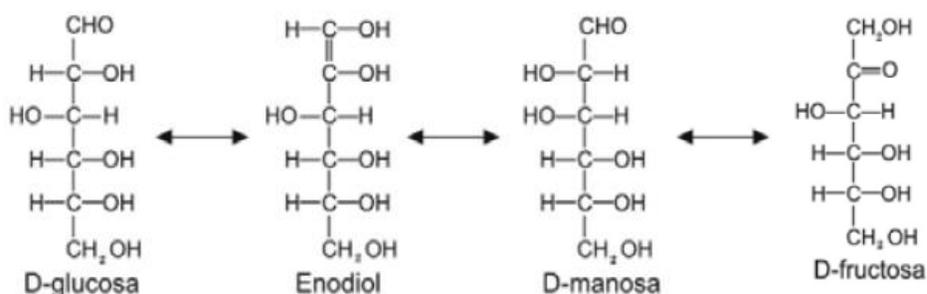
A diferencia de la concentración de los antioxidantes, la concentración de Vitamina C en el jugo de manzana disminuyó un 29.2% en el jugo sin pasteurizar y en el jugo pasteurizado descendió la concentración a un 47%; la gran pérdida de concentración se puede atribuir a la degradación química que sufre dicho componente debido a la oxidación promovida por el enzima ascorbato oxidasa, la ruptura de la fruta acelera su destrucción, debido a que se facilita el acceso del oxígeno a la fruta, así que simplemente con el cortado y pelado de fruta se pierde gran cantidad de Vitamina C, si aparte añadimos calor al jugo de manzana al ser una molécula termosensible se pierde una mayor cantidad de Vitamina C (Domínguez, 2011). Aunque en el jugo elaborado se perdió un gran porcentaje de Vitamina C la menor pérdida es comparada con la pasteurización utilizada con los jugos comerciales como lo reporta (Ayala *et al.* 2014); en jugos con pérdida de Vitamina C de hasta un 93.8%. Los factores que determinan la estabilidad de este compuesto bioactivo en una matriz alimenticia son la temperatura, tiempo, disponibilidad de oxígeno, pH, luz y la presencia de otros agentes antioxidantes y reductores (Zerdin *et al.*, 2003), (Rawson *et al.*, 2011), (Rodríguez *et al.*, 2015).

Sin embargo, la concentración de Vitamina C en el jugo pasteurizado y no pasteurizado cumple con lo que indica la NMX-F-045-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Jugo de manzana; ya que tenemos una concentración menor de 0.15 mg/mL. La concentración de Vitamina C se ha utilizado como indicador de la calidad de los zumos de frutas y también como marcador de su vida útil, de acuerdo con algunos autores, los jugos de fruta llegan al final de su vida útil cuando la concentración de la

Vitamina C llega al 50% del contenido inicial, según los resultados obtenidos ninguno de los 2 jugos llegó al final de la vida útil (Klimczak *et al.*, 2006), (Shaw *et al.*, 2000).

Como se observa en la Tabla I, durante el tiempo de almacenamiento se obtuvo un aumento de concentración de azúcares totales; lo cual se debe a la composición química de los monosacáridos ya que tienen un grupo aldehído o una cetona, e hidroxilos y los cambios químicos a los que están sujetos se relacionan con las transformaciones de estos grupos funcionales ya que se ven afectados por ácidos, álcalis, altas temperaturas y agentes oxido-reductores que provocan su ciclación, isomerización, enolización, deshidratación, oxidación y/o reducción (Badui, 2006).

Además, el jugo de manzana al tener presencia de antioxidantes favorece a la isomerización de azúcares simples llamada transposición de Lobry de Bruyn-Van Ekenstein (ver Fig. 1) (Arias & López, 2019).



**Figura 1.** Transformación de Lobry de Bruyn-Alberda van Eckenstein (Arias & López, 2019).

Las reacciones por calentamiento a bajos valores de pH, caracterizadas por la presencia de ácidos inorgánicos, conllevan a la deshidratación de las moléculas de azúcar, formándose compuestos cíclicos responsables de oscurecimiento no enzimático, fenómeno que se observó al pasteurizar el jugo.

En los zumos de fruta sometidos a tratamientos térmicos, las reacciones de monosacáridos dependen estrechamente de la cantidad de sólidos solubles contenidos en el producto (Arias & López, 2019). El cambio de color del jugo después de la pasteurización es por dos motivos; pardeamiento enzimático y no enzimático, en el caso del pardeamiento enzimático, la acción sobre el color del alimento se debe a la presencia de la polifenoloxidasas, mientras que durante el proceso de naturaleza no enzimática se destacan las reacciones de caramelización de Maillard y de oxidación del ácido ascórbico (Manzocco *et al.*, 2000). El efecto de la temperatura si bien es cierto impide la actividad microbiana, acelera la tasa de reacciones químicas en el jugo (Reece, 2003). La producción de azúcares reductores durante el almacenamiento a lo que se refieren como "edulcorante en almacenamiento" es importante y son estos utilizados como sustratos en el proceso.

En cuanto a la parte microbiológica, el jugo de manzana sin pasteurizar y pasteurizado durante los 90 días no presentó coliformes, los resultados se muestran en la Tabla II. En el jugo de manzana sin pasteurizar dio positivo a presencia de levaduras desde el día 51 de almacenamiento lo cual coincide con lo mencionado por (Suárez y Cobranes, 2010), considerando que la fermentación en el jugo de manzana sin inocular con levadura inicia desde el día 20 las principales levaduras que se desarrollan en el jugo de manzana son del género *Saccharomyces*, principalmente *Saccharomyces cerevisiae*

aunque no se puede descartar la presencia de otras especies del mismo género como *S. uvarum* que se ha encontrado en jugos de manzana almacenados a temperaturas de 10 °C (González *et al.*, 2019).

**Tabla II.** Resultados de la evaluación microbiológica.

Tiempo de almacén (Días)	Jugo sin Pasteurizar		Jugo Pasteurizado	
	Coliformes totales	Mohos y levaduras	Coliformes totales	Mohos y levaduras
0	-	-	-	-
24	-	-	-	-
51	-	+	-	-
90	-	++	-	-

## CONCLUSIÓN

A partir del estudio realizado se observó que el jugo de manzana pasteurizado mantiene una inocuidad después de 90 días, además la concentración de Vitamina C presente en el producto, a pesar de presentar una disminución considerable (47 %) se encuentra entro de los límites válidos en cuanto a concentración y vida de anaquel aceptable, por otro lado, los incrementos en contenido de azúcares totales y actividad antioxidante determinada por el método del ABTS, tanto en el jugo pasteurizado como el no pasteurizado, se pueden atribuir a las reacciones químicas de transformación de los azúcares por reacciones de óxido-reducción presentes en el medio.

En general, se observa que el proceso empleado para la obtención del jugo de manzana a partir de un producto regional que pasa por un proceso de pasteurización térmica, mantiene características fisicoquímicas apropiadas para su consumo en un tiempo de anaquel de 90 días, lo que permitiría en su momento plantear alternativas de desarrollo de productos locales de manera artesanal.

## BIBLIOGRAFÍA

- Arias, S., & López, D. (2019). Reacciones químicas de los azúcares simples empleados en la industria alimentaria. *Lápsakos*, 123-136.
- Badui. (2006). *Química de los alimentos*. Capítulo 6. Distrito Federal, México: Pearson Publications Company.
- Barbosa, G., & Bermúdez, D. (2010). Nonthermal Processing of Food. *Scientia Agropecuaria*, 81-93.
- Domínguez, Castello, & Ortola. (2011). Influencia de los tratamientos térmicos en la elaboración de productos untables de kiwi formulados con sacarosa isomaltulosa-fructosa. Tesis en Gestión y seguridad alimentaria, 16.
- Feippe, A. (1993). Momento óptimo de cosecha en Manzana. INIA URUGUAY, 16.
- Franco, Y., Rojano, B., Alzate, A., Morales, D., & Maldonado, M. (2016). Efecto del tiempo de almacenamiento sobre las características fisicoquímicas, antioxidantes y antiproliferativa de néctar de agraz (*Vaccinium meridionale Swartz*). Grupo Impacto de los Componentes Alimentarios en la Salud, 66(4), 216-271.
- Ginzberg, Tokuhisa, & Veilleux. (2009). Potato steroidal glycoalkaloids: Biosynthesis and genetic manipulation. *Potato Research*, 52(1), 1-15.
- González, & Holguín. (2016). Caracterización fisicoquímica de 5 variedades de manzana producida

- en el estado de Chihuahua. Tesis de Licenciatura en Ingeniería Química.
- Gonzalez, M., Lopes, C., & Rodríguez, E. (2019). *Saccharomyces uvarum* de ambientes naturales bebidas fermentadas de la Norpatagonia. Caracterización y potencial para elaborar sidras a bajas temperaturas. Universidad Nacional del Comahue, Centro Regional Universitario Bariloche, México.
- Hidalgo, R., Gómez, M., Escalera, D., Rojas, P., & Hinojosa, J. (2016). Beneficios de La Manzana (*Malus domestica*) en la Salud. *Revista de Investigación e Información en Salud*, 11(28), 20.
- Klimczak, Malecka, Szlachta, & Gliszczynska. (2006). Effect of storage on the content of polyphenols, vitamin C and the antioxidant activity of orange juices. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2(12), 313-322.
- Manzocco, Calligaris, Mastrocola, Nicoli, & Lericì. (2000). Review of non-enzymatic browning and antioxidant capacity in processed foods. *Trends in Food Science & Technology*, 11(10), 340-346.
- Norma General Para Zumos (Jugos) y Néctares de Frutas (CODEX STAN 247-2005) (Consultado: Julio 2019) Disponible en: [https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B247-2005%252FCXS\\_247s.pdf](https://www.fao.org/fao-who-codexalimentarius/sh-proxy/es/?lnk=1&url=https%253A%252F%252Fworkspace.fao.org%252Fsites%252Fcodex%252Fstandards%252FCXS%2B247-2005%252FCXS_247s.pdf)
- Norma Oficial Mexicana NMX-F-045-1982. Alimentos. Frutas y derivados. Jugo de manzana. [Consultado Julio 2019]. Disponible en: <https://www.colpos.mx/bancodenormas/nmexicanas/NMX-F-045-1982.PDF>
- Norma Oficial Mexicana NOM-FF-40-1982, Productos alimenticios no industrializados para uso humano-fruta fresca. (Consultado: Julio 2019) Disponible en: [http://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=4779550&fecha=22/11/1982](http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=4779550&fecha=22/11/1982)
- Norma Oficial Mexicana NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. (Consultado Julio 2019) Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69533.pdf>
- Norma Oficial Mexicana NOM-113-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa. (Julio 2019) Disponible en: <http://www.ordenjuridico.gob.mx/Documentos/Federal/wo69536.pdf>
- Rawson, Patras, Tiwari, Noci, Koutchma, & Brunton. (2011). Effect of thermal and non thermal processing technologies on the bioactive content of exotic fruits and their products: Review of recent advances. *Food Research International*, 1875-1887.
- Reece. (2003). Optimizing aconitate removal during clarification. Thesis for the degree of Master of Science in Biological and Agricultural Engineering., 122.
- Rodríguez, F. J. (2015). Elaboración de Modelos de Dinámica de Fluidos Computacional (CFD) para Medidores de Flujos Volumétricos y Validación Experimental. Ecuador: Facultad de Ingeniería en Mecánica y Ciencias de la Producción.
- Shaw, Frankel, & Rangavai. (2000). Lactoferrin in infant formulas: effect on oxidation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 10(1021), 4984-4990.
- Sociedad Española de Nutrición Comunitaria. (2011). Manzana. España.
- Suárez, A., & Cobranes, C. (2010). Microorganismos de sidra natural asturiana avances de un estudio microbiológico. Centro de experimentación agraria villaciosa, 3-16.
- Zerdin, Rooney, & Vermue. (2003). The vitamin C content of orange juice packed in an oxygen scavenger material. *Food Chemistry*, 387.395.