



29
2j

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO**

FACULTAD DE QUIMICA

REFORMULACION DE UNA BEBIDA CON FRUTA
ADICIONANDO PROTEINA, DESTINADA A LA
ALIMENTACION INFANTIL.

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA DE ALIMENTOS

P R E S E N T A :

LETICIA OLIVIA VENTURA GONZALEZ



MEXICO, D. F.

1996.

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN
TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

Jurado asignado.

Presidente	Prof. ITURBE CHIÑAS FRANCISCA.
Vocal	Prof. CARREÑO ORTIZ HUGO RUBEN.
Secretario.	Prof. RODRIGUEZ PALACIOS FELIPE DE JESUS.
1er. suplente	Prof. VILLASEÑOR GUTIERREZ RUTH.
2do. suplente	Prof. CUERVO COSS RODOLFO.

Sitio donde se desarrolló el tema: Sociedad Cooperativa Trabajadores de PASCUAL S.C.L.
Planta Sur. Dirección Técnica. Depto. Inv. y Des.

Asesor del tema:


M. en C. Francisca Iturbe Chiñas.

Supervisor técnico:


Ing. Emilio Acosta Tegeiro.

Sustentante:


Leticia Olivia Vantura González.

**A ti, que siempre caminaste junto a mí,
para poder alcanzar una de mis metas.**

**A ti, que formas parte de mí, que encumbra
mi ser y mis emociones.**

A mi esposo con todo mi amor.

**A quién es la razón de mi existir y superación...
...la muestra más palpable de lo que es el amor.
A mi hijo.**

**Este trabajo es tan sólo uno más de los triunfos que han cosechado gracias a su esfuerzo, paciencia, cuidado y amor que han depositado en mí.
Con mucho cariño para mis padres.**

A mis hermanos Juan Carlos, Gerardo y Beto.

A todos mis familiares y amigos.

Agradecimientos.

En especial agradezco el apoyo y sugerencias aportadas por la M.en C. Francisca Iturbe durante el desarrollo de este trabajo.

A la Sociedad Cooperativa Trabajadores de Pascual S.C.L. por el apoyo y la confianza que me brindaron, y en especial al Ing Emilio Acosta T.

A los miembros del jurado por sus ideas y sugerencias aportadas para mejorar este trabajo.

A M.en C. Victoria Couliño por su orientación en el análisis sensorial de la bebida.

Por último, agradezco a la Ing. Primavera Calva, M. en C. Lucía Comejo, y todas aquellas personas que contribuyeron en el desarrollo de este proyecto.

Indice.

I. Introducción.	1
II. Objetivos.	3
II. Generalidades:	4
A. Descripción y clasificación.	4
B. Ingredientes:	
1. Pulpa de mango.	5
2. Agua.	6
3. Edulcorantes.	6
4. Saborizantes.	6
5. Colorantes.	10
6. Ácidos.	10
7. Conservadores.	11
C. Proceso de elaboración:	
1. Preparación de jarabe.	12
2. Mezcla del producto.	12
3. Pasteurización.	13
4. Llenado y coronado.	13
5. Tratamiento de agua.	15
6. Lavado y esterilizado de botella.	15
D. Ingredientes adicionales:	
1. Proteína adicionada.	16
2. Estabilizantes.	20
E. Vida de anaquel:	
1. Tipos de deterioro.	23
2. Determinación microbiológica.	24
F. Pruebas de aceptación.	28
IV. Materiales y Métodos.	28
A. Selección de la proteína.	28
B. Selección del estabilizante.	29
C. Proceso de elaboración:	
1. Preparación de una base.	30
2. Preparación de la solución de proteína estable.	31
3. Preparación de la bebida.	32
D. Prueba de estabilidad.	32

E. Vida de anaquel:	
1. Análisis fisicoquímico.	33
2. Análisis microbiológico.	35
F. Prueba de aceptación.	36
G. Caracterización de la muestra:	
1. Sólidos totales.	37
2. Sacarosa antes y después de la inversión.	38
3. Proteína. Kjeldahl.	40
4. Cenizas.	41
5. Conservador. Benzoato de sodio.	42
V. Resultados y discusión.	42
A. Proteína seleccionada.	42
B. Estabilizante seleccionado.	44
C. Pruebas de estabilidad de la bebida.	45
D. Diagrama final de elaboración.	48
E. Vida de anaquel.	49
F. Estudio de aceptación.	53
G. Caracterización de la bebida.	56
H. Estudio económico.	58
VI. Conclusiones.	57
VII. Bibliografía.	59
VIII. Sugerencias.	63
Anexo I. Tablas que relacionan los °Brix con el peso del azúcar por unidad de volumen.	
Anexo II. Preparación de medios de cultivo.	
Anexo III. Tablas estadísticas.	

I. INTRODUCCION.

La deficiente alimentación infantil es un problema grave que afecta al sector de población de bajo poder adquisitivo, debido a una inadecuada educación sobre nutrición en los adultos y la mala situación económica, esto trae como consecuencia una deficiencia en el consumo de proteína, que repercute en el desarrollo infantil y la mortalidad.

En el Distrito Federal no se tiene un estado de nutrición adecuado en infantes que se encuentran en el ciclo escolar. De ahí que sean instituciones como el DIF, las que se encargan de dar apoyo a este sector de población mediante la distribución de desayunos económicos en escuelas gubernamentales.

Dadas las consideraciones anteriores, del DIF surge la necesidad de elaborar un alimento en que se incremente el contenido de proteínas, que sea de aceptación por los niños y que al mismo tiempo esté al alcance del sector de población de escasos recursos.

Para ello es necesario enriquecer los alimentos que tradicionalmente se consumen. El enriquecimiento consiste en la adición de un nutrimento que no se encuentra normalmente, buscando que no se modifiquen apreciablemente las propiedades o características bases del alimento.

Siendo así, el DIF solicitó, mediante una carta petición expedida en el año de 1995 a la Soc. Coop. Trabajadores de PASCUAL, S.C.L., la reformulación de una de sus bebidas, adicionando el 1% en peso de proteína para distribuiría dentro de los desayunos escolares.

Es por ello que, ante el interés de realizar este proyecto, se pensó en una bebida elaborada con pulpa de fruta, ya que permite la adición de la proteína sin cambiar por completo el concepto de la bebida. Los posibles sabores a desarrollar con esta característica y que se producen en la planta son mango, fresa y guayaba. El pH de estas bebidas oscila alrededor de 4; el resto de las bebidas tienen un pH inferior que influiría negativamente en la estabilidad de la bebida, ya que en general trae como consecuencia la precipitación de la proteína. Adicionalmente es el mango, el que por su mayor porcentaje en venta, asegura una probabilidad de aceptación por el consumidor.

Por último, para cumplir con el propósito planteado deben abarcarse ciertas características:

- Que el nutrimento, en este caso la proteína, exista en abundancia y sea fácil su manejo.**
- Que el proceso de elaboración de la bebida no se vea afectado al adicionar la proteína.**
- Que el equipo necesario para adicionarla pueda adaptarse a la línea de proceso de elaboración de otras bebidas. Logrando al mismo tiempo una alta calidad sanitaria.**

Un objetivo muy importante de este proyecto es que el producto final tenga un costo accesible y que sobre todo, posea aceptables características sensoriales para el sector de población al cuál va dirigido.

II. OBJETIVOS.

Objetivo general.

Reformular una bebida elaborada a partir de pulpa de mango, adicionando el 1% de proteína.

Objetivos específicos.

Que el nutrimento, en este caso la proteína, exista en abundancia y sea fácil su manejo.

La adición de la proteína debe adaptarse a la línea de proceso de otras bebidas logrando al mismo tiempo una alta calidad sanitaria.

El producto debe tener un costo accesible y ser de aceptación por el sector de población al cuál va dirigido el producto.

III. GENERALIDADES.

Los orígenes de la bebida datan de la época greco-romana en que las aguas minerales eran apreciadas por sus propiedades "medicinales" y refrescantes. Sin embargo, no fue hasta 1767, cuando el científico británico Joseph Priestley descubrió una manera de carbonatar el agua por medios artificiales y así la Industria de las bebidas carbonatadas tuvo su inicio. Uno de los primeros métodos empleados para obtener dióxido de carbono consistía en la acidificación de sales sódicas como bicarbonato y carbonato, de ahí el nombre que le dió origen a la soda, y que todavía se usa a pesar que el dióxido de carbono ya no se genera por este método. Poco a poco se empezaron a agregar jugos y extractos a fin de mejorar su sabor.

La norma de identidad de la FDA para el agua de soda es "la clase de bebidas preparadas por absorción de dióxido de carbono en agua potable". La cantidad de dióxido utilizado no es menor que la que absorbería a una atmósfera de presión y una temperatura de 15.6°C. La norma de identidad también describe otros ingredientes que pueden agregarse a la bebida carbonatada, estos incluyen edulcorantes, ácidos, sabores, conservadores y otros ingredientes adicionales.

La Norma Oficial Mexicana define a las bebidas carbonatadas o refrescos como bebidas que además de agua potable pueden contener como máximo un 2.5% de alcohol etílico, edulcorantes, saborizantes y dióxido de carbono, jugos, pulpa de frutas, y otros aditivos autorizados. (1)

A. Definición y clasificación.

Las bebidas no alcohólicas comprendidas en la Norma Oficial Mexicana se clasifican de acuerdo a su composición en dos tipos con tres subtipos cada uno:

- | | |
|------------------------------|--------------------------------|
| Tipo 1 Bebidas | Tipo 2 Refrescos |
| a) Bebidas de... | a) Refrescos de... |
| b) Bebidas nutricionales | b) Refrescos sabor de... |
| c) Bebidas bajas en calorías | c) Refrescos bajos en calorías |

Tipo1.

a) Bebidas de.. Son aquellas elaboradas con un mínimo de 10% y un máximo de 25% de jugo o pulpa de fruta, verdura o legumbres. Estos límites no son aplicables en el caso de bebidas que por razones técnicas y características sensoriales no son alcanzables.

b) **Bebidas nutricionales.** Son las que se elaboran con un mínimo de 1.5% de proteína o sus hidrolizados de calidad proteica equivalentes al de la caseína y que cumplan con lo especificado en el inciso (a).

c) **Bebidas bajas en calorías.** Son aquellas que en su composición eliminan el uso de azúcar sustituyendola por edulcorantes autorizados por la Secretaría de Salud y que cumplan con lo especificado en el inciso (a).

Tipo 2

a) **Refrescos de...** Es aquel que contiene no menos de 10% y mayor del 6% de jugo o pulpa de fruta, verduras o legumbres.

b) **Refrescos sabor de ...** Es aquel que puede contener jugo o pulpa de fruta, verduras o legumbres en cantidad menor al 6%.

c) **Refrescos bajos en calorías.** Son aquellos que en su composición eliminan uso de azúcar, sustituyendola por edulcorantes autorizados por la Secretaría de salud y que cumplan con las especificaciones de los incisos (a) o (b).

B. Ingredientes.

Los ingredientes de una bebida convencional de pulpa de fruta son: edulcorante, colorante, conservador, acidulante, agua y por supuesto la pulpa de la fruta. Los dos últimos son de gran importancia, pues son los que definen el tipo de bebida, de ahí que deba cuidarse su calidad con mayor énfasis.

B.1. Pulpa de fruta. Es el ingrediente que le da concepto a la bebida, su elaboración se basa en una previa selección de la fruta que se hace pasar por unas bandas, la fruta que se descarta es la que no cumple con las especificaciones, es decir, que ha sufrido algún daño mecánico, que su grado de maduración sea muy avanzado o que en el caso contrario, sea una fruta inmadura. Es importante cuidar este aspecto, pues el grado de maduración es el que define el color y la textura de la pulpa.

En el lavado de la fruta se utiliza únicamente agua y el proceso se realiza en dos etapas; la primera es por inmersión y después por aspersion a través de las bandas, eliminando de esta forma materia extraña e incluso restos de plaguicidas.

La fruta limpia y clasificada se conduce por medio de unas bandas para alimentar a dos máquinas deshuesadoras. En esta parte, la pulpa y piel del fruto son separados de los huesos. Estos últimos son eliminados a través de un canal de evacuación. En el caso de la pulpa de mango, ésta se trata luego en el ruptor térmico para desactivar la catalasa y otras enzimas, las cuales causan cambio de color y sabor en el producto acabado, y para ayudar a la siguiente parte del proceso.

El pasado/refinado consiste en extraer la piel de la fruta junto con pulpa basta y fibras, la pulpa puede ser transferida a la segunda etapa para un refinado adicional (2). La pulpa refinada se transfiere a alguno de los dos tanques combinadores/mezcladores. En esta etapa puede adicionarse ácido cítrico para bajar el pH, y así requerir una temperatura de esterilización menor para alcanzar la esterilidad comercial del producto. (3)

Por medio de una bomba rotatoria, la pulpa se introduce a un cilindro de desairación mediante vacío, esto reduce el contenido de oxígeno hasta un nivel que permite mantener el color natural de la pulpa y mejorar la vida de anaquel. La pulpa de mango, de pH 4.7, es bombeada al esterilizador donde se calienta a 105°C durante 3 minutos, posteriormente se enfría a temperatura ambiente y fluye hacia el llenador aséptico.

En forma manual, la bolsa preesterilizada se inserta de la espita tapada a la cámara estéril del llenador. La esterilidad se mantiene durante el llenado mediante vapor y/o pulverización de cloro atomizado, que mantiene una presión positiva constante en la cámara. (14)

La cámara está siempre cerrada excepto durante el breve momento de inserción de la espita y eyección. La bolsa se deja caer en un barril con capacidad de 220 lt para su posterior almacenaje.

La esterilización y el envasado hacen que el proceso de elaboración sea eficiente, pues la pulpa logra estar en condiciones de almacenamiento hasta por 15 meses.

B.2. Agua. La porción acuosa de la bebida que le da cuerpo y volumen al producto final, es considerada uno de los ingredientes más importantes y por tal motivo debe cuidarse su calidad. El agua es obtenida de un pozo y puede ser de tipo suave o duro, dependiendo de las características minerales del área adyacente. El agua de los pozos poco profundos es por lo general más suave que la de pozos profundos, pues contiene generalmente una concentración más baja de minerales disueltos. Estas aguas son usualmente claras, algunas veces sin color alguno, dependiendo del tipo de roca y suelo con los que tiene contacto.

Las impurezas encontradas en el agua pueden ser las siguientes:

Sólidos suspendidos: Arcilla, partículas de alga, materia vegetal y materia animal.
Sólidos disueltos: presencia de dureza, cloruros, coloides y gases.

**Tabla 1.
Impurezas y su efecto en las bebidas.**

NATURALEZA DE IMPUREZA.	TOLERANCIA MAXIMA.	EFECTO TIPICO EN LA BEBIDA.
Turbidez	5 p.p.m.	Sabor no apto y decoloración
Sabor y Olor	sin presencia.	Sabor no apto
Algas y protozoarios	0 colonia/ml	Sabor no apto sedimento deterioro.
Levaduras	0 colonia/ml	Sabor no apto sedimento deterioro
Mohos	0 colonia/ml	Sabor no apto sedimento deterioro
Hierro y manganeso	0.1 p.p.m.	Manchas decoloración sabor no apto
Alcalinidad	50 p.p.m.	Neutraliza el ácido.
Sólidos totales	500 p.p.m.	Cloruros- sabor salado sulfatos - sabor salobre

(4)

Además de una posible contaminación por sólidos en suspensión o en disolución, en el agua puede haber microorganismos que influyen en la calidad y vida de anaquel del producto. La ausencia o presencia de estos microorganismos esta definida por la Secretaría de Salud.

El agua debe estar libre de germenés patógenos procedentes de contaminación fecal.

a).Menos de 20 UFC del grupo coliformes por litro de muestra, es decir, todos los bacilos esporogénicos, Gram negativo, que fermenten el caldo lacticado con formación de gas.

b).Menos de 200 colonias bacterianas por centímetro cúbico de muestra, en la placa de agar incubada a 37°C durante 24 horas.

c).Ausencia de colonias bacterianas licuantes de la gelatina, cromógenas o fértidas, en la misma siembra de un centímetro cúbico de muestra en gelatina incubando a 20°C por 48 horas. **(5)**

B.3. Edulcorante. Un agente edulcorante es aquella sustancia, artificial o natural, que tiene el poder de endulzar un alimento y en este caso una bebida.

El azúcar o jarabe en estas bebidas tiene las siguientes funciones principales:

- a). Proveer el dulzor para balancear apropiadamente el ácido y otros componentes en la bebida y además produce un refresco de sabor balanceado.
- b). Da el cuerpo necesario a la bebida.
- c). Sirve como vehículo del sabor y lo distribuye uniformemente cuando se consume.

En la elaboración de bebidas refrescantes, uno de los ingredientes más importantes, es el azúcar. La sacarosa es un disacárido obtenido a escala industrial a partir de la caña de azúcar y de la remolacha. Es el compuesto o preparado básico que da carácter a las bebidas refrescantes con sabor. Es adquirida en forma granujada y de la cuál se elabora una solución de jarabe para poder ser utilizada como ingrediente en la bebida.

Las bebidas contienen aproximadamente de 8-11% de sacarosa, que además de proporcionarle la dulzura y calorías, le da cuerpo y textura, ya que contribuye a los sólidos totales de la bebida. Aunque en algunas embotelladoras se tiene la tendencia de utilizar edulcorantes artificiales como la sacarina, ciclamato, aspartame, etc., para este tipo de producto no es muy recomendable, pues lo que se busca es que la bebida tenga cuerpo y aporte calorías.

Se ha encontrado que el azúcar invertido es más dulce que la sacarosa y mezclado con esta tiene una solubilidad mayor que la sacarosa sola. En el embotellado como en otros alimentos preparados, se forma algo de azúcar invertido automáticamente debido a la temperatura y pH que se utiliza.(6)

B.4.Sabor. Los sabores usados en la preparación de las bebidas son primordialmente extractos de sabores naturales, emulsiones, soluciones alcohólicas, concentrados de jugos de fruta o compuestos saborizantes sintéticos.

Para seleccionar un saborizante es necesario conocer:

- a). Solubilidad. Probablemente este sea el requisito más importante.
- b). El sabor deberá impartir el perfil característico al cual representa.
- c). Resistencia a la descomposición atribuida al ácido o a la oxidación acelerada del ácido.
- d). Resistencia a la destrucción por calentamiento o tratamiento térmico.

El saborizante utilizado en las bebidas a base de pulpa es generalmente un aceite esencial que está emulsificado con un tipo de goma y un carbohidrato, al mismo tiempo está presente el colorante de origen natural. Esta emulsión permite que el aceite esencial no permanezca en suspensión después de haber sido elaborada la bebida, formando una especie de anillo en el cuello de la botella. Cabe mencionar que existen factores que son responsables de esta formación, como el tamaño del glóbulo del aceite disperso. Para lograr el tamaño de partícula adecuado, se pasa la emulsión por un homogenizador hasta tener un diámetro de 0.5-1.5 micras. La viscosidad también influye en la velocidad de separación del saborizante en la emulsión.

La emulsión da estabilidad al colorante y saborizante pues los protege de factores que de forma natural alteran su estabilidad, como son condiciones ácidas de la bebida, la exposición de la luz y la temperatura de proceso. Esta estabilidad permanece por al menos dos años apartir de la fecha de elaboración del producto.

Jacobs (7) señaló que los sabores emulsionados tienen varias ventajas, como son:

- 1). Son más baratos que los extractos alcohólicos.
- 2). No debe considerarse la pérdida de solvente en la formulación.
- 3). Generalmente son preparados en forma más concentrada, consecuentemente ocupa menos espacio al almacenarse que los extractos alcohólicos y el empaque y costo laboral es reducido por la misma razón.
- 4). La duplicación, estandarización y control de calidad del producto se simplifica.
- 5). La pérdida por volatilización de varios de los componentes del sabor es disminuida.

Sin embargo, los sabores emulsionados también ofrecen desventajas:

- 1). Por la carencia de alcohol, no levantan o realzan el sabor que el alcohol da.
- 2). Deben ser preparados apropiadamente, puesto que de otra forma pueden asentarse o separarse.
- 3). Es indispensable incluir un conservador para prevenir su descomposición.

Un gran número de agentes emulsificantes hay en el mercado para preparar emulsiones. Estas son gomas solubles en agua, principalmente, goma arábiga, goma de tragacanto, goma karaya, etc. (7).

B.5. Colorante. La utilización de un colorante es necesaria para dar una apariencia uniforme y semejante a la bebida, de tal manera que sea atractivo para el consumidor. Para obtener un producto con color amarillo-naranja, el colorante utilizado es el caroteno de origen natural extraído de productos vegetales. La asociación con proteínas los hace más estables e incluso les cambia el color que tienen de manera individual. Los cristales son rojos de forma plana y cuadrada cuando se forman a partir del extracto en éter de petróleo. Su punto de fusión es de 181-182°C, en general es soluble en compuestos orgánicos.

El beta-caroteno es el que se utiliza en este tipo de alimentos, y es el carotenolide que en general tienen más importancia y aplicación en tecnología de alimentos.(9) Estructuralmente tiene dos grupos cíclicos de fonona unidos a través de una cadena intermedia isoprenoide con nueve enlaces dobles conjugados que contribuyen a la estabilidad y al color; la abertura de los anillos o el aumento de la conjugación produce un cambio hacia el rojo, mientras que la epoxidación o la pérdida de dicha conjugación cambia hacia los amarillos.(8)

B.6. Ácidos. Los ácidos son utilizados en las bebidas para impartir un sabor agrio que neutraliza la dulzura del azúcar y hace resaltar el sabor asociado a fruta. Así, el sabor característico de una bebida se desarrolla en parte por medio de la acidulación apropiada.

Los principales ácidos utilizados y las dosis máximas permitidas por el Codex Alimentarius (34) son:

	% en peso.
Ac. tartárico	0.5
Ac. cítrico	0.5
Ac. málico	0.3
Ac. láctico	0.1
Ac. fosfórico	0.02

(8)

Todos estos ácidos, con excepción del ácido fosfórico son ácidos orgánicos, su selección para preparar una bebida va a depender del sabor en cuestión que se desee realzar. Básicamente el ácido tartárico es el mejor ácido para los sabores de uva, el ácido málico para el sabor de manzana y el ácido cítrico para los sabores cítricos. Comúnmente el ácido fosfórico es utilizado de preferencia para acidular los sabores de cola, cerveza de raíz y bebidas similares.

La acidulación de un refresco cumple ciertas funciones además de realzar el sabor:

a) Los ácidos catalizan la inversión de sacarosa.

b). El medio ácido disocia el benzoato de sodio en ácido benzoico, el cual ejerce acción preservadora a pH ácidos.

c). Modifica el dulzor de los agentes edulcorantes.

d). Contribuye a la conservación de la bebida contra los microorganismos y proporciona un medio desfavorable para su crecimiento.(10)

Para la elaboración de la bebida con pulpa de mango, el ácido que se utiliza es el cítrico, tiene la propiedad de ser débil e inocuo al organismo humano cuando se usa en las concentraciones recomendadas. Es un importante ácido natural de la fruta cítrica, de manera que se emplea más bien para mejorar las bebidas con sabor a fruta. Además ayuda a proteger el producto contra el deterioro. Sin embargo, a menos que haya un control sanitario muy estricto durante la elaboración de los refrescos, el ácido presente no es suficiente para asegurar la estabilidad de la bebida que se ve alterada por microorganismos.

B.7.Conservador. Sin duda la actividad enzimática proveniente de los microorganismos, trae como consecuencia transformaciones en los compuestos químicos, que dan lugar muchas veces a su deterioro o descomposición. Hay básicamente cuatro métodos que en general han sido aceptados, para conservar los alimentos: Esterilización por calor o radiación destruyendo al microorganismo; refrigeración, reduciendo o parando la actividad del microorganismo; secado es decir, removiendo el agua esencial es como también podemos reducir o parar la actividad microbiana; y por conservadores químicos que reducen o inhiben la actividad. La acción de estos métodos actúa de una de las dos formas: Físicamente, incrementando la densidad del medio ambiente de los microorganismos (aumentando la presión osmótica), y químicamente inhibiendo directamente la acción de los microorganismos. El **benzoato de sodio** es un conservador químico que actúa sobre los microorganismos inhibiéndolos directamente.

El benzoato de sodio es usado en alimentos a niveles que no excedan las buenas prácticas de manufactura. Se recomienda utilizar valores por debajo del nivel máximo que es 0.1% en alimentos. En medios donde el pH es inferior a 4.5, el benzoato de sodio se convierte en ácido benzoico que es la forma activa antimicrobiana que conserva más efectivamente.(11)

En el campo aplicativo es recomendado para asegurar satisfactoriamente la actividad antimicrobiana contra las bacterias, hongos y levaduras. La adición de Benzoato de sodio se hace en solución al 20% en agua para facilitar el manejo y controlar la concentración requerida, obteniéndose una concentración de 0.1% en el producto final. Este porcentaje se encuentra dentro de los límites permitidos que van de 0.05-0.1% según el Codex Alimentarius (12). Si la

especificación en la bebida es significativamente alta después de haber adicionado el benzoato de sodio en el proceso, es necesario ajustar el pH ácido de la bebida con la adición de un ácido fuerte como el ácido cítrico, y una suficiente agitación, evita la precipitación de ácido benzoico, el cual tiene un solubilidad de aproximadamente 0.2% en agua a 20°C. Esta etapa de proceso es importante para evitar problemas de incrustación y la pérdida esencial del conservador.

C. Proceso de elaboración.

Las operaciones de proceso de una bebida convencional de fruta son: preparación del jarabe, mezcla del producto, pasteurización, llenado y coronado. Adyacentemente se da tratamiento al agua de proceso y lavado de botella, dado que son operaciones que definen la calidad de la bebida.

El diagrama 1 muestra el proceso de elaboración de la bebida a base de pulpa de fruta, tomando en cuenta todas las operaciones que intervienen en la obtención del producto final.

C.1. Preparación del jarabe. El objeto de preparar previamente un jarabe es dar uniformidad a las bebidas con una misma calidad, ya que sirve como control en la concentración del resto de los ingredientes.

El azúcar disuelto es lo que se llama jarabe simple, la solución final tiene una concentración de 62.5-83.5 por ciento de azúcar en peso. La preparación es por el método conocido como proceso frío. La mezcla se realiza en un tanque de acero inoxidable y en constante agitación con agua a temperatura ambiente. Cuando ha quedado totalmente disuelto, pasa a través de un filtro prensa de malla muy fina (poro de 5 micras aprox.), con el objeto de eliminar las impurezas que trajera consigo el azúcar. La descarga del filtro llega hasta los tanques de preparación de la bebida. Antes de pasar a los tanques de agitación, se prefiere conservar en reposo el jarabe con el fin de eliminar el aire que se incorpora durante la agitación. La alta densidad que posee el jarabe debido a la concentración de azúcar, hace que posea un efecto retardante al desarrollo de los microorganismos, no es problema si se almacena por unas cuantas horas o durante la noche.

C.2. Mezcla del producto. Un paso importante a considerar es la dilución que hay que hacer con el jarabe para llegar a la concentración de azúcar en peso sobre el producto final. Conociendo los °Brix del jarabe y el °Brix del producto terminado, se ajusta la porción de jarabe necesaria para un volumen final determinado. Existen tablas que relacionan el Brix con el peso de azúcar por unidad de volumen y la bebida (Anexo I). Utilizando estos valores se obtiene la relación:

$$\frac{\text{libras de azúcar/ galón de la bebida.}}{\text{libras de azúcar/ galón del jarabe.}} = \text{Proporción de dilución.}$$

Teniendo este valor:

$$\text{Porción de jarabe} = (\text{Proporción de dilución}) (\text{volumen total de bebida}).$$

Una vez calculada la porción de jaraba a utilizar, se alimenta al tanque de preparación de acero inoxidable con un agitador de aspas. El tanque tiene una capacidad de 10,000 litros y la agitación se empieza a dar cuando se tiene un volumen mínimo de 250 litros. Se bombea la pulpa necesaria de los tambos de almacenamiento al tanque de preparación. Tan pronto como sea posible se agita la pulpa o de ser necesario se adiciona agua para alcanzar el volumen mínimo al cuál trabaja el agitador de aspas (250lt). Se adiciona la cantidad requerida del concentrado, ácido cítrico y benzoato de sodio. Estos dos últimos se agregan en soluciones de 50% y 20% respectivamente, para llevar un mejor control de su adición. Se afora con agua al volumen final deseado y por último se ajusta la acidez, si es necesario, con ácido cítrico al 50%. Es recomendable dar agitación por 15-20 min. para la mayor incorporación de los ingredientes.(12)

C.3. Pasteurización. Elaborado el refresco se transporta por medio de una bomba al pasteurizador. La temperatura de la bebida es de 34°C cuando es alimentada al pasteurizador de serpentín de tubos concéntricos. Corriente abajo del pasteurizador se encuentra la alimentación a éste con agua caliente que entra en contraflujo con la bebida. Para calentar el agua se utiliza un calentador presurizado que eleva la temperatura a 102-105°C, por intercambio de calor se lleva a cabo la pasteurización, de tal manera que la bebida alcanza una temperatura de 67°C y el agua de alimentación disminuye su temperatura a la salida del pasteurizador a 61°C aproximadamente.(12)

C.4. Llenado El llenado se hace en forma aséptica a la temperatura de salida de la bebida por el pasteurizador. Un disco rotatorio alimenta directamente las botellas que salen de la llenadora a la tapadora. La rueda-estrella da descaga, mueve las botellas coronadas al transportador para la inspección final.

Quando se trata de un envase Tetrapack, una vez que se ha formado el envase, se realiza el llenado asepticamente en el intervalo de temperatura comprendido entre 61-65°C. (12)

DIAGRAMA DE PROCESO DE UNA BEBIDA ELABORADA A BASE DE PULPA DE FRUTA.

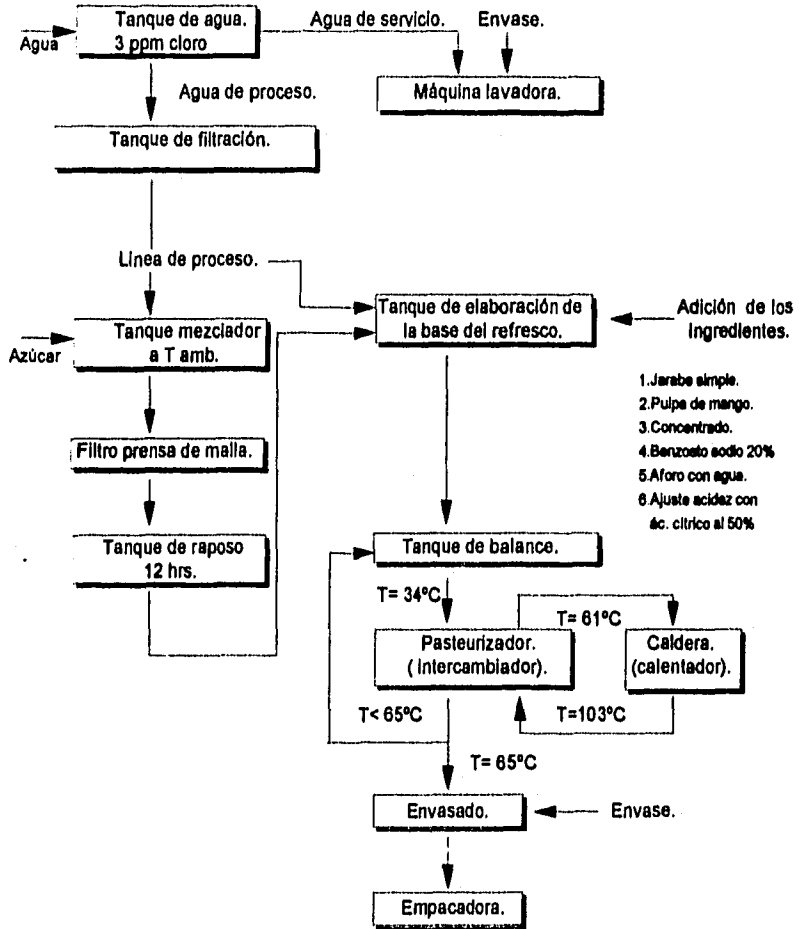


Diagrama 1.

C.5. Tratamiento del agua. El agua constituye un elemento muy importante para la elaboración de la bebida; es extraída del subsuelo por medio de un cárcamo de bombeo localizado en el interior de la planta. Una vez obtenida el agua se almacena en un tanque para ser clorada a 3-5 ppm de cloro residual y distribuida como agua de proceso o agua de servicio; para destinaria como agua de proceso se siguen tratamientos posteriores. El agua se somete a filtración utilizando dos tipos de filtros: uno de arena, que es un material granular que rellena la materia suspendida que pueda estar presente y al mismo tiempo disminuye la turbidez; y un segundo filtro de carbón activado que elimina el olor y color que pudiera tener la muestra. Por último se somete a filtros especiales para asegurarse que todas las micropartículas son separadas y obtener el agua completamente cristalina.

El cloro es adicionado al agua con el propósito de matar algas, levaduras, bacterias, así como para reaccionar con la materia orgánica que causa sabores y olores indeseables al producto final. El cloro además tiene propiedades oxidantes para la destrucción de hierro y magnesio. El cloro es adicionado al agua como hipoclorito de sodio. (13)

C.6. Lavado y esterilizado de la botella. Las botellas a tratar son retornables y de vidrio. El proceso consiste en introducir en distintas soluciones de concentración alcalina y en donde la sosa cáustica es el compuesto químico que posee las propiedades germicidas. Para mejorar la acción detergente de la solución se utiliza un aditivo que contiene carbonato de sodio y fosfato trisódico.

La eficacia de la acción germicida depende primordialmente de tres factores: la temperatura, la fuerza cáustica y el tiempo de residencia.

La botella se transada a los desempacadores, ahí se hace la primera inspección, consiste en eliminar en forma manual la basura sea posible y que haga efectiva la limpieza. En el primer tanque se hace un lavado con agua caliente (55°C). En los dos siguientes tanques, las botellas se lavan con solución de álcali a presión cuya concentración y temperatura aumenta y disminuye de uno a otro tanque es decir, solución de álcali al 4% a 55°C y solución de álcali al 2% a 45°C respectivamente. Posteriormente pasan a un enjuague con agua y como paso final, a un tanque con agua clorada. Para asegurar que el lavado sea eficiente, eliminando por completo el álcali, se adicionan unas gotas de fenolftaleína a la botella. Después del lavado, se llevan por transportadores hasta los inspectores de botellas, para asegurar que todo el envase esté libre de impurezas.(12)

C.7. Envase Tetrapack. El material de envase está constituido de cuatro capas, de la parte interna a la externa son polietileno- aluminio-cartón-polietileno. El rollo del material se alimenta a la máquina formadora de envase que corta y pega el material a darle la forma deseada, posteriormente es conducido por medio de unas bandas a la línea de llenado.

D. Ingredientes adicionales.

D.1. Proteína. Una modificación que se hace en bebidas, es la adición de la proteína, sin que por ello se tenga que cambiar la naturaleza del resto de los ingredientes.

A continuación se describen algunas fuentes de proteína, que comúnmente se utilizan en los sistemas alimenticios, ya sea para favorecer alguna de sus propiedades funcionales o para incrementar el valor nutricional.

D.1.1. Caseinato.

Los caseinatos se obtienen por medio de la precipitación ácida de la leche calentando entre 35-50°C y se lleva a pH 4.2-4.6. La caseína precipitada en forma de granos se lava y seca, para posteriormente someterse a una dispersión (20-25%) con alcalí (NaOH, Ca(OH)₂, carbonatos y citratos alcalinos y alcalinoterreos) a 80-90°C y pH 8.2-8.7 y desecación final por atomización, se obtienen productos solubles o fácilmente dispersables.(15)

La viscosidad de las soluciones de caseinato de sodio dependen de tres factores: concentración de caseína, temperatura y pH.

Cuando la concentración llega a valores de 9% se forman geles insolubles y dificultan la disolución y aumentan la viscosidad.

En general a altas temperaturas se favorece la disolución de caseinatos, aunque a T>70°C pueden presentarse cambios en la solución, sabor y propiedades funcionales.

Cuando al pH de la disolución esta entre 6.5-8.5 se da la mayor viscosidad pero a pH menores a 4.2-4.3 se da la precipitación. (16)

La utilización de caseinatos está teniendo un gran auge en la industria alimentaria para elaboración de sustitutos de carne de pollo, res-tocino, embutidos, pastas de carne en conserva, etc., debido a que además de contribuir a la textura, incrementa la capacidad de enlazar agua, aumenta la actividad superficial, favorece la dispersibilidad, también eleva el valor nutricional del alimento, por presentar una tasa alta de eficiencia proteica (PER) de 2.57.(17)

D.1.2.Suero de leche.

Es la porción acuosa de la leche. Usualmente se obtiene, en la industria del queso, cuagulando la leche por medio del cuajo o también por acidificación. Durante la elaboración de estos productos, se producen aproximadamente 9 Kg de suero por cada Kg de producto final, partiendo de 10 litros de leche.(18) Esto significa que es el subproducto más importante de la leche en términos de volúmenes de producción.

Sin embargo, en la actualidad, la utilización del suero de leche en la industria alimentaria ha tomado auge, lo que se refleja en las importaciones que maneja el país. México importó suero de leche en polvo con contenido de proteínas en una cantidad de 23,949 toneladas; para 1993 hubo un incremento en la importación de 15.6%, mostrándose para el año siguiente un aumento de sólo 4% con respecto a 1992. (19)

Cabe mencionar que la demanda de suero de leche en productos alimenticios, se cubre con las importaciones que maneja en país y no por su industrialización a nivel nacional en las industrias queseras.

A nivel industrial, el suero se ha usado principalmente en forma deshidratada. Esta es la presentación comercial que tiene mayor facilidad de manejo y que principalmente se utiliza para adicionarla en bebidas.

La clasificación del suero básicamente radica en la diferencia de pH: el llamado suero dulce, que proviene de la mayoría de los quesos madurados, y el suero ácido, subproducto de fabricación del queso *cottage* cuando se acidifica el medio, como consecuencia de la fermentación de la lactosa. (18,20)

En cuanto a su composición, es variable dependiendo del proceso tecnológico seguido durante la fabricación de queso del cual procede.

Composición de los sueros de leche en polvo.

	Dulce (%)	Ácido (%)
Sólidos totales	96.5	96.0
Humedad	3.5	4.0
Proteína	13.1	12.1
Lactosa	75.0	67.4
Ácido láctico	0.15	0.75
Cenizas	7.3	11.8

Datos del J. Dairy Sci. 1135,1973.

Los lactatos y los fosfatos que contienen actúan como amortiguador de pH y el equilibrio ácido-base influye en muchas de sus propiedades, como son la estabilidad y la precipitación térmica. (20)

Tipos de suero en polvo.

-Suero en polvo. Para su obtención se preconcentra el suero hasta el 45-50% de materia seca y después se deseca en rodillos por atomización. Se obtienen productos no higroscópicos por predehidratación hasta un 10% de agua, hidratación de la lactosa amorfa a lactosa.

-Suero en polvo semiazucarado. Resulta al extraer la lactosa.

-Suero en polvo desmineralizado. Se obtiene por intercambio iónico, más ventajosamente por electrodiálisis.

-Proteínas del suero en polvo. Las proteínas del suero pueden precipitarse calentando el suero (95°C / 30min) a pH 4.5. Excelente resulta la obtención por ultrafiltración que da productos solubles, de alto valor biológico. (21)

D.1.3. Proteínas de soya.

Las proteínas de soya son básicamente una mezcla heterogénea de globulinas (60-70% del total) y de albúminas con pesos moleculares muy variados, solubles en soluciones salinas y en agua; precipitan en su punto isoeléctrico, generalmente en el intervalo de pH 4.2-4.6.

Las formas comerciales que existen en el mercado se clasifican de acuerdo con el contenido de proteínas; las que contienen menos son las harinas, le siguen los concentrados y finalmente, los aislados.

D.1.3.1. Harinas.

Son las formas menos refinadas de la soya; se pueden fabricar con toda su grasa o desgrasadas, ya sea como hojuelas, granulos o polvo; contienen de 40 a 50% de proteínas y durante su manufactura se debe someter a un calentamiento con vapor para inactivar la lipoxigenasa, los inhibidores de tripsina y otros factores antifisiológicos. Después de esto, el producto resultante tiene un mejor valor nutritivo.

Los principales tipos de harina son:

1) Harina de soya desgrasada, producida a partir de hojuelas de soya desgrasada, su contenido de grasa es de 1.5% o menos en base seca.

2) Harina de soya integral, producida a partir de frijol soya descascarillado. Contiene un mínimo de 18% de grasa en b.s.

3) Harina de soya con bajo contenido de grasa. Se produce adicionando lípidos a la harina desgrasada. Su contenido de grasa varía de un 4.5 a un 9% en b.s.

4) Harina de soya lecitinada. Se produce adicionando lecitina a la harina de soya desgrasada. El contenido de grasa es superior a un 15% b.s.

5) Harina de soya enzimáticamente activa. Contiene de un 19 a 21% de grasa b.s.

Las harinas de soya tienen un sabor amargo lo que representa un problema; este sabor puede ser parcialmente eliminado por tratamientos térmicos o alcalinos, pero el tratamiento alcalino desnaturaliza las proteínas y afecta la solubilidad. El tratamiento térmico también reduce las propiedades de suspensión de sólidos y produce partículas duras y granulosas que exhiben una textura pobre al ser suspendidas en agua. En adición a estos factores, se presenta la alta viscosidad, lo cual ha hecho a las harinas de soya difíciles de aplicar a la producción de bebidas. (22)

Para evitar este problema se han desarrollado una serie de métodos entre los que se encuentra la "proteína soluble de soya".

Proteína soluble de soya. Se obtiene remojando previamente el frijol de soya en etanol al 15% con bicarbonato de sodio 0.1N a 60°C durante 6 hrs. Posteriormente se remoja a 4°C durante 18hrs para moer a 92°C hasta 12% ST. Se filtra en una malla 30 y posteriormente un tratamiento térmico 121°C / 15 min. Homogenizado: 1) 350 psia, 2) 50 psia. Deshidratado por aspersión. (23,26)

D.1.3.2. Concentrados.

Contienen un mayor porcentaje de proteínas que van de 66 a 70% dependiendo del proceso de elaboración; en su manufactura se elimina la mitad de los hidratos de carbono.

Existen tres procesos para su elaboración. En el primero de ellos se utiliza una solución de etanol al 60-80% para quitar ciertas fracciones solubles como son los oligosacáridos y cenizas, las proteínas y los polisacáridos precipitan debido a que son insolubles en alcohol. Se obtiene un concentrado proteico.

El segundo proceso implica una extracción de las proteínas en su punto isoelectrico en el que las globulinas y los polisacáridos se insolubilizan y precipitan, y posteriormente se neutraliza y se seca. El tercer método utiliza calor húmedo para desnaturalizar e insolubilizar los polipéptidos de la harina, seguido de un lavado con agua para eliminar los azúcares. (22,26)

Los concentrados obtenidos por estos métodos tienen aproximadamente la misma concentración de proteína, sin embargo, los producidos con ácidos son mucho más solubles que los elaborados con etanol o con calor húmedo. En general tienen un sabor y olor menos intenso que las harinas.

D.1.3.3. Aislados.

Es el producto con el más alto grado de proteína (93%), obtenido a partir de concentrados de proteína, eliminando los polisacáridos y los oligosacáridos. El proceso de aislamiento se basa en las diferencias de solubilidades de las fracciones globulínicas con respecto al pH. La extracción se obtiene a partir de harina a un pH alcalino, seguida de precipitación a pH ácido. Se obtiene un proteinato de sodio que es más soluble en agua que la proteína en su punto isoelectrico.

Una de las propiedades funcionales de este tipo de proteína es su capacidad de gelación cuando el aislado es disperso en agua y calentado a condiciones apropiadas (65°C). Los geles pueden ser producidos en concentraciones de 12% o más, dependiendo de la dureza que se desee lograr.

D.2. Estabilizantes. Sustancias macromoleculares que no poseen una acción emulsionante directa, pero que consolidan las emulsiones. Su eficacia obedece a formar películas en las superficies de separación, o cargas eléctricas; También por su función de coloide protector, no son solubles en grasa ni tampoco forman soluciones verdaderas. Se utiliza en bebidas para darle estabilidad a los sólidos en suspensión presentes o a las emulsiones. (24)

El parámetro que debe analizarse para la elaboración de la bebida, radica en la estabilidad de la proteína. Para ello es necesario, la adición de un estabilizante en la concentración a la cual se tiene este efecto. Cabe mencionar que el resto de los ingredientes no sufren alteración en cuanto a su naturaleza y concentración.

De acuerdo con la viscosidad óptima, fijación de agua previa, y demás propiedades y requerimientos industriales, se precisa agregar una cantidad de estabilizador que va de 0.05% al 5%.

La siguiente tabla nos da una lista de los estabilizadores utilizados en la elaboración de bebidas refrescantes:

<i>Estabilizante</i>	<i>Dosis permitida.</i>
Alginato potásico	máx. 500 ppm.
Alginato cálcico	aislados o en conjunto.
Alginato de propilenglicol	
Carragenatos	máx 50 ppm
Goma xantana	B.P.F.
Goma arábiga	B.P.F.
Carboximetilcelulosa	máx 2,000 ppm
Goma Guar	0.25-0.75%

B.P.F. = Buenas prácticas de fabricación.

En base al proceso de elaboración de la bebida, es importante considerar que el estabilizante debe ser estable a ciertas condiciones como pH 3.5-3.8 y temperatura de 96°C. De tal forma, que se restringe el uso de algunos aditivos que se presentan en la lista, como son: alginatos y carragenatos.

A.2.1. Goma arábiga.

La influencia de su grupos ácidos hace que la viscosidad de sus dispersiones se vea afectada por la adición de ácidos y álcalis, y por la presencia de cationes. Dos de sus características principales son su alta solubilidad en agua (50%) y la baja viscosidad que desarrollan. (27,28)

No tiene un efecto tóxico. Según el Codex III. Químico Alimentario se permite un nivel máximo de 2%. Su función es básicamente emulsificante, estabilizante y espesante.

Las soluciones que contienen 37% de goma arábiga son fácilmente preparadas a 25°C. A concentraciones de 40-50% se forman soluciones de alta viscosidad. La habilidad de formar soluciones altamente concentradas se debe, a que tienen excelente estabilidad y propiedades de emulsificante en la presencia de grandes cantidades de material insoluble.

(28)

La adición de electrólitos a la solución de la goma arábiga resulta en un decremento de la viscosidad, la cuál es proporcional al incremento en volumen de el colón o al incremento en la concentración del electrólito.

La viscosidad se incrementa con el pH, mostrandose la máxima en un intervalo de pH entre 4.5-5.5, por arriba de este valor empieza a observarse una caída gradual de la viscosidad, que se ve acentuada al tener pH mayores de 6.

Su aplicación es básicamente la de estabilizante en bebidas y emulsificante en la preparación de concentrado de sabor. Es utilizado en bebidas en polvo, preparación sintética de pulpa de fruta (imitación de bebidas de fruta).

A.2.2. Carboximetilcelulosa.

La reacción de celulosa con ácido cloroacético en presencia de álcali conduce a la formación de carboximetilcelulosa. Sus propiedades dependen del grado de sustitución (0.3-0.9%) y de polimerización (500-2,000 unidades), siendo las más sustituidas las solubles en agua (>0.4). Tanto la solubilidad como la viscosidad son dependientes del pH. La presencia de metales tiene poco efecto en la viscosidad. Los solutos son estables entre pH 2-10. Por debajo de pH=2, ocurre la precipitación del soluto. Arriba de pH10 la viscosidad decrece rápidamente. Es un material muy hidróscópico, absorbo 18% de su peso de agua en 48hrs con 50% HR y 24°C. Es un buen cololde protector útil para estabilizar emulsiones y compatible con azúcares. (27)

A.2.3. Goma guar.

La viscosidad de la goma guar en solución es proporcional a la concentración. La viscosidad incrementa aritméticamente en soluciones inferiores al 0.5%, pero superiores al 0.5% la viscosidad incrementa exponencialmente. Para una concentración de 1% se tiene una solución acuosa, pero en 2.5% se forman geles.

A pH 3.5-9, la viscosidad de las soluciones con goma guar no representa cambios. (29)

Tiene un efecto sinérgico en combinación con la goma xantana en relación 1:3, a una concentración de 0.2% de goma en total. Lo mismo sucede cuando se mezcla goma guar (0.3-0.75%) con k-carragenina, al 1% de goma en total. (27)

Es resistente a la hidrólisis en condiciones ácidas, soluble en agua fría, su costo es razonable y no aporta ningún sabor.

Se utiliza en concentraciones de 0.25-0.75% de peso total del producto para néctares y jugos de fruta.

A.2.4. Goma xantana.

Los electrolitos tienen efecto sobre la viscosidad. A una concentración de goma, adicionar NaCl, reduce considerablemente la viscosidad. Altas concentraciones de electrolito tienen un efecto opuesto. La viscosidad de la solución de la goma xantana permanece virtualmente sin cambios a pH 1-13. A pH > 9 la goma es gradualmente diacelilada, lo que tiene poco efecto sobre las propiedades de la solución. (29)

Para obtener soluciones óptimas (reológicas y uniformes), se requiere 0.01% electrolito. Rango permitido 0.05-1.00% (w/w).

E. Vida de anaquel.

E.1 Tipos de deterioro.

Las bebidas como producto terminado, pueden sufrir diferentes tipos de deterioro:

1) Deterioro Físico.

- a). Apariencia. Puede presentarse un anillo en el cuello de la botella, lo que indica que la emulsión se ha roto y es el resultado de una inadecuada homogenización durante la manufactura del sabor.
- b). Precipitados floculentos pueden ser el resultado de un tratamiento pobre de aguas, por una filtración inadecuada.

2) Deterioro Químico.

- a). Los efectos de deterioro químico pueden darse por la presencia de hierro y cobre en el agua, lo que da lugar a un cambio de coloración en el producto.
- b). El pH bajo, acidez alta, puede dar lugar a la inestabilidad de la proteína, con la consecuente precipitación.

3) Deterioro Bioquímico.

- a). Actividad enzimática: carbohidratasa y lipasa. Las primeras pueden provenir de la pulpa dando lugar al deterioro de la misma si su manufactura no ha sido adecuada y consecuentemente afecta la calidad del producto final.
- b). La presencia de lipasa puede hidrolizar las grasas primordialmente, propiciando la rancidez, esto repercute en el olor y sabor de la bebida.

4).Deterioro Microbiológico.

a).Levaduras. Pueden provenir de las siguientes fuentes: Materias primas como el azúcar, sabores y colores contaminados, empaques, operaciones sanitarias no adecuadas de la planta, equipos y línea de tuberías contaminadas, envase contaminado.

b).Si el proceso de pasteurización no ha sido el adecuado, la presencia de aire puede dar lugar al crecimiento de hongos. Estos pueden provenir del jarabe ó de la proteína.

C).Bacterias. Pueden provenir básicamente del agua de proceso, de la materia prima y las malas prácticas de manufactura. Su presencia causa olores y sabores desagradables en el producto final.

La vida de anaquel de la bebida va a estar determinada por la ausencia o presencia de estos tipos de deterio. Sin embargo el deterioro microbiológico es el que repercute de forma más drástica. La presencia de microorganismos en este tipo de productos se agrupan de la siguiente manera: (34)

1. Cuenta Total Microbiana. Mesófilos aerobios.

El grupo está formado por una gran variedad de microorganismos que comparten el caracter de ser aerobios y la capacidad para proliferar entre los 20 y 37°C que son los extremos de las temperaturas a las cuales suele realizarse este recuento.

El agua puede contener flora microbiana habitual por microorganismos que provienen del suelo.

Los géneros que se encuentran en las aguas naturales son principalmente: *Pseudomonas*, *Chromobacterium*, *Proteus*, *Achromobacter*, *Micrococcus*, *Bacillus* *Streptococcus* (enterococos), *Aerobacter* y *Escherichia*. Los tres últimos son posiblemente contaminantes y no forman parte de la flora natural.

De acuerdo a la Secretaría de Salud, el agua debe estar libre de contaminación fecal, esto se puede verificar con las pruebas Indicadoras de bacterias coliformes.

E.3 Especificaciones microbiológicas de la bebida.

Mesófilos aerobios	Máximo 20 colonias / ml.
Levaduras	Máximo 10 colonias / ml.
Hongos	0 colonias / ml.
Coliformes	0 colonias / ml.

NOM-F-439-1983.

2. Microorganismos coliformes.

En este grupo se incluyen los géneros de *Escherichia*, *Aerobacter* y *Paracelobactrum*. Las dos especies más importantes son *Escherichia coli* y *Aerobacter aerogenes*; los cuales son bacilos cortos, aerobios y anaerobios facultativos, gram(-), no forman esporas y fermentan los azúcares con producción de ácido y gas. Las bacterias coliformes se caracterizan por:

1. Se consideran como signo de contaminación fecal y posiblemente por bacterias entéricas patógenas.
2. Su capacidad para crecer bien en numerosos sustratos utilizando como fuente de energía un gran número de carbohidratos y por sintetizar las vitaminas que necesitan.
3. Crecer en un amplio rango de temperatura.
4. Producen a partir de azúcares ácido y gas.

3. Hongos.

El crecimiento fúngico en los alimentos se caracteriza por el aspecto algodonoso y en algunos casos desarrollan una coloración. La presencia de hongos o levaduras en este alimento es causa de rechazo en el producto pues no se considera apto para su consumo.

Características generales:

1. Su crecimiento es más lento que el de las levaduras y las bacterias.
2. Necesitan menos humedad que la mayoría de las levaduras y bacterias.
3. La mayoría puede considerarse mesófilos (25-30°C).
4. La mayoría crecen en un intervalo muy amplio de pH (2-8.5), pero se desarrollan mejor a pH ácidos.
5. Son aerobios.
6. Algunos desarrollan sustancias inhibitorias para otros microorganismos, como es el caso de la penicilina producida por *Penicillium chrysogenum*.
7. Generalmente poseen gran cantidad de enzimas hidrolíticas.

Las especies del género *Mucor* se desarrollan algunas veces sobre frutas maduras y tanto éstas como las de los géneros *Aspergillus* y *Penicillium*, son de gran importancia en relación con los alimentos, puesto que pueden desarrollarse lentamente en concentraciones muy elevadas de azúcar y pH ácido. Además, muchas especies de *Aspergillus* son más resistentes al calor que otros hongos, lo mismo sucede con el género *Mucor* y *Penicillium*. Estos tres géneros son capaces

de fermentar la glucosa con la subsecuente producción de ácido cítrico. Generalmente poseen una gran cantidad de enzimas hidrolíticas, por ejemplo:

Pectinesterasa.- Que hidroliza los enlaces estermetilo de la pectina, transformandola en ácido poligalacturónico y metanol.

Poligalacturonasa. Que hidroliza el ácido poligalacturónico, transformandolo en ácido monogalacturónico (D-galacturónico).

4. Levaduras.

Características generales:

1. Pueden caracterizarse como mesófilas.
2. Pueden mutar sus características fisiológicas, de tal manera que pueden adaptarse a nuevas condiciones para desarrollarse.
3. El pH óptimo de crecimiento es 4-4.5. Al menos que haya una adaptación, no se desarrollan bien en medio alcalino.
4. No son muy termoresistentes. Ninguna puede soportar temperaturas de 100°C.
5. No pueden crecer en concentraciones altas de azúcar, a excepción de las levaduras osmófilas. Sin embargo, éstos son la mejor fuente energética.

F. Pruebas de aceptación.

En un programa de evaluación sensorial, las pruebas de aceptación son un componente necesario para "medir" el agrado o preferencia por un producto.

La información que da este tipo de pruebas se ha vuelto necesaria en el desarrollo de un nuevo producto o su modificación, antes de que salga al mercado, ya que, puede representar una pérdida o ganancia capital sustancial para cualquier empresa interesada en lanzar un producto.

La pruebas de aceptación se realiza con jueces que no requieren de un entrenamiento. Las personas que participan son jueces-afectivos o consumidores con un deseo de participación en la realización de la prueba.

Sean realizado trabajos aplicando pruebas sensoriales en niños, y los resultados muestran que los niños que se encuentran entre 6-12 años tienen más capacidad perceptible, que los que tienen menor edad. Sin embargo, dentro de este rango de edades, varía la habilidad del individuo; es por ello que se sugiere utilizar una prueba sencilla para los jueces afectivos. (31)

Estudios realizados por diversos investigadores muestran que existen factores que influyen sobre la aceptación o preferencia en cierto tipo de productos por parte del juez. La edad del consumidor ha sido reportada como uno de esos factores. En general, a medida que incrementa la edad del consumidor hay una tendencia decreciente en la preferencia por bebidas dulces. De ahí que, no es recomendable trabajar con niños para evaluar el sabor detectado en adultos para cierto tipos de alimentos, ya que los niños poseen un grado de maduración distinto al de un adulto, para producir una respuesta representativa en pruebas del gusto. (33)

Otros factor de que hacen mención algunos investigadores (Alexander 1947, Eppright 1950, Baker 1962), es el sexo del consumidor. Generalmente, el agrado o disgusto hacia un producto es más pronunciado cuando se trabaja en grupo de un mismo sexo qua en un grupo de ambos sexo. Aunque la mujer está más familiarizada con un amplia gama de alimentos, tienen más aversiones que los hombres. Otros investigadores como Weckel 1960, piensan que la diferencia de gusto en un alimento se ve más bien pronunciada por la edad que por el sexo. (33)

IV. MATERIAL Y METODOLOGIA.

A. Selección de la proteína.

Los parámetros analizados para seleccionar la proteína a utilizar fueron su disponibilidad, pureza y costo. Es importante mencionar que son muchas las alternativas para utilizar un compuesto comercial como fuente de proteína. Sin embargo, su consideración se reduce básicamente en su costo que se determina por el tipo de proteína, el método de obtención, pureza del compuesto, entre otros.

La forma comercial de las proteínas con las cuales se trabajó fue la siguiente:

Caseinato.

Producto: caseinato de sodio EM25. Marca HELM de México.

Análisis de composición.

Determinación.	Especificaciones.	Resultado.
Descripción:	Potvo fino de color blanco crema	Conforme.
Proteína	Mín. 88.0%	89.2%
Humedad	Max. 8.0%	5.4%
Cenizas (625°C)	Max 4.5%	4.3%
pH (sol 10%, 30°C)	Max 7.0	6.6
C. T. Microbiológica	Max 2500/g	< 50 col/g
C. Esporas Anaerob.	Max 100/g	< 5 col/g
C. Esporas aerobicas	Max 100/g	< 5 col/g
Clostridia	Max. 50/g	< 5 col/g
Hongos y levaduras	Max. 50/g	< 5 col/g
Enterobacterias	Max. 10/g	< 1 col/g
<u>Staphylococcus aureus</u>	Negativo en 1g	Negativo en 1g
Salmonella	Negativo en 50g	Negativo en 50g

Concentrado de proteína de suero. ALACEN 855. Marca New Zealand Milk Products, Inc

Análisis de composición.

Determinación	
Proteína (N x 8.38) %	78.5
Cenizas %	4.5
Humedad%	4.0
Grasa %	4.5
Lactosa%	1.5
pH (5% a 20°C)	6.7
Cuenta total en placa	< 15,000/g
Coliformes (col/g)	<10
E. Coli (1g)	negativo
Hongos y levaduras (col/g)	<50
<u>Staphylococcus aureus</u> (1g)	negativo
Salmonella (100g)	negativo

B. Selección del estabilizante.

La estabilidad de la bebida radica básicamente en mantener en suspensión a la proteína ante diferentes etapas del proceso como la acidificación, pasteurización, etc. Cabe mencionar que por sí sola la proteína se sedimentaría al ser sometida a las condiciones de proceso. Para ello es necesario utilizar un estabilizante que evite que ésta sedimente y que no aporte al producto características indeseables que disminuyan la aceptación o que cambien por completo el concepto de la bebida, es decir, que aporte un sabor diferente, una alta viscosidad, o inclusive que sea difícil su manejo, etc.

El tipo y la forma comercial de los estabilizantes utilizados fue la siguiente:

Carboximetilcelulosa. Palsgaard 5847. Marca Palsgaard. Polvo blanco. Estable a condiciones ácidas y neutras.

Composición: carboximetilcelulosa, E 488
citrato de sodio, E 331

Xantana. Palsgaard 5304. Marca Palsgaard. Polvo ligeramente amarillo. Estable en condiciones ligeramente ácidas y neutras. En concentraciones de 1%, temp 20°C tiene una viscosidad de 1950cps +/- 15%.

Composición: Goma xantana, E 415.

Goma Arábiga. Acacia NF. GN 00.401. Gomas Naturales, S.A. de C.V. Polvo color blanco a crema. Solución al 20% pH 4.0-4.8. En concentración de 20% tiene una viscosidad de 150cps.

Goma Guar. No. G200.0713. Marca HELM. Polvo blanco amarillento. Viscosidad en concentración al 1% p/v 6500cps.

La utilización de estos estabilizantes ofrece ventajas y desventajas en la elaboración de bebidas:

ESTABILIZANTE.	VENTAJAS	DESVENTAJAS.
Goma arábiga.	Baja viscosidad (1%). Alta solubilidad. Nivel máx. 2%	La dispersión se ve afectada por acidez y álcalis.
Goma Guar	Al 1% se tiene solución acuosa	A pH < 3.5 la viscosidad presenta cambios.
Goma xantana	viscosidad sin cambio a pH 1-13.	La goma es gradualmente diacetilada de acuerdo al pH.
Carboximetilcelulosa.	La viscosidad y solubilidad depende de pH Estabilidad pH 2-10. Compatible c/azúcares	A pH < 2 precipitación.

Tabla 2.

C. Proceso de elaboración.

La composición de la fórmula de una bebida convencional con pulpa de mango es:

Ingrediente.	Porcentaje.
agua	75.86
azúcar	10.74
ác. cítrico	0.09
concentrado	0.50
benzoato de sodio.	0.10

La modificación de la bebida consiste en la adición de la proteína y al mismo tiempo la de un estabilizante. Para encontrar la concentración óptima de estabilizante se utilizaron en los siguientes porcentajes.

proteína	1.00 %
estabilizante	0.40, 0.30, 0.20, 0.10 %

C.1. Preparación de una base.

La idea es preparar una "base del refresco." que contenga todos los ingredientes en la cantidad requerida, sin la adición de la proteína, el estabilizante y el ácido cítrico, ya que éstos tres últimos van a formar parte de otro sistema químico que llamaremos solución de la proteína estable y, que ha de adicionarse a la base del refresco en alguna etapa de elaboración de la bebida.

Preparación del jarabe.

Del total de agua requerida para la elaboración de la bebida, el 8.0% está destinada a la elaboración del jarabe. Tomando como parámetro 1000Lt de bebida, 758.6 lt serán de agua y de éstos se utilizarán 60.4lt para la preparación del jarabe.

La cantidad de ingredientes para preparar la base del refresco, son:

ingrediente.	Kg/ 1000 lt
azúcar	107.42
agua para el jarabe	60.40
benzoato de sodio	1.00
pulpa	114.00
concentrado	5.00

La densidad del agua es 1.0, ($\rho = P \text{ esp.}$), por lo tanto 60.4 Lt de agua equivalen a 60.4 Kg de agua.*****

$$\begin{aligned} \text{Peso total de jarabe simple} &= \text{Kg azúcar} + \text{Kg de agua.} \\ &= 107.42\text{Kg} + 60.4 \text{ Kg} = 167.82\text{Kg} \end{aligned}$$

El peso del jarabe simple cubra un volumen de 131lt. Entonces, podemos determinar su densidad:

$$P_{\text{jarabe}} = \frac{167.82\text{Kg}}{131.00 \text{ Lt}} = 1.281$$

Una densidad de 1.281 equivale a 83.2 °Brix. (Anexo I)

Una vez que se ha elaborado el jarabe simple se procede a filtrarlo, ya que muchas veces la materia prima, en este caso el azúcar, contiene materia extraña que es necesario eliminar.

Tomando en cuenta la cantidad de pulpa de mango a utilizar, se adiciona al jarabe en agitación constante para formar una mezcla homogénea. Si la pulpa se adiciona en cualquier otra etapa del proceso, es más difícil que ésta se incorpore homogéneamente en la bebida.

Una vez que se ha formado esta mezcla, se agrega el concentrado y el benzoato de sodio en una solución al 20% para llevar un mejor control sobre su adición.

Tanto el concentrado como la pulpa de mango son ingredientes que se elaboran en la Sociedad Cooperativa Trabajadores de Pascual.

De esta forma, la preparación de la base incluye los siguientes puntos:

1. Medir las cantidades correspondientes a cada ingrediente para preparar la "base del refresco".
2. Precalentar el agua
3. Agregar el azúcar y agitar hasta su disolución total.
4. Medir los °brix del jarabe simple para hacer corrección de ser necesario.
5. Si hay materia extraña en el jarabe, filtrarlo en una malla.
6. Adicionar la pulpa de mango al jarabe, dando una agitación constante.
7. Agregar el concentrado a la mezcla de preparación
8. Por último, agregar el benzoato de sodio en forma de solución al 20%. Se trabaja en solución para llevar un mejor control sobre su manejo.

C.2. Preparación de la solución de proteína estable.

Se utilizará el 24% del total de agua requerida para elaborar la bebida, ya que ésta es la cantidad mínima necesaria para poder disolver la proteína, es decir, se obtiene una solución con la máxima concentración de proteína en un volumen mínimo de preparación. De esta manera se facilita la transportación de la solución al tanque de preparación de la bebida.

El agua debe estar aproximadamente a una temperatura de 55°C para facilitar la solubilidad del estabilizante y de la proteína. Por debajo de esta temperatura la solubilidad es muy lenta y por arriba de ésta, se forma una solución chucosa.

El pH del agua se ajusta a 3.6 aproximadamente para facilitar la solubilidad del estabilizante.

Para preparar una solución de proteína estable se llenan los siguientes puntos:

1. Utilizar el 24% del total de agua para la preparación de esta solución.
2. Llevar la temperatura a 55°C \pm 2 °C.
3. Ajustar el pH del agua a 3.6 \pm 0.2 unidades, con la solución de ácido cítrico al 50 %.

4. Dispersar el estabilizante en el agua ajustada, llevando una agitación constante. y cuidando que la temperatura no varíe.

5. Disuelto el estabilizante, agregar poco a poco la proteína. En este punto es importante que la mezcla no rebase la temp de 55°C.

6. La preparación termina cuando la proteína está totalmente disuelta.

C.3 Preparación de la bebida.

En esta etapa final de elaboración de la bebida es importante adicionar agua a la base del refresco a un volumen tal que, al adicionar la solución de proteína estable y el ácido cítrico, se cubra en lo posible el volumen total de la bebida. Esta operación tiene la finalidad de diluir el ácido cítrico en la base del refresco de tal manera que, al adicionar la solución de proteína pueda ser estable al pH que se tiene.

La preparación de la bebida contempla los siguientes pasos:

1. Agregar agua a la base del refresco hasta faltar un volumen poco mayor al de la proteína estabilizada para cubrir el volumen total de bebida.

2. Agregar el ác. cítrico en solución al 50%, considerando que al volumen requerido hay que restar el que se utilizó en el ajuste del agua para la disolución del estabilizante.

3. Adicionar lentamente y en el seno de la mezcla, cerca del agitador, la solución estabilizada de proteína. La agitación debe ser constante.

4. Aforar con agua el volumen total de bebida,

5. Pasteurización de la bebida.

6. Envasado en caliente (61.5°C).

D. Pruebas de estabilidad.

El estabilizante óptimo y su concentración adecuada, será el que de a la proteína la mayor estabilidad en todo el sistema complejo y ante las condiciones de proceso. La estabilidad de la proteína se midió mediante pruebas de sedimentación.

Las pruebas de sedimentación se determinan por la técnica de *volumen de sedimentación* de la bebida, este parámetro es la relación entre el volumen de equilibrio y el volumen total de la suspensión.

Procedimiento:

Se preparan 10g de muestra y se colocan en una probeta de 100ml, se afora con agua, posteriormente se agita cada 2hrs, y una vez que han transcurrido 24hrs, se toma la lectura del volumen de sedimentación.

Importante:

Hay que señalar que, las pruebas de sedimentación se realizaron manejando una variable: agitando la probeta cada 2hrs y dejandola en reposo durante las 24hrs. Este manejo de la variable no trajo diferencia en el volumen de sedimentación. De tal forma que, el procedimiento que se manejó en esta prueba fué el siguiente:

Se prepararon 500ml de muestra y se colocaron en una probeta de 500ml, una vez transcurridas 24hrs, se tomó la lectura del volumen de sedimentación.

E. Vida de anaquel.

Hay que considerar que el producto por ser elaborado con pulpa de fruta y enriquecido de proteínas, es una fuente muy susceptible al crecimiento de microorganismos. Además, diversos factores, como son condiciones de almacenamiento, calidad del empaque, forma de manejo, etc, dan lugar a que el producto pudiera sufrir una contaminación indeseable que altere su calidad por los cambios químicos que se producen en él. Es por ello que se ha determinado la vida de anaquel del producto, para garantizar la calidad de éste cuando llega al consumidor. El tiempo que se estima es de cuatro meses.

E.1. Análisis físicoquímico.

a). Determinación de pH.

Fundamento: Todas las sustancias por lo general son constituyentes ácidos o básicos que al encontrarse en agua se disocian. El pH es el logaritmo del recíproco de la concentración de los iones hidrógeno. Su modificación puede estar dada por la fermentación de los azúcares presentes, debido a la acción de microorganismos.

La prueba se realiza utilizando un potenciómetro digital previamente calibrado con una solución buffer de pH conocido (4 y 7). La lectura se realiza a una temperatura de 20°C.

b). Determinación de acidez titulable.

Fundamento: Consiste en neutralizar todas las sustancias protonadas que se encuentran en el medio y que son capaces de actuar con una solución básica. Los cambios en la acidez son indicios de contaminación microbiana principalmente.

- Se realiza por titulación con NaOH 0.1N usando fenolftaleína en solución alcohólica como indicador. Los mililitros requeridos de sosa para neutralizar 10ml de muestra se expresan en términos de ácido cítrico. La acidez se expresa convencionalmente en g de ácido cítrico usados por 100ml de producto. Factor del ácido cítrico 0.064.

c). Determinación de °Brix.

La técnica está basada en la refracción que tiene la sacarosa en un medio acuoso, al hacerle incidir una luz. La refracción está en función de la concentración.

- La prueba se efectúa utilizando un refractómetro digital marca ATAGO. La temperatura de lectura es 20°C.

d). Sólidos en suspensión.

Nos dan una idea del estado de agregación de las partículas en el sistema. Para este caso, indica que tan estable es la proteína para mantenerse en suspensión.

Técnica utilizada :

Determinar el peso constante de un papel filtro No.4. Ponerlo a una temperatura de 100°C±2°C durante una hora. Dejar enfriar y pesar. Ponerlo nuevamente en la estufa durante media hora a las mismas condiciones, enfriar y pesar. El peso constante será cuando el peso no varía en 0.0005 g entre una y otra determinación.

Pesar 20ml de muestra.

Filtrar la muestra utilizando el papel filtro cuyo peso constante se conoce.

Colocar el papel filtro con los sólidos retenidos a la estufa por espacio de 1 hora a una temperatura de 100°C..

Transcurrido ese tiempo se deja enfriar la muestra y se pesa.

Los sólidos en suspensión se determinan por la diferencia en peso del papel filtro vacío y del papel filtro con la muestra después de secada en relación al peso de muestra en gramos.

$$(A - B) / C \times 100$$

Donde:

A= peso del papel filtro con la muestra seca.

B= peso constante del papel filtro.

C= peso de la muestra.

Para todos los casos las lecturas de cada prueba fueron tomadas cada 21 días, utilizando tres lotes y cada uno se trabajó por duplicado; dan un total de seis lecturas por cada prueba. En los resultados sólo se escribe el promedio de los mismos, para facilitar la apreciación de la tendencia de la muestra en estudio.

E.2. Análisis microbiológicos.

Para realizar el análisis microbiológico de la bebida se hizo un muestreo cada mes y se trabajó por duplicado la muestra.

a). Determinación de microorganismos coliformes.

Se realiza en un medio de agar bilis y rojo violeta (preparación en el anexo II). Las colonias de las bacterias fermentadoras de la lactosa son de color rosa; en ocasiones los cocos del contenido intestinal pueden desarrollar en el medio pequeñas colonias, puntiformes y de color rosado.

b). Determinación de hongos y levaduras.

Esta prueba se realiza en Agar papa dextrosa (preparación en el anexo II), manejando distintas diluciones de la muestra y acidificando el medio de cultivo, de tal manera que al final de la incubación se cuenta el número de colonias presentes considerando el factor de dilución.

c). Número más probable.

Para su determinación se realizan distintas diluciones de la muestra y se siembran en un caldo de lauril sulfato (preparación en el anexo II). La producción de ácido y de gas es una prueba indicadora positiva que señala la posible presencia de coliformes, ya que el lauril inhibe la flora acompañante indeseable, mientras que la concentración alta de NaCl es soportada por los coliformes. Esta prueba se confirma haciendo una resiembra a partir de los tubos de lauril sulfato a un caldo bilis verde brillante, la producción de gas y la fermentación de la lactosa constituyen la confirmación de la prueba.

d). Mesófilos aerobios.

El medio de determinación es Agar soya tripticaseína (preparación en el anexo II). Se calcula el número de microorganismos presentes en la muestra de acuerdo a las unidades formadoras de colonias después de haber incubado el medio y tomando en cuenta el factor de dilución.

F. Pruebas de aceptación.

El método utilizado para el análisis de la bebida fue de tipo afectivo, mediante una prueba de aceptación, es decir, se evalúa con un criterio personal-subjetivo si la muestra presentada es aceptable o rechazable para su consumo.

Se trabajó con este tipo de prueba ya que la bebida reformulada tiene una apariencia y sabor diferente a la bebida tradicional. No se pretende, por esta razón, saber si el consumidor detecta alguna diferencia en las muestras, pues de antemano es apreciable. Ni tampoco el objetivo es sustituir a la bebida ya conocida y aceptada por el consumidor.

Factores que se consideraron:

Muestra. Se trabajó únicamente con la muestra a evaluar, valiéndonos del criterio o gusto personal de cada juez para aceptar o rechazar la muestra.

Jueces-afectivos. Las personas que participan en este tipo de pruebas, corresponden a los consumidores potenciales o habituales del producto en estudio, en este caso, se trabajó con niños de 2° a 6° año de nivel primaria.

Hojas de respuesta. El cuestionario utilizado lleva una escala hedónica de dos puntos, representada con caritas, como se muestra en la fig.1.

Aplicación. Se aplicó un total de 300 degustaciones.

a). Para aplicar la prueba, los niños fueron recluidos en un salón en grupos de 20-25 personas y pertenecientes a un mismo grado escolar.

b). Se utilizó material didáctico, esto es, el cuestionario que se dio individualmente, se mostró en un acetato y fue explicado. Al mismo tiempo se les dio lo necesario para contestar.

c). Al término de la prueba se agradeció su participación con la entrega de obsequios.

Análisis de datos. Una manera de someter a un análisis los resultados obtenidos es por el método de la Ji-cuadrada. Se utiliza para probar, de acuerdo con cierta hipótesis en qué grado una distribución de frecuencia observada se compara con una distribución esperada o teórica. La distribución de Ji-cuadrada se publica en tablas (tabla 2, Apéndice 1. Tablas estadísticas), las cuales muestran los valores de Ji-cuadrada para algunas combinaciones de probabilidad para varios grados de libertad. Si el valor calculado de Ji-cuadrada es mayor al valor de tablas en un cierto nivel de significancia y para el grado de libertad apropiado, se concluye que la distribución observada no es semejante a la esperada, por lo que se rechaza la hipótesis planteada.

Cuestionario aplicado a las pruebas de aceptación.

¡ Hola !

**Conocerás la nueva bebida de PASCUAL
sabor mango. Pruebalal.
Marca con una "X" la carita que repre-
sente tu gusto.**



	
GUSTA	DISGUSTA

Fig.1

G. Caracterización de la muestra.

G.1. Sólidos totales.

La determinación de sólidos totales resulta de la diferencia en 100 de la humedad determinada en el producto. La humedad es la pérdida en peso por evaporación que sufre el producto al someterlo a las condiciones preescritas, expresadas en porciento. El método utilizado es por arena o gasa, el cuál se extiende en el Diario Oficial de los Estados Unidos Mexicanos el 24 de Oct. 1994. 2da. sección.

Preparación de la muestra.

1. Preparación de las capsulas. Se pesan 30g como máximo de arena (tamaño partícula 0.1-0.3 mm) o gasa recortada al tamaño del fondo de la cápsula. Secar previamente las capsulas entreabiertas colocandotas sobre una varilla de vidrio, durante un mínimo de 2 horas a 100 +/- 2°C. Taparlas e introducirías al desecador y dejar enfriar a temperatura ambiente y pesar con precisión de 0.1mg (M1).

2. Preparación de la muestra. Justo antes de tomar la muestra, homogenizarla bien, si es necesario, colocar el envase original en baño maría a 40°C para poner en suspensión los componentes que hayan podido separarse.

3. Procedimiento.

3.1. Colocar en la cápsula preparada < 10g de producto, volver a tapar la capsula y pesar con precisión de 0.1mg (M2).

3.2. Después de pesar, mezclar bien la muestra con arena o colocarla sobre la gasa.

3.3 Se evaporar a sequedad, sin tapa, por medio de un baño maría. Durante la evaporación el contenido de la cápsula se remueve de vez en cuando al principio y más a menudo al final.

3.4. Introducir en la estufa las cápsulas. Colocar las tapas de manera que al final del tiempo de secado puedan taparse rápidamente, cerrar la estufa y secar durante 4 horas a 100 +/- 2°C. Colocar en los desecadores, dejar enfriar hasta temperatura ambiente y pesar inmediatamente con precisión de 0.1mg (M3).

El contenido de humedad en la muestra se calcula con la siguiente fórmula en por ciento.

$$\% \text{ Humedad} = (M2 - M3 / M2 - M1) \times 100$$

Para determinar el por ciento de sólidos totales se resta a 100 el porcentaje obtenido de humedad.

$$\% \text{ S.T.} = 100 - \% \text{ humedad.}$$

G.2.Cuantificación de sacarosa.

Fundamento. La muestra se defeca para precipitar las proteínas, utilizando soluciones de acetato de plomo y oxalato de sodio. En un volumen se determinan los azúcares reductores directos y otro volumen es hidrolizado con ácido clorhídrico para determinar los azúcares reductores totales mediante una valoración espectrofotométrica según el método del ácido dinitrosalicílico. Para conocer la concentración de azúcares se utiliza una curva patrón con concentraciones conocidas de glucosa. (34)

a) Clarificación. Pesar 2ml de muestra y colocarla en un matraz volumétrico de 100ml. Aforar con agua. Transferir a un vaso de pp. y adicionar un exceso de solución de acetato de plomo neutro (2ml es suficiente). Mezclar este volumen y filtrar poco a poco. Adicionar oxalato de sodio para precipitar el plomo usado en la clarificación. Mezclar y filtrar poco a poco.

b). *Inversión.* Para que se realice la inversión, trabajar a temperatura ambiente colocando en un vaso de pp. de 100ml una alícuota de 50ml de muestra clarificada. Adicionar 10ml de HCl 1:1 y dejar reposar a temperatura ambiente durante 24 hrs. Neutralizar con una solución concentrada de NaOH usando fenolftaleína como indicador y diluir a 250ml con agua. Tomar una alícuota y determinar los azúcares totales invertidos.

c). *Reactivo DNS.* El reactivo de coloración se prepara disolviendo 1.0g de ác. 3-5Dinitrosalicílico en 50ml de agua a los que se le adiciona 25ml de solución de hidróxido de sodio 1N. Después de que todo el material se ha disuelto, se agrega 0.2g de fenol y 0.05g de sulfato de sodio, y una vez disuelto, toda la muestra se lleva a 100ml con agua desionizada. Esta solución debe ser almacenada en un frasco ámbar protegida de la luz.

d). *Curva patrón.* Preparar concentraciones de glucosa 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 mg/ml. Para preparar un solución de glucosa en 1mg/ml, se pesa 125mg y se transfieren a un matraz aforado de 125ml.

De esta solución se toman las siguientes alícuotas para preparar en resto de las diluciones:

Concentración. (mg/ml)	Alícuota (ml)	Aforo. (ml)
0.2	10	50
0.4	20	50
0.6	30	50
0.8	40	50

De cada dilución se toma 1ml de muestra y se transfiere a un tubo de ensaye, a cada uno de los cuales se le adiciona 1ml de reactivo DNS y se introducen a un baño maría a ebullición por 5 min. Posteriormente se enfrían los tubos y se les agrega 10ml de agua. Reposar 15min. y hacer la lectura en un espectro de absorbancia a 540nm, frente a un blanco preparado con agua y tratado de la misma manera.

e). *Determinación.*

1. *Determinación de reductores directos.*

Por la naturaleza de la muestra, los reductores directos se expresan como unidades de glucosa.

En un tubo de ensaye se agrega 1ml de muestra clarificada y se mezcla con 1ml de reactivo DNS, siguiendo el mismo procedimiento que la solución de glucosa de la curva patrón.

2. *Determinación de reductores totales.*

Se trabaja con 1ml de muestra clarificada y sometida a la inversión, tratada de la misma manera que al determinar reductores directos.

Cálculos.

Reductores directos.

$$\begin{aligned} X \text{ glucosa} &= (Y-b) / m \\ \text{g glucosa / g muestra} &= X \text{ glucosa} \times \text{Factor dilución / g muestra.} \end{aligned}$$

Reductores totales.

$$\begin{aligned} X \text{ az. inv.} &= (Y-b) / m \\ \text{g az. totales / g muestra} &= X \text{ az. inv.} \times \text{Factor dilución / g muestra} \end{aligned}$$

$$\text{Sacarosa} = (\text{azucres totales} - \text{glucosa}) \times 0.95$$

Donde:

X= conc. de glucosa o az.inv. expresada en mg.

Y= lectura de absorbancia de la muestra de interés.

m= pendiente de la recta que describe la absorbancia con respecto a la conc. de glucosa en la curva patrón.

b= ordenada al origen de la recta que describe la absorbancia con respecto a la concentración de glucosa en la curva patrón.

0.95= Relación entre el PM de la sacarosa y la suma del PM de los azúcares que resultan de la hidrólisis (glucosa y fructosa).

G.3. Proteína. Método Kjeldahl.

Fundamento. Las proteínas son oxidadas por el ácido sulfúrico; el nitrógeno que se encuentra en forma orgánica se fija como sulfato de amonio (digestión). Al hacer reaccionar esta sal con una base fuerte, se desprende amoníaco que se destila y se recibe en un volumen conocido de ácido valorado (destilación). Por titulación de ácido no neutralizado se calcula la cantidad de amoníaco desprendido y así, la cantidad de nitrógeno de la muestra. Este es transformado a contenido de proteína con un factor que relaciona el contenido promedio de nitrógeno de las proteínas 100g prot / 16gNl.= 6.25. (35)

Procedimiento.

Digestión. Pesar analíticamente 1.0g de muestra y transferirla al matraz Kjeldahl; agregar 0.3g de sulfato de cobre pentahidratado, 5g de sulfato de potasio, 15ml de ácido sulfúrico concentrado y se añaden cuerpos de ebulición. Se coloca el matraz en el digestor del aparato Kjeldahl, abrir el extractor de vacío y calentar hasta la total destrucción de la materia orgánica. La solución debe quedar cristalina. Enfriar. Diluir con 350ml de agua destilada y enfriar sobre un baño de hielo.

Destilación. Añadir 40ml de una solución concentrada de hidróxido de sodio (1:1) previamente enfriada en un baño de hielo, haciéndola resbalar por las paredes del matraz. Adicionar 0.2g de polvo de zinc, y conectar inmediatamente el matraz a la trampa de Kjeldahl, unida al refrigerante

que a su vez está conectado a una alargadera que va introducida en 50ml de HCl 0.1N, contenidos en un matraz Erlenmeyer de 500ml y adicionados con 5 gotas de indicador rojo de metilo. Agitar el matraz y colocarlo en la parrilla del destilador, destilar aproximadamente hasta un volumen de 250ml. Suspender la destilación.

Titulación. Titular el exceso de ácido con una solución valorada de hidróxido de sodio 0.1N, hasta vire amarillo del indicador.

Importante. Es necesario corregir la lectura mediante una determinación en blanco de los reactivos usados, empleando 1ml de agua destilada en lugar de la muestra.

Cálculo. Se calcula el porcentaje de porcentaje de proteína cruda.

$$\% \text{ Nitrógeno} = \frac{(\text{ml blanco} - \text{ml muestra}) \times N (\text{NaOH}) \times 0.014 \times 100}{\text{peso de muestra en gramos.}}$$

0.014 = meq. de Nitrógeno.

$$\% \text{ Proteína cruda} = \% \text{ nitrógeno} \times 6.25$$

G.4. Cenizas.

Fundamento. Las cenizas incluyen todos los compuestos inorgánicos fijos de la muestra, tanto los originales como los que provienen de contaminación. (35)

Procedimiento.

Pesar analíticamente el volumen de aproximadamente 5ml de muestra en un crisol pesado previamente a peso constante y, evaporar el agua en un baño maría hasta que el volumen se reduzca a una décima parte del volumen inicial. Si es necesario, colocar la muestra en una parrilla para eliminar el exceso de agua. Posteriormente calcinar la muestra metiéndola a la mufla a una temperatura de 525°C durante 2hrs. Se suspende el calentamiento cuando las cenizas estén blancas. Enfriar en desecador y pesar.

Cálculos. Las cenizas se determinan en porcentaje

$$\% \text{ cenizas} = \frac{(\text{peso crisol con cenizas} - \text{peso crisol vacío}) \times 100}{\text{peso muestra en gramos.}}$$

G.5. Conservador. Benzoato de sodio.

Fundamento. Este método es válido para determinar ácido benzoico en alimentos no sólidos y bebidas, donde el pH es ácido. La cantidad de ácido benzoico se determina espectrofotométricamente utilizando una curva patrón de dicho compuesto. (35)

Preparación de la curva estándar. Preparar una serie de soluciones en éter de ácido benzoico en concentraciones de 20,40,60,80,100 y 120 mg/l. Determinar la absorbancia de cada solución espectrofotométricamente utilizando una longitud de onda de 270nm. y una celda Beckman DU.

Preparación de la muestra. Transferir 10g o 10ml de la muestra y diluir a 200ml con una solución saturada de NaCl. Hacer la solución definitivamente ácida con HCl utilizando papel tornasol y mezclar bien.

Determinación. Lavar la solución preparada con porciones de 70,50,40 y 30ml de éter. Agitar la muestra hasta asegurar la completa incorporación (romper la emulsión por medio de centrifuga o reposo). Descartar la fase acuosa. Lavar el éter recuperado con porciones de 50,40 y 30ml de HCl 1:1000 y descartar los lavador de HCl (Si no se requiere purificación procedera a la siguiente parte). La fase orgánica (éter), lavarla con porciones de 50,40,30 y 20 ml de Hidróxido de amonio 0.1N y descartar el éter (fase orgánica). Neutralizar la fase acuosa (hidróxido de amonio), con HCl y adicional 1ml de exceso. Tratar la muestra acidificada con porciones de solución éter 70,50,40 y 30ml.

Diluir la fase orgánica(éter extraído), a 200ml con éter y determinar la absorbancia correspondiente. Diluir con éter de ser necesario a obtener una concentración óptima de 20-120mg/l. Determinar este valor por medio de la curva estándar, corrigiendo el factor de dilución. $\text{Acido benzoico} \times 1.18 = \text{benzoato de sodio}$.

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

I. SELECCION DE LA PROTEINA.

De las proteínas disponibles, la proteína de soya traía con sígo inconvenientes, pués su pureza era muy baja (83%), lo que implicaba adicionar un mayor número de sólidos y tratar de mantenerlos en suspensión. Otro inconveniente, es el resabio amargo que deja en la bebida a la concentración requerida.

Por lo tanto, para el desarrollo de este proyecto se consideró conveniente utilizar proteínas provenientes del suero de la leche, ya que por su composición, pueden formar parte de un sistema tridimensional en presencia de gomas y iones divalentes, de tal forma que hasta ciertas concentraciones, se ve favorecida su estabilidad en la bebida (como proteína no sedimentada). El inconveniente radica en que, por su método de obtención, la proteína soluble en la fase acuosa de la leche se encuentra en bajas concentraciones en el suero (76.5% en base seca). Esto hace que sea necesario adicionar mayor número de sólidos en suspensión para obtener el porcentaje requerido de proteína (1% en peso), lo que se reflejaría en la estabilidad de la bebida y aumento en el costo.

La tabla 3 describe los parámetros que se tomaron en cuenta para seleccionar la proteína.

Tabla 3. Parámetros utilizados en la selección de la fuente de proteína derivada de la leche.

Proteína:	Suero de leche.	Caseinato.
Característica:	apariencia espesa, poco viscosa (0.5%).	ligera apariencia espesa, poco viscosa (0.5%).
Disponibilidad:	Importado Nueva Zelanda	Distribuidor nacional.
Pureza:	76.5%	88.0%
1% proteína:	13.08g/lit	11.40g/lit
Costo:	7.85 dis / Kg	6.60 dis / Kg
Precio/lit	N\$ 0.77/lit	N\$ 0.73 /lit

Tabla 3.

Para entender mejor la implicación del costo en la selección de una fuente de proteína, se muestra el análisis de un ejemplo.

De la tabla 1 vemos que, para cubrir el 1% en peso de proteína de suero de leche, se requerirían 10g / lit, si fuera 100% proteína. Para una pureza de 76.5%, se requiere de 13.08g/lit. Lo que representa un costo de N\$0.77/lit. Considerando que se quiere cubrir una demanda de 192,000 lit/ semana, el costo sería de N\$ 147,840.00.

Agregar 13.08g de sólidos da una apariencia más espesa, e implicaría adicionar más cantidad de estabilizante para darle estabilidad a la bebida.

Para cubrir el 1% en peso de caseinato se requiere de 11.4g/ lt. Lo que representa un costo de N\$ 0.73/lt. Si se requiere cubrir la misma demanda se invertirían N\$ 140,160.00. La diferencia a favor de la utilización del caseinato es de N\$ 7,660.00 / semanales.

II. SELECCION DEL ESTABILIZANTE.

La estabilidad de la proteína es el parámetro que se analizó para considerar la mejor formulación de la bebida, utilizando diferentes tipos de estabilizantes y en distintas concentraciones, ya que al dejar en reposo la bebida, la proteína tiende a formar agregados y sedimentarse. Hay que recordar que el resto de los ingredientes de una bebida tradicional, no sufrieron modificación en su concentración ni en el cambio de alguno de ellos, pues lo que se pretende es reconstituir una formulación ya establecida por la empresa, de la cuál se diseñaron los equipos de proceso.

Para seleccionar el estabilizante se consideró la manera en que éste da a la proteína estabilidad en la bebida, es decir manteniendola en suspensión y formando una sola fase homogénea ante las condiciones de elaboración, para ello se preparó una bebida conteniendo caseinato de sodio al 1% y se adiciona el estabilizante en una concentración de 0.4%.

La tabla 4 muestra el efecto que tiene el estabilizante sobre la proteína al elaborar la bebida

Tabla 4. Características que presenta la proteína en presencia del estabilizante al elaborar la bebida.

Estabilizante (0.4%):	Características:
Goma guar.	pp. de la proteína en fibrillas, separación fases.
Goma arábica	pp. de la proteína en fibrillas.
Goma xantana	pp. de la proteína en forma de grumos.
Carboximetilcelulosa.	no hay precipitación aparente de la proteína.

Tabla 4.

A las condiciones de proceso como son: Temperatura de 96°C y pH 3.5-3.8., cambia la configuración o se debilita la red que forma en sí misma, tanto la goma guar, como la arábica y xantana, de tal manera que no se favorece la estabilidad de la proteína, pues no se mantiene en suspensión. Es importante señalar que a este pH, cualquier proteína tenderá a desestabilizarse o precipitarse, es por eso que, se requiere de un estabilizante que forme una red bastante estable y resistente a estas condiciones, para que mantenga en suspensión a la proteína evitando que ésta sedimente. Tal es el caso de Carboximetilcelulosa (CMC).

III. ESTABILIZACION DE LA PROTEINA (en presencia del estabilizante).

Una vez seleccionado el estabilizante adecuado, el siguiente paso fue encontrar la concentración a la cuál se obtiene la mayor estabilidad de la proteína sobre el producto terminado y bajo las condiciones de proceso. En la tabla 5 podemos observar como influye la concentración del estabilizante seleccionado en el volumen de sedimentación de la bebida. Esta determinación es una medida de la estabilidad de la bebida y que está definida básicamente por la incorporación de la proteína, manteniéndola en suspensión.

Tabla 5. Concentración óptima de estabilizante (CMC).

Tiempo de lectura: 24hrs.

Concentración:	vol. total.	vol. equilibrio.	vol. sedimentación
0.0%	495ml	245ml	0.495
0.1%	490ml	325ml	0.660
0.2%	495ml	375ml	0.757
0.3%	490ml	480ml	0.980
0.4%	495ml	495ml	1.000

Tabla 5.

Vol. sedimentación = vol de equilibrio / vol. total.

Lo óptimo es un volumen de sedimentación de 1.

Cuando la bebida se elabora sin la presencia del estabilizante, hay una sedimentación muy notoria de la proteína; prácticamente en la mitad del volumen total se observa una separación de dos fases en el sistema, a este hecho se le da el nombre de volumen de equilibrio.

Este efecto disminuye a medida que aumenta la concentración de carboximetilcelulosa CMC, encontrando que con 0.4% de CMC se da la máxima estabilidad (tabla 5), es decir, no hay una sedimentación aparente de la proteína o aparición de un sistema en dos fases.

Sin embargo, a medida que transcurre el tiempo, se ve modificada la estabilidad. Este es un parámetro importante a considerar ya que determina, entre otros aspectos, el tiempo viable de consumo del producto terminado. En la siguiente tabla podemos observar la relación de la sedimentación de la proteína con respecto al tiempo y la concentración de CMC.

Tabla 6. Velocidad de sedimentación.

Concentración:	0.0%	0.1%	0.2%	0.3%	0.4%
volumen de sedimentación					
Tiempo lectura:					
24 hrs.	0.495	0.660	0.757	0.989	1.000
48 hrs.	0.491	0.612	0.717	0.938	1.000
72 hrs.	0.484	0.571	0.680	0.913	1.000
95 hrs.	0.484	0.550	0.666	0.897	1.000

Tabla 6

Sin presencia del estabilizante, prácticamente toda la proteína sufre una sedimentación al cabo de 24hrs de elaboración de la bebida. Conforme va aumentando la concentración de CMC se observa un aumento en el volumen de sedimentación, sin embargo, al transcurrir el tiempo se tiene una caída gradual de éste para cada concentración a excepción de la bebida elaborada con 0.4% de estabilizante, donde el volumen de sedimentación es el máximo y permanece en el 4 día de lectura.

Un inconveniente técnico en la preparación de la bebida fue la solubilidad del estabilizante a pesar del ajuste del pH y temperatura del agua. Por la tabla 2, que muestra las ventajas y desventajas de los estabilizantes, sabemos que la carboximetilcelulosa tiene afinidad por los azúcares facilitando su solubilidad, así que se procedió a mezclar el estabilizante con un porcentaje de azúcar (2%). Sin embargo, desconocemos de que manera influye en la estabilidad de la bebida. La tabla 7 y la gráfica 1 nos muestra tal efecto.

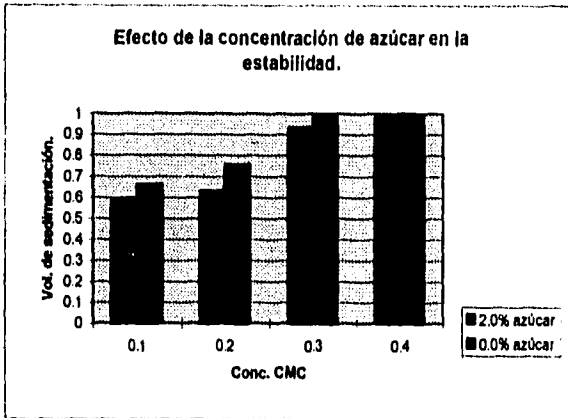
-Tabla 7. Efecto de la conc. de azúcar en la estabilidad.

Tiempo de lectura: 24hrs.

Condiciones:	I. (2.0%azúcar)	II. (0.0%azúcar)
Volumen de sedimentación.		
Conc. de CMC:		
0.1%	0.592	0.660
0.2%	0.630	0.757
0.3%	0.938	0.989
0.4%	0.985	1.000

Tabla 7.

Gráfica1. Efecto en la estabilidad de la bebida en presencia de azúcar.



Gráfica 1.

La concentración de azúcar contribuye a que de forma más rápida, se incorpore el estabilizante al medio acuoso, posiblemente esto se deba a su interacción con el azúcar, pero al mismo tiempo afecta a la estabilidad de la bebida. La pérdida de la estabilidad se da hasta en un 5%, reduciendo de esta forma, la vida de anaquel del producto. Sin embargo, para cuestiones prácticas, esta diferencia no sería relevante cuando el producto es de alto consumo y con una distribución rápida.

IV. DIAGRAMA DE PREPARACIÓN DE LA BEBIDA.

Retomando cada una de las etapas y las condiciones a las cuales se trabaja para elaborar la bebida con proteína, se diseñó un diagrama que muestra el proceso de preparación. Diagrama 2.

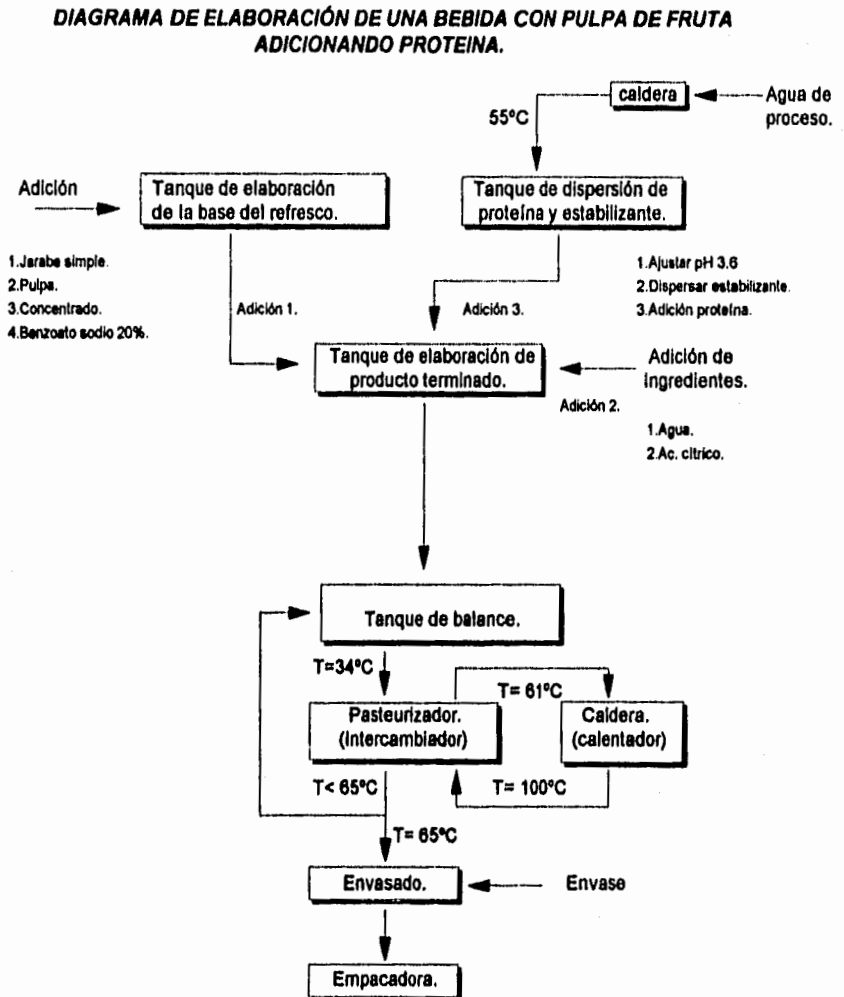


Diagrama 2.

Hay puntos de operación que deben controlarse con mayor énfasis para que no se vea modificada la calidad de la bebida. El primero de ellos es lograr que el estabilizante y la proteína estén totalmente disueltos, para ello es necesario ajustar el pH del agua a 3.8 aproximadamente, mantener la temperatura a 55°C y sobre todo tener una buena agitación en el tanque de dispersión.

El segundo punto a considerar es el momento en el cual debe adicionarse la solución de proteína estable para que no precipite; esto es después de que se agrega suficiente agua y el ácido cítrico requerido a la base del refresco.

V. VIDA DE ANAQUEL.

Con el objeto de evaluar la estabilidad del producto terminado, la vida de anaquel se determinó con la tendencia que guardan el pH, °Brix, % acidez, % sólidos en suspensión y análisis microbiológico con respecto al tiempo.

Las tablas 8, 9, 10 y 11 con las gráficas No. 2, 3, 4 y 5 respectivamente indican la variación de estos factores con el tiempo. En general, entre los 105 -126 días empieza a haber una variación apreciable en cada uno de los factores. Sin embargo la muestra sigue considerándose viable para su consumo, dado que la presentación no se modifica radicalmente.

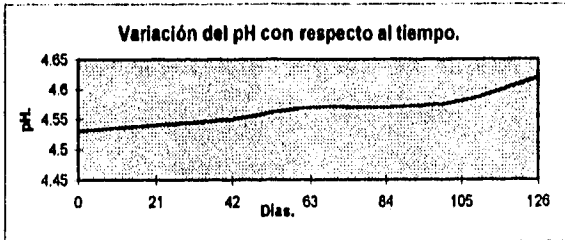
Tabla 8. Variación del pH de la bebida enriquecida durante 126 días de observación.

Estabilidad de la bebida con respecto al pH.	
Días.	pH.
0	4.53
21	4.54
42	4.55
63	4.57
84	4.57
105	4.58
126	4.82

La desviación estándar del pH de la bebida con un nivel de confianza de 99% es:
 $0.0172 < \sigma < 0.08918$.

Si la media (promedio) es de 4.5657, entonces los valores que son significativamente diferentes estarán fuera del rango de pH entre 4.476-4.563, según la desviación estándar. Esto quiere decir que, el valor de pH 4.82 registrado a los 126 días de almacenamiento, muestra una variación significativa al resto de los valores de pH.

La gráfica No.2 permite apreciar mejor la variación de pH.



Gráfica 2.

Tabla 9. Variación de °Brix como un factor que describe la estabilidad de la bebida enriquecida.

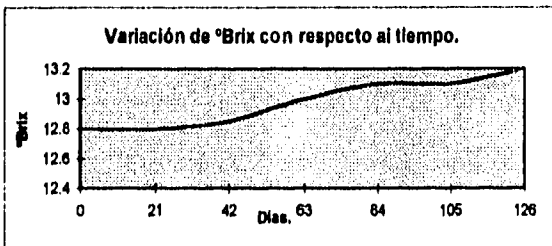
Estabilidad de la bebida con respecto a °Brix.	
Días	°Brix.
0	12.8
21	12.8
42	12.85
63	13.0
84	13.1
105	13.1
126	13.2

La variación estándar de los °Brix durante 126 días de almacenamiento con un nivel de significancia de 99% es:

$$0.09287 < \sigma < 0.4855$$

De acuerdo a la media (12.98) y a la desviación estándar, los valores comprendidos entre 12.5-13.1 no son diferentes significativamente. Nuevamente encontramos que a los 126 días de almacenamiento hay una variación apreciable en los °Brix con respecto al resto de los días.

La gráfica No. 3 muestra la variación de °Brix con respecto al tiempo.



Gráfica 3.

Tabla 10. Cambio en la acidez de la bebida enriquecida durante 126 días de almacenamiento.

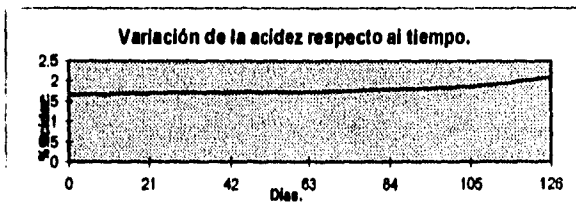
Estabilidad de la bebida con respecto a la acidez.	
Días.	% acidez.
0	1.66
24	1.7
42	1.73
63	1.73
84	1.8
105	1.87
126	2.1

La variación estándar para el % acidez registrado cada 21 días con un nivel de confianza de 99% es:

$$0.08509 < \sigma < 0.4458$$

Los valores que resultan sin diferencia significativa, son los que caen dentro del rango de acidez entre 1.4-1.9, de acuerdo a la media (1.8) y la desviación estándar. Es decir, el valor de 2.1% de acidez registrado a los 126 días de almacenamiento ya es significativamente diferente al resto de los valores de % acidez registrados.

La gráfica No. 4 muestra la estabilidad de la bebida con respecto a la acidez.



Gráfica 4.

Tabla 11. Variación de los sólidos en suspensión a 126 días de almacenamiento de la bebida enriquecida con proteína.

Estabilidad de la bebida con respecto a los sólidos en suspensión	
Días	% sólidos en suspensión.
0	5.5
21	5.8
42	6.3
63	6.7
84	7.4
105	8.2
126	9.4

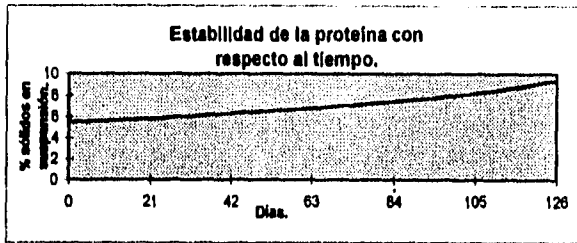
La variación estándar del %sólidos en suspensión durante 126 días de almacenamiento es:

$$0.7901 < \sigma < 4.139$$

Los valores de % sólidos en suspensión que estén comprendido en el rango 3-7.8 % sólidos en suspensión, de acuerdo a la media (7.05) y de desviación estándar no muestran una variación apreciable entre sí. Es decir, los valores de 8.2 y 9.4 % sólidos en suspensión registrados a los 105 y 126 días respectivamente son significativamente diferentes al resto de los valores.

Fisicamente, a partir de 105 días de almacenamiento se observa una sedimentación poco apreciable. Sin embargo, la bebida sigue viable para su consumo, dado que la presentación no se modifica radicalmente.

La gráfica No.5 muestra la variación de %sólidos en suspensión durante 126 días de almacenamiento.



Gráfica 5.

Con respecto al análisis microbiológico se obtuvieron los siguientes resultados.

Tiempo de determinación:	meses.			
	1	2	3	4
Determinación:				
Mesófilos aerobios	negativo	negativo	negativo	10 UFC/ ml
Hongos	negativo	negativo	negativo	negativo
Levaduras	negativo	negativo	negativo	negativo
Coliformes	negativo	negativo	negativo	negativo
NMP	negativo	negativo	negativo	negativo

De acuerdo a las especificaciones microbiológicas de una bebida, se permite un máximo de 20 colonias por ml de muestra de mesófilos aerobios, lo que indica que a 4 meses de almacenamiento a temperatura ambiente la bebida sigue siendo apta para consumo, sin embargo empieza a decaer su calidad sensorial, en términos de apariencia.

VI. ESTUDIO DE ACEPTACIÓN.

De forma paralela se realizó una encuesta con 300 niños de 6-12 años para detectar la aceptación del producto.

Los resultados obtenidos de este estudio fueron:

No. de aceptaciones.	No. de rechazos.
275	25

Métodos de análisis.

a). Porcentaje. Estos números representan el 91.67% de aceptación y 6.33% de rechazo por la muestra.

b). Sometiéndolo a un análisis estadístico, se utiliza una tabla de estimación de significancia, $p = 1/2$, de dos colas, de acuerdo con el número de ensayos efectuados. Según la tabla (anexo III), para 300 ensayos o pruebas, debe haber un número mínimo de 167 aceptaciones, con un nivel de seguridad de fallar en esta aseveración menos de 5 veces en 100. Analizando, el número de aceptaciones obtenidas (275), es mayor al número mínimo de aceptaciones de la tabla (167). Por lo tanto, la muestra se acepta de manera significativa por este tipo de consumidores.

c). Aplicando el método estadístico de la Ji-cuadrada:

Recordando la fórmula:

$$X^2 = \frac{(X - np)^2}{np(1-p)}$$

Donde:

X = número de opiniones acertadas.

n = número total de ensayos practicados o repeticiones.

p = probabilidad de éxito del ensayo único.

q = (1-p) = probabilidad de falla del ensayo único.

0.5 = factor de corrección para continuidad para Ji-cuadrada ajustada.

Sustituyendo los datos obtenidos:

n = 300 degustaciones.

X = 275 respuestas de aceptación.

p = 0.5

q = (1-p) = 0.5

np = 150

Aplicando los datos:

$$X^2 = 206.7$$

Los valores teóricos de la Ji-cuadrada no se encuentran reportados en la bibliografía para un total de 300 ensayos practicados o repeticiones. Pero la tabla de estimación de significancia $p=1/2$, de dos colas (anexo III), es una derivación de la Ji-cuadrada que puede aplicarse cuando se trabaja con un número alto de ensayos (> 100 ensayos).

De esta manera, es válido constatar mediante el porcentaje de aceptación obtenido y una tabla de estimación de significancia $p=1/2$ y dos colas, que la bebida desarrollada es aceptada por este tipo de consumidores.

Durante la prueba de aceptación se trató de describir la personalidad de los jueces que participaron, para así enfocar su comportamiento a los fines requeridos.

Personalidad de los jueces.

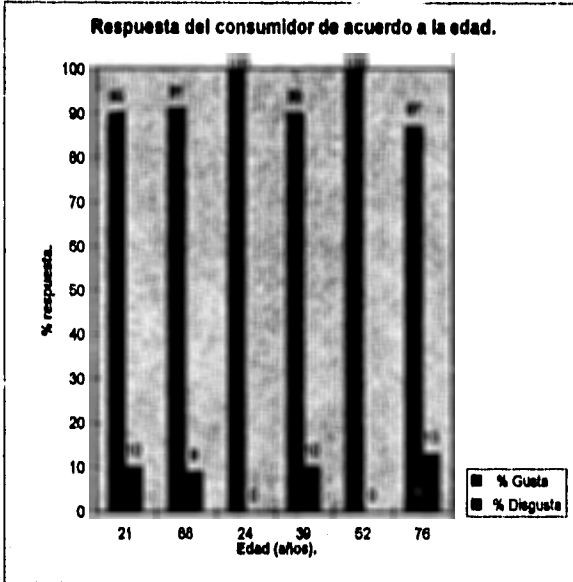
Variables de personalidad	Descripción de los jueces en base a las variables de personalidad.
Naturalidad.	Da simpatía. Aspira a realizar este tipo de tareas, pues tienen buena voluntad para trabajar.
Exhibición impulsividad	Discutidor. Disfruta siendo destacado. Es espontáneo, precipitado, impetuoso.
Inconstancia juego	Da respuestas aleatorias inconstantes. Puede ser incapaz de comprender preguntas.
Orden resistencia	No induce al desorden. Tiene buena voluntad para trabajar, es constante y paciente.
Inconstancia inseguridad	Da respuestas aleatorias o es incapaz de comprender preguntas. Trabaja por reconocimiento de otros.

Así mismo, las respuestas se analizaron de acuerdo a la edad y sexo de los jueces. Las gráficas 6 y 7 muestran de que manera influye la respuesta del consumidor en base a estas variables.

Por la primera gráfica, los niños con edad entre 6-10 tienen un menor porcentaje de respuesta de rechazo que un niño con edad de 11 años. Esto puede ser por que a medida que incrementa la edad del consumidor se ve menor familiarizado con este tipo de productos.

Tabla 13. Respuesta de aceptación de la bebida enriquecida por parte del consumidor de acuerdo a la edad.

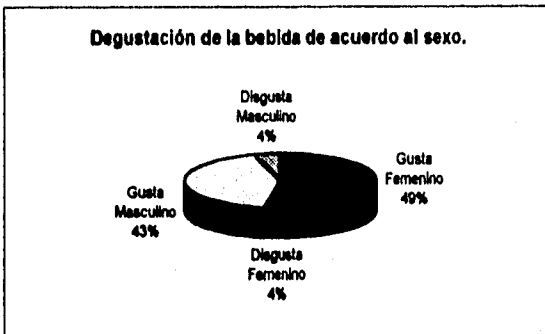
Edad. (años)	No. Jueces.	Gusta. (%)	Disgusta. (%)
6	21	90	10
7	88	91	9
8	24	100	0
9	39	90	10
10	52	100	0
11	76	87	13



Gráfica 6.

Tabla 12. Respuesta de aceptación de la bebida enriquecida por parte del consumidor de acuerdo al sexo.

	Gusta	Disgusta
Femenino	146	12
masculino	129	13



Gráfica 7.

Cuando se relacionó el sexo con la respuesta del consumidor, se encontró que en las mujeres hay un ligero incremento en el porcentaje de aceptación por la bebida.

G. CARACTERIZACION DE LA BEBIDA.

La bebida desarrollada se caracteriza en base a los parámetros que hay que considerar de una bebida no-carbonatada nutritiva, los cuales se definen a continuación:

Bebida:	nutri-boing	no-carbonatada nutritiva.
Parámetros:		
pH.	4.5	4-6
°Brix	12.8	11-15 °Brix.
% Acidez	1.68	1.2-1.9
% Humedad	86.14	
% Sólidos totales	13.88	8-14%
% Cenizas	0.19	0.1-0.4
% Proteína	1.12	> 1.0
Conservador	100 mg/l	10-100 mg/l
% Sacarosa	9.73	> 8.0

Tanto el conservador, como las cenizas, acidez y °Brix se encuentran dentro de los rangos permitidos para una bebida no-carbonatada elaborada con pulpa de fruta.

El pH, sólidos totales y la proteína son parámetros que definen a la bebida en su consistencia y sabor.

La cantidad de proteína determinada en la bebida es la que se deseaba adicionar. Esto quiere decir que hubo muy pocas pérdidas de la misma durante el proceso de elaboración y utilización del equipo.

H. ESTUDIO ECONOMICO.

Considerando que una presentación individual de la bebida convencional está formada por una porción de 250ml, se realizó un ejercicio para evaluar el impacto económico de la modificación. A continuación se presentan los costos correspondientes de los ingredientes y producción por cada unidad de producto de 250ml, vigentes a la fecha, Febrero de 1996, son :

Bebida:		Modificada	Convencional
Ingrediente:	Cantidad (g)	Importe. (\$)	
azúcar	28.85	0.085	0.085
pulpa de mango	28.50	0.050	0.050
benzoato de sodio	0.25	0.00075	0.00075
proteína	2.85	0.175	-----
estabilizante	1.00	0.065	-----
ác. cítrico.	0.20	0.0023	0.0023
concentrado	1.25	0.022	0.022
agua	118.70	0.0089	0.0089
Mano de obra.		0.0080	0.0080
Material de empaque		0.3550	0.3550
Gtos. de fabricación		0.0130	0.0130
Precio por unidad		\$ 0.7850	\$ 0.545

Si comparamos el costo de fabricación de la bebida desarrollada con la bebida convencional, encontramos que hay un incremento de aproximadamente 50% del costo del producto. El incremento en el costo básicamente se da por la presencia de la proteína y el estabilizante. De cualquier manera este precio genera un margen de utilidades considerable si el producto se comercializa a aproximadamente \$ 2.50.

Lo importante a considerar es que el producto tiene un costo muy accesible para que pueda ser adquirido por el sector de población de bajo poder adquisitivo, lo que incrementa las posibilidades de aceptación.

VI. Conclusiones.

- Fue posible elaborar una bebida a base de pulpa de mango, incrementando el contenido de proteína al 1% en peso, mediante la reformulación de la bebida convencional de dicho sabor.

-La proteína seleccionada fue caseinato de sodio por su disponibilidad, pureza y costo.

-La proteína por sí sola no es estable a las condiciones de proceso como son Temperatura y pH, es conveniente utilizar un estabilizante que resista estas condiciones.

-La carboximetilcelulosa fue el aditivo utilizado en la elaboración de la bebida, ya que es el único que ofrece una estabilidad a la proteína manteniéndola en suspensión.

-A concentraciones de 0.4% de CMC se obtiene la mayor estabilidad, es decir, no se observa una precipitación aparente de la proteína.

-La solubilidad del estabilizante se facilita al adicionar una concentración de azúcar, pero al mismo tiempo se ve afectada la estabilidad de la proteína en el sistema complejo.

-La adición de la proteína es una operación que puede adaptarse a la línea de proceso de elaboración de la bebida convencional.

-El producto se elaboró con buenas prácticas de higiene y manufactura, ya que apesar de ser un alimento muy susceptible al ataque de microorganismo, no se presentó un deterioro por éstos hasta que el producto tenía un tiempo de almacenamiento de 4 meses.

-El producto tiene una vida de anaquel de aproximadamente 4 meses, lo que da un margen amplio de distribución y una disminución de pérdida o reposición en los lugares destinados a su consumo.

-En general, la bebida adicionada fue del agrado de niños, tanto del sexo femenino como masculino, que se encuentran en nivel de educación primaria; únicamente el 8% de esta población presentan rechazo hacia el producto.

-De acuerdo a la Norma Oficial Mexicana, las características fisicoquímicas de la bebida se encuentra dentro de los parámetros que describen a una bebida no-carbonatada y que además es nutritiva por que está enriquecida con 1% de proteína.

-Esta bebida nutritiva contribuye en cierta medida, en los requerimientos mínimos de proteína diaria que necesita un niño de edad de 7-13 años y, que va de 52-60g según el Instituto Nacional de Nutrición en un estudio realizado en 1970 para individuos normales y en las condiciones de México.

-El contenido de proteína repercute en el costo de producción del producto final, incrementándolo hasta en un 50% con respecto al precio de una bebida convencional del mismo sabor.

-El costo de producción correspondiente a un unidad de 250ml de bebida es de \$ 0.80 aproximadamente lo que representa 50% más del precio de una bebida convencional. Sin embargo, el precio al mercado de este producto (\$ 2.50), está al alcance del sector de población de bajo poder adquisitivo.

-Conjuntando, se logró elaborar una bebida a base de pulpa de mango incrementando el contenido de proteína en 1%, es de aceptación por los niños y está al alcance del sector de población de escasos recursos.

VII. Bibliografía.

- (1). Norma Oficial Mexicana (NOM-F-439-1983) Alimentos. Bebidas no alcohólicas y refrescos. Clasificación y Definiciones.
- (2). Bartholoma A. Fábricas de Alimentos: Procesos, equipamiento, costos. Ed. ACRIBIA, S.A., Zaragoza, España, 1991.
- (3). Felluws P. Tecnología del procesado de los alimentos. Ed. ACRIBIA, S.A., Zaragoza, España., 1994.
- (4). Zapata Ruiz J. Y los editores de bebidas. Manual Práctico de Bebidas para la Industria de Refresco. All American. Pag 16, 1990.
- (5). Proyecto de Norma Oficial Mexicana NOM-041-SSA1-1993. Bienes y Servicios Agua Purificada.
- (6). Cenzano E., Vicente J.M., Madrid A.(1992). Los azúcares en la elaboración de bebidas refrescantes. *Bebidas Mexicanas*. 1(4): 5-10.
- (7). Morris B. Jacobs. *Manufacture and Analysis of Carbonated Beverages*. Chemical Publishing Co Inc. N.Y. 1959.
- (8). Karrer P., Jacker E., *Carotenoids*. Elsevier Publishing Company, Inc. N.Y., 1950.
- (9). Klovi H. Carotenoids as Food color. *Journal Chemical of Food* 1981, pag 156.
- (10). Hicks, D. *Production and Packaging of non-carbonated Fruit Juices and Fruit Beverages*. Blackie, Van nostrand Reinhold. New York, 1990.
- (11). *Product Information Bulletin*. Kalama Chemical, Inc. 1993.
- (12). *Manual de proceso de elaboración de bebidas Boing*. Sociedad Cooperativa Trabajadores de Pascual Boing, S.C.L. Dirección Técnica. 1992.

(13). James M. Montgomery. Water Treatment Principles and Design. JOHN WILEY and SONS, E.U.A., 1985.

(14). Cenzano E., Madrid A., Vecente J.M. Nuevo Manual de la Industria Alimentaria. De. Mundi-Prensa Libros S.A. Madrid, España. 1993.

(15). M. Milner, N. Serinshaw, Protein Resources and Technology. Status and Research Needs. AVI Publishing Company Inc., EUA., 1981

(16). Munro P.A. The densities of casein coagulated particles and caseinate solutions. New Zealand Journal of Dairy Science and Technology. 15(1980) 225-238.

(17). Southword C.R. Manufacture and application of edible casein products. Manufacture and properties. New Zealand of Dairy Science and Technology 20(1985) 79-101.

(18). García G. M., Lopez-Munguía A. Tecnología Alimentaria. Ed. Alhambra Mexicana. México D.F., 1992.

(19). Importación de Productos Derivados de Leche. Datos acumulativos 1992-1994. INEGI.

(20). Jelen, P. (1979), Industrial Whey Processing Technology, An overview. J. Agric. Food chem., 27(4): 969-976.

(21). Hans-Dieter Bellitz. Química de los Alimentos. Ed. ACRIBIA, Zaragoza, España. 1989.

(22). Badui Dergal S. Química de los Alimentos. Ed. Alhambra mexicana. México D.F. 1993.

(23). M. Palafox Magaña. Tesis. Elaboración de una bebida con base en una proteína soluble de soya. Escuela Química. Universidad Motolinía. 1989.

(24). Dr. Ulrich G. Aditivos e Ingredientes. ACRIBIA; España, 1992.

(25). De la Garza Montaño P. Trabajo monográfico de actualización: Aspectos básicos de la proteína de soya y concentrados proteicos de soya. Facultad de Química UNAM. 1985.

(26). Waller J. Wolf. (1970), Soy bean proteins: their functional, chemical and physical properties. J. Agr. Food Chem. 18(6): 969-976.

(27). E. Dickinson and G. Stainsby. Colloids in Food. Applied Science Publishers. London and New York, E.U.A., 1982.

(28). R. J. Taylor. Food Additives. JOHN WILEY and SONS, N.Y., 1985.

(29). E. Dickinson. Food Polymers, Gels and Colloids. Prouter Department of Food Science. The Royal Society of Chemistry. England, 1991.

(30). J. G. Cappucino and N. Shermar. Microbiology a Laboratory Manual. The Benjamin / Cummings Publishing Company, Inc. California, 1992.

(31). S.A. Kimmel, M. Sigman-Grant, J.X. Guinard (1994). Sensory Testing with Young Children. Food Technology. 48(3): 92-98.

(32). J.C. Martínez, M.C. Santillán. Tesis. Desarrollo de una prueba sensorial descriptiva para la tipificación del vino mexicano. Facultad de Química. UNAM. México D.F., 1995.

(33). M.A. Amerine, R.M. Pangborn, E.B. Roessler. Principles of Sensory. Evaluation of Food. Academic Press Inc. London, EUA. 1965.

(34). G. Lorenz. (1959), Use de Dinltrosalicilic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. Analytical Chemistry, 31(3):426-428.

(35). Official methods of Analysis of Association of Official Analytical Chemist (A.O.A.C.) 14th ed. Washington D.C. 1984.

(36). Comisión del Codex Alimentarius (1981). 3ra.edición. Nacional Academic Press. Washington D.C.

VIII. Sugerencias

-Por la vida de anaquel y la respuesta de aceptación de la bebida, se puede realizar un estudio más serio que abarque otro tipo de mercado y no sólo distribuirlo en los desayunos escolares que reparte el DIF.

-El producto puede ser sometido a un estudio sensorial para conocer de que manera se ve modificadas las características sensoriales de la bebida durante la vida de anaquel.

ANEXO I.

Tablas que relacionan los °Brix con el peso del azúcar por unidad de volumen.

ANEXO I.

Tablas que relacionan los °Brix con el peso del azúcar por unidad de volumen.

912.33 Degrees Brix, specific gravity, and degrees Baume of sugar solutions (Plato Table)*

°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)	°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)
	20/20*	20/4*			20/20*	20/4*	
0.0	1.00000	0.998234	0.00	9.0	1.03586	1.034029	5.02
.2	078	9010	.11	.2	668	4850	.13
.4	155	9786	.22	.4	750	5671	.24
.6	231	1.000563	.34	.6	833	6494	.35
.8	311	1342	.45	.8	915	7318	.46
1.0	389	2128	.56	10.0	998	8143	.57
.2	467	2897	.67	.2	4081	8970	.68
.4	545	3675	.79	.4	164	9797	.80
.6	623	4453	.90	.6	247	40626	.91
.8	701	5234	1.01	.8	330	1456	6.02
2.0	779	6015	.12	11.0	413	2283	.13
.2	858	6796	.23	.2	497	3121	.24
.4	936	7580	.34	.4	580	3954	.35
.6	1015	8363	.46	.6	664	4783	.46
.8	093	9148	.57	.8	747	5625	.57
3.0	172	9934	.68	12.0	831	6462	.68
.2	251	10721	.79	.2	915	7300	.79
.4	330	11510	.90	.4	999	8140	.90
.6	409	2298	2.02	.6	5084	8980	7.02
.8	488	3089	.13	.8	168	9822	.13
4.0	567	3881	.24	13.0	752	5055	.24
.2	647	4673	.35	.2	337	5910	.35
.4	726	5467	.46	.4	422	2356	.46
.6	806	6261	.57	.6	506	3207	.57
.8	886	7058	.68	.8	591	4050	.68
5.0	965	7854	.79	14.0	677	4903	.79
.2	2045	8652	.91	.2	762	5751	.90
.4	125	9451	3.02	.4	847	6602	8.01
.6	206	20751	.13	.6	933	7455	.12
.8	286	1053	.24	.8	6012	8310	.23
6.0	366	1855	.35	15.0	104	9165	.34
.2	447	2659	.46	.2	190	10022	.45
.4	527	3463	.57	.4	276	10880	.56
.6	608	4270	.69	.6	362	11738	.67
.8	689	5077	.80	.8	448	2593	.78
7.0	770	5885	.91	16.0	534	3460	.89
.2	851	6694	4.02	.2	621	4324	9.00
.4	932	7504	.13	.4	707	5183	.11
.6	1013	8316	.24	.6	794	6054	.22
.8	095	9128	.35	.8	881	6921	.33
8.0	176	9942	.46	17.0	968	7789	.45
.2	258	30757	.58	.2	7055	5653	.56
.4	348	1573	.69	.4	142	9529	.67
.6	422	2391	.80	.6	229	70400	.78
.8	504	3209	.91	.8	317	1273	.89

(Continued)

* Natl. Bur. Std. Circ. C440, pp. 614, 626(1942). Based upon figures prepared by Kaiserliche Normal-Eichungs-Kommission and accepted by International Commission for Uniform Methods of Sugar Analysis.

942.33 Degrees Brix, specific gravity, and degrees Baumé of sugar solutions (Plato Table)*—Continued.

*Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		*Baumé (Modulus 145)	*Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		*Baumé (Modulus 145)
	20/20*	20/4*			20/20*	20/4*	
18.0	1.07404	1.012141	10.00	27.0	1.11480	1.112228	14.93
.2	492	3023	.11	.2	573	3163	15.04
.4	580	3900	.22	.4	667	4697	.15
.6	668	4777	.33	.6	761	5635	.26
.8	756	5657	.44	.8	855	6512	.37
19.0	844	6537	.55	28.0	949	7512	.48
.2	932	7419	.66	.2	2043	8453	.59
.4	1021	8302	.77	.4	138	9395	.69
.6	110	9187	.88	.6	232	2033	.80
.8	198	10072	.99	.8	327	1284	.91
20.0	287	0959	11.10	29.0	422	2231	16.02
.2	376	1848	.21	.2	517	3179	.13
.4	465	2737	.32	.4	612	4128	.24
.6	554	3628	.43	.6	707	5079	.35
.8	644	4520	.54	.8	802	6030	.46
21.0	733	5414	.65	30.0	898	5984	.57
.2	823	6309	.76	.2	993	7937	.67
.4	913	7205	.87	.4	3089	8896	.78
.6	1003	8101	.98	.6	185	9851	.89
.8	093	9000	12.03	.8	281	20812	17.00
22.0	183	5900	.20	31.0	378	1777	.11
.2	273	6802	.31	.2	474	2735	.22
.4	364	1704	.42	.4	570	3693	.33
.6	454	2607	.52	.6	667	4663	.43
.8	545	3513	.63	.8	764	5628	.54
23.0	636	4420	.74	32.0	861	6596	.65
.2	727	5328	.85	.2	958	7565	.76
.4	814	6236	.96	.4	4055	8534	.87
.6	909	7147	13.07	.6	152	9506	.98
.8	10000	8058	.18	.8	250	40479	18.08
24.0	092	8971	.29	33.0	347	1453	.19
.2	183	9886	.40	.2	445	2429	.30
.4	275	10802	.51	.4	543	3405	.41
.6	367	1718	.62	.6	641	4384	.52
.8	459	2637	.73	.8	739	5363	.63
25.0	551	3557	.84	34.0	837	6345	.73
.2	643	4478	.95	.2	336	7324	.84
.4	736	5400	14.06	.4	5034	8313	.95
.6	828	6324	.17	.6	133	9298	19.06
.8	921	7248	.28	.8	232	50236	.17
26.0	1014	8175	.39	35.0	331	1275	.23
.2	106	9103	.49	.2	430	2265	.34
.4	200	10033	.60	.4	530	3256	.44
.6	293	0963	.71	.6	629	4249	.55
.8	386	1895	.82	.8	729	5242	.66

(Continued)

942.33 Degrees Brix, specific gravity, and degrees Baumé of sugar solutions: (Plato Table)*—Continued.

°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)	°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)
	20/20*	20/4*			20/20*	20/4*	
36.0	1.15828	1.156238	19.81	45.0	1.20467	1.202540	24.63
.2	928	7235	.92	.2	573	3603	.74
.4	6028	8233	20.03	.4	680	4660	.85
.6	128	9233	.14	.6	787	5733	.95
.8	228	60233	.25	.8	891	6801	25.06
37.0	329	1236	.35	46.0	1001	7870	.17
.2	430	2240	.46	.2	108	8940	.27
.4	530	3245	.57	.4	215	10013	.38
.6	631	4252	.68	.6	323	1086	.48
.8	732	5259	.78	.8	431	2162	.59
38.0	833	6269	.89	47.0	538	3238	.70
.2	934	7281	21.00	.2	646	4317	.80
.4	7036	8293	.11	.4	755	5395	.91
.6	138	9307	.21	.6	863	6476	26.81
.8	239	70322	.32	.8	971	7559	.12
39.0	341	1340	.43	48.0	2080	8643	.23
.2	443	2359	.54	.2	189	9729	.31
.4	545	3379	.64	.4	298	20815	.44
.6	648	4400	.75	.6	406	1904	.54
.8	750	5423	.86	.8	516	2395	.65
40.0	853	6447	.97	49.0	625	4086	.75
.2	956	7473	22.07	.2	735	5180	.86
.4	8058	8501	.18	.4	844	6274	.96
.6	162	9527	.29	.6	954	7371	27.07
.8	265	80560	.39	.8	3064	8469	.18
41.0	368	1592	.50	50.0	174	9567	.28
.2	472	2625	.61	.2	284	30668	.39
.4	575	3660	.72	.4	355	1770	.49
.6	679	4696	.82	.6	506	2874	.60
.8	783	5734	.93	.8	616	3979	.70
42.0	887	6773	23.04	51.0	727	5085	.81
.2	992	7814	.14	.2	838	6194	.91
.4	9096	8856	.25	.4	949	7303	28.02
.6	701	9901	.36	.6	1060	8414	.12
.8	305	90946	.46	.8	172	9527	.23
43.0	410	1893	.57	52.0	284	40641	.33
.2	515	3841	.68	.2	395	1757	.44
.4	628	4090	.78	.4	507	2873	.54
.6	726	5141	.89	.6	619	3992	.65
.8	831	6193	24.00	.8	731	5113	.75
44.0	936	7247	.10	53.0	844	6234	.86
.2	20042	8303	.21	.2	956	7388	.95
.4	148	9360	.32	.4	5069	8482	29.06
.6	254	200420	.42	.6	182	9609	.17
.8	360	1480	.53	.8	295	50737	.27

(Continued)

942.33 Degrees Brix, specific gravity, and degrees Baumé of sugar solutions (Plato Table)*—Continued.

°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)	°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)
	20/20°	20/4°			20/20°	20/4°	
54.0	1.25408	1.251866	29.38	61.0	1.30557	1.304267	34.02
.2	521	2997	.48	.2	778	5467	.12
.4	635	4129	.59	.4	898	6669	.23
.6	748	5264	.69	.6	1019	7872	.33
.8	862	6400	.80	.8	139	9077	.43
55.0	976	7535	.90	61.0	260	10782	.53
.2	6090	8674	30.00	.2	381	1489	.63
.4	204	9815	.11	.4	502	2699	.74
.6	319	60355	.21	.6	623	3909	.84
.8	433	2099	.32	.8	745	5121	.94
56.0	548	3242	.42	65.0	656	6334	35.04
.2	663	4390	.52	.2	988	7549	.14
.4	778	5537	.63	.4	2118	8766	.24
.6	893	6686	.73	.6	232	9983	.34
.8	7008	7837	.83	.8	354	21201	.45
57.0	123	8989	.94	66.0	476	2425	.55
.2	239	70143	31.84	.2	599	3648	.65
.4	355	3299	.15	.4	722	4872	.75
.6	471	2455	.25	.6	844	6097	.85
.8	587	3614	.35	.8	967	7325	.95
58.0	703	4774	.46	67.0	3090	8554	36.06
.2	819	5936	.56	.2	214	9785	.15
.4	936	7098	.66	.4	337	31017	.25
.6	8052	8262	.76	.6	468	2250	.35
.8	169	9428	.87	.8	584	3485	.45
59.0	286	80395	.97	68.0	708	4722	.55
.2	404	1764	32.07	.2	332	5961	.66
.4	520	2935	.18	.4	957	7200	.76
.6	638	4107	.28	.6	4881	8441	.86
.8	755	5281	.38	.8	205	9684	.96
60.0	873	6456	.49	69.0	330	40928	37.06
.2	991	7613	.59	.2	455	2174	.16
.4	9109	8811	.67	.4	580	3421	.26
.6	227	9991	.79	.6	705	4671	.36
.8	346	91172	.90	.8	830	5922	.46
61.0	464	2334	33.00	70.0	956	7174	.56
.2	583	3539	.18	.2	5081	8427	.66
.4	701	4725	.20	.4	207	9682	.76
.6	820	5911	.31	.6	333	50939	.86
.8	940	7100	.41	.8	459	2197	.96
62.0	30059	8291	33.51	71.0	585	1456	38.06
.2	178	9483	.61	.2	711	4737	.16
.4	298	106577	.72	.4	838	5980	.26
.6	418	1871	.82	.6	964	7245	.35
.8	537	3068	.92	.8	6891	8511	.45

(Continued)

942.33 Degrees Brix, specific gravity, and degrees Baumé of sugar solutions (Plato Table)*—Continued.

°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)	°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)
	20/20*	20/4*			20/20*	20/4*	
72.0	1.36218	1.359778	38.55	81.0	1.42888	1.418374	42.95
.2	346	61047	.65	.2	222	9711	43.85
.4	473	2317	.75	.4	356	21849	.14
.6	600	3590	.85	.6	490	2390	.24
.8	728	4864	.95	.8	625	3730	.33
73.0	856	6139	39.05	82.0	759	5072	.43
.2	983	7415	.15	.2	894	6416	.53
.4	7111	8593	.25	.4	3029	7761	.62
.6	240	9973	.35	.6	164	9109	.72
.8	368	71254	.44	.8	298	30457	.81
74.0	496	2536	.54	83.0	434	3807	.91
.2	625	3820	.64	.2	569	3158	44.00
.4	754	5105	.74	.4	705	4511	.10
.6	883	6392	.84	.6	841	5866	.19
.8	8012	7680	.94	.8	976	7222	.29
75.0	141	8971	40.03	84.0	4112	8579	.38
.2	270	80262	.13	.2	249	9938	.49
.4	400	1555	.23	.4	385	41299	.57
.6	530	2851	.33	.6	521	2661	.67
.8	660	4148	.43	.8	658	4024	.76
76.0	790	5446	.53	85.0	794	5388	.86
.2	920	6745	.62	.2	931	6754	.95
.4	9050	8045	.72	.4	5068	8121	45.05
.6	180	9347	.82	.6	205	9491	.14
.8	311	90651	.92	.8	343	50860	.24
77.0	442	1956	41.01	86.0	480	2232	.33
.2	571	3263	.11	.2	618	3605	.42
.4	704	4571	.21	.4	755	4980	.52
.6	835	5881	.31	.6	893	6357	.61
.8	966	7192	.40	.8	6031	7735	.71
78.0	40098	8505	.50	87.0	170	9114	.80
.2	230	9819	.60	.2	308	60495	.89
.4	361	401134	.70	.4	446	1877	.99
.6	493	2452	.79	.6	585	3280	46.08
.8	625	3771	.89	.8	724	4645	.17
79.0	758	5091	.99	88.0	862	6032	.27
.2	890	6412	42.08	.2	7002	7420	.36
.4	1023	7735	.18	.4	141	8810	.45
.6	155	9061	.28	.6	280	70200	.55
.8	288	10387	.37	.8	420	1592	.64
80.0	421	1715	.47	89.0	559	2986	.73
.2	554	3044	.57	.2	699	4381	.81
.4	688	4374	.66	.4	839	5779	.92
.6	821	5705	.76	.6	979	7176	47.01
.8	955	7039	.85	.8	8119	8575	.11

(Continued)

942.33 Degrees Brix, specific gravity, and degrees Baumé of sugar solutions (Plato Table)*—Concluded.

°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)	°Brix or % by Wt of Sucrose	Specific Gravity at:		°Baumé (Modulus 145)
	20/20°	20/4°			20/20°	20/4°	
90.0	1.48259	1.479976	47.20	95.0	1.51814	1.515455	49.49
.2	.400	81378	.29	.2	953	6893	.58
.4	540	2782	.38	.4	2102	8332	.67
.6	681	4187	.48	.6	243	9771	.76
.8	822	5593	.57	.8	353	21212	.85
91.8	963	7002	.66	96.0	515	2656	.94
.2	9104	8411	.75	.2	660	4100	50.03
.4	246	9823	.84	.4	821	5546	.12
.6	387	9124	.94	.6	963	6993	.21
.8	529	2647	48.03	.8	3114	8441	.38
92.0	671	4063	.12	97.0	263	9891	.39
.2	812	5479	.21	.2	465	31342	.48
.4	954	6897	.30	.4	551	2794	.57
.6	50097	8316	.40	.6	655	4243	.66
.8	239	9736	.49	.8	842	5704	.75
93.0	381	501158	.58	98.0	983	7161	.84
.2	524	2582	.67	.2	4134	4618	.93
.4	667	4006	.76	.4	283	40076	51.07
.6	810	5432	.85	.6	425	1536	.10
.8	952	6859	.94	.8	573	2998	.19
94.0	1096	8289	49.03	99.0	719	4462	.28
.2	239	9720	.12	.2	866	5926	.37
.4	382	11151	.22	.4	5015	7322	.46
.6	526	2585	.31	.6	163	8861	.55
.8	670	4019	.40	.8	367	50329	.64
				100.0	451	1800	.73

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose^a, with values for maltose from the Munson and Walker table^b; values expressed as mg

Cu ^a	Cu ₂ O ^c	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₂ O ^d	Maltose ,H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.8 g Total Sugar	Lactose ,H ₂ O	1 Lactose 4 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
10	11.3	4.6	5.1	5.2	3.2	2.9		7.7	7.7	6.6	18	6.2
11	12.4	5.1	5.6	5.7	3.7	3.4		8.5	8.5	7.3		
12	13.5	5.6	6.1	6.2	4.2	3.9		9.3	9.2	8.0	12	7.9
13	14.6	6.0	6.7	6.7	4.8	4.4		10.0	10.0	8.7		
14	15.8	6.5	7.2	7.2	5.3	4.9		10.8	10.7	9.4	14	9.5
15	16.9	7.0	7.7	7.7	5.8	5.4		11.5	11.5	10.1		
16	18.0	7.5	8.3	8.2	6.3	5.9		12.3	12.2	10.8	16	11.2
17	19.1	8.0	8.8	8.7	6.8	6.4		13.1	12.9	11.5		
18	20.3	8.5	9.3	9.2	7.3	6.9		13.8	13.7	12.2	18	12.9
19	21.4	8.9	9.9	9.7	7.8	7.4		14.6	14.4	12.9		
20	22.5	9.4	10.4	10.2	8.3	7.9	1.9	15.4	15.2	13.6	20	14.6
21	23.6	9.9	10.9	10.7	8.8	8.4	2.4	16.1	15.9	14.4		
22	24.8	10.4	11.5	11.2	9.1	8.9	2.9	16.9	16.7	15.1	22	16.2
23	25.9	10.9	12.0	11.7	9.9	9.5	3.4	17.7	17.4	15.8		
24	27.0	11.4	12.5	12.3	10.4	10.0	3.9	18.4	18.2	16.5	24	17.9
25	28.1	11.9	13.1	12.8	10.9	10.5	4.4	19.2	18.9	17.2		
26	29.3	12.3	13.6	13.3	11.4	11.0	4.9	19.9	19.7	17.9	26	19.6
27	30.4	12.8	14.2	13.8	11.9	11.5	5.5	20.7	20.4	18.6		
28	31.5	13.3	14.7	14.3	12.4	12.0	6.0	21.5	21.1	19.3	28	21.2
29	32.6	13.8	15.2	14.8	12.9	12.5	6.5	22.2	21.9	20.0		
30	33.7	14.3	15.7	15.3	13.4	13.0	7.0	23.0	22.6	20.7	30	22.9
31	34.9	14.8	16.3	15.8	14.0	13.5	7.5	23.8	23.4	21.4		
32	36.0	15.3	16.8	16.3	14.5	14.1	8.0	24.5	24.1	22.2	32	24.6
33	37.2	15.7	17.4	16.8	15.0	14.6	8.5	25.3	24.9	22.9		
34	38.3	16.2	17.9	17.3	15.5	15.1	9.0	26.1	25.6	23.6	34	26.2
35	39.4	16.7	18.4	17.8	16.0	15.6	9.5	26.8	26.4	24.3		
36	40.5	17.2	19.0	18.3	16.5	16.1	10.1	27.6	27.1	25.0	36	27.9
37	41.7	17.7	19.5	18.9	17.0	16.6	10.6	28.4	27.9	25.7		
38	42.8	18.2	20.1	19.4	17.6	17.1	11.1	29.1	28.6	26.4	38	29.6
39	43.9	18.7	20.6	19.9	18.1	17.6	11.6	29.9	29.4	27.1		
40	45.0	19.2	21.1	20.4	18.6	18.2	12.1	30.6	30.1	27.8	40	31.3
41	46.2	19.7	21.7	20.9	19.1	18.7	12.6	31.4	30.8	28.6		
42	47.3	20.1	22.2	21.4	19.6	19.2	13.1	32.2	31.6	29.3	42	32.9
43	48.4	20.6	22.8	21.9	20.1	19.7	13.7	32.9	32.3	30.0		
44	49.5	21.1	23.3	22.4	20.7	20.2	14.2	33.7	33.1	30.7	44	34.6
45	50.7	21.6	23.8	22.9	21.2	20.7	14.7	34.5	33.8	31.4		
46	51.8	22.1	24.4	23.5	21.7	21.3	15.2	35.2	34.6	32.1	46	36.3
47	52.9	22.6	24.9	24.0	22.2	21.8	15.7	36.0	35.3	32.8		
48	54.0	23.1	25.4	24.5	22.7	22.3	16.2	36.8	36.1	33.5	48	37.9
49	55.2	23.6	26.0	25.0	23.2	22.8	16.8	37.5	36.8	34.3		
50	56.3	24.1	26.5	25.5	23.8	23.3	17.3	38.3	37.6	35.0	50	39.6
51	57.4	24.6	27.1	26.0	24.3	23.8	17.8	39.1	38.3	35.7		
52	58.5	25.1	27.6	26.5	24.8	24.3	18.3	39.8	39.1	36.4	52	41.3
53	59.7	25.6	28.2	27.0	25.3	24.9	18.8	40.6	39.8	37.1		
54	60.8	26.1	28.7	27.5	25.8	25.4	19.3	41.4	40.6	37.8	54	42.9
55	61.9	26.5	29.2	28.1	26.3	25.9	19.9	42.1	41.3	38.5		
56	63.0	27.0	29.8	28.6	26.9	26.4	20.4	42.9	42.1	39.3	56	44.6
57	64.2	27.5	30.3	29.1	27.4	26.9	20.9	43.7	42.8	40.0		
58	65.3	28.0	30.9	29.6	27.9	27.5	21.4	44.4	43.6	40.7	58	46.3
59	66.4	28.5	31.4	30.1	28.4	28.0	21.9	45.2	44.3	41.4		

^a J. Res. Natl. Bur. Std. 24, 589-596(1948); 41, 217-220(1948).
^b 43.812, Official Methods of Analysis, 10th Ed. (Cu₂O = Cu × 1.1259).
^c Applicable to all sugars except maltose.
^d Applicable only to maltose.

(Continued)

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose*, with values for maltose from the Munson and Walker table†; values expressed as mg
 —Continued.

Cu*	Cu ₂ O*	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₂ O*	Maltose .H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose .H ₂ O	1 Lactose 4 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
60	67.6	29.0	31.9	30.6	28.9	28.5	22.5	46.0	45.1	42.1	60	48.0
61	68.7	29.5	32.5	31.2	29.5	29.0	23.0	46.7	45.8	42.8		
62	69.8	30.0	33.0	31.7	30.0	29.5	23.5	47.5	46.5	43.6	62	49.6
63	70.9	30.5	33.6	32.2	30.5	30.1	24.0	48.3	47.3	44.3		
64	72.1	31.0	34.1	32.7	31.0	30.6	24.5	49.0	48.0	45.0	64	51.1
65	73.2	31.5	34.7	33.2	31.6	31.1	25.1	49.8	48.8	45.7		
66	74.3	32.0	35.2	33.7	32.1	31.6	25.6	50.6	49.5	46.4	66	53.0
67	75.4	32.5	35.8	34.3	32.6	32.1	26.1	51.3	50.3	47.1		
68	76.6	33.0	36.3	34.8	33.1	32.7	26.6	52.1	51.0	47.9	68	54.6
69	77.7	33.5	36.8	35.3	33.6	33.2	27.1	52.9	51.8	48.6		
70	78.8	34.0	37.4	35.8	34.2	33.7	27.7	53.6	52.5	49.3	70	56.1
71	79.9	34.5	37.9	36.3	34.7	34.2	28.2	54.4	53.3	50.0		
72	81.1	35.0	38.5	36.8	35.2	34.7	28.7	55.2	54.0	50.7	72	58.0
73	82.2	35.5	39.0	37.4	35.7	35.3	29.2	55.9	54.8	51.4		
74	83.3	36.0	39.6	37.9	36.3	35.8	29.8	56.7	55.5	52.2	74	59.6
75	84.4	36.5	40.1	38.4	36.8	36.3	30.3	57.5	56.3	52.9		
76	85.6	37.0	40.7	38.9	37.3	36.8	30.8	58.2	57.0	53.6	76	61.3
77	86.7	37.5	41.2	39.4	37.8	37.4	31.3	59.0	57.8	54.3		
78	87.8	38.0	41.7	40.0	38.4	37.9	31.9	59.8	58.5	55.0	78	63.0
79	88.9	38.5	42.3	40.5	38.9	38.4	32.4	60.5	59.3	55.7		
80	90.1	39.0	42.8	41.0	39.4	38.9	32.9	61.3	60.0	56.5	80	64.6
81	91.2	39.5	43.4	41.5	39.9	39.5	33.4	62.1	60.8	57.2		
82	92.3	40.0	43.9	42.0	40.5	40.0	34.0	62.8	61.6	57.9	82	66.3
83	93.4	40.5	44.5	42.6	41.0	40.5	34.5	63.6	62.3	58.6		
84	94.6	41.0	45.0	43.1	41.5	41.0	35.0	64.4	63.1	59.3	84	68.8
85	95.7	41.5	45.6	43.6	42.0	41.6	35.5	65.1	63.8	60.1		
86	96.8	42.0	46.1	44.1	42.6	42.1	36.1	65.9	64.6	60.8	86	69.7
87	97.9	42.5	46.7	44.7	43.1	42.6	36.6	66.7	65.3	61.5		
88	99.1	43.0	47.2	45.2	43.6	43.1	37.1	67.4	66.1	62.2	88	71.1
89	100.2	43.5	47.8	45.7	44.1	43.7	37.6	68.2	66.8	62.9		
90	101.3	44.0	48.3	46.2	44.7	44.2	38.2	69.0	67.6	63.7	90	73.0
91	102.5	44.5	48.9	46.7	45.2	44.7	38.7	69.7	68.3	64.4		
92	103.6	45.0	49.4	47.3	45.7	45.2	39.2	70.5	69.1	65.1	92	74.7
93	104.7	45.5	50.0	47.8	46.3	45.8	39.8	71.3	69.8	65.8		
94	105.8	46.0	50.5	48.3	46.8	46.3	40.3	72.1	70.6	66.5	94	76.3
95	107.0	46.5	51.1	48.8	47.3	46.8	40.8	72.8	71.3	67.3		
96	108.1	47.0	51.6	49.4	47.8	47.4	41.3	73.6	72.1	68.0	96	78.0
97	109.2	47.5	52.2	49.9	48.4	47.9	41.9	74.4	72.8	68.7		
98	110.3	48.0	52.7	50.4	48.9	48.4	42.4	75.1	73.6	69.4	98	79.7
99	111.5	48.5	53.3	50.9	49.4	48.9	42.9	75.9	74.3	70.2		
100	112.6	49.0	53.8	51.5	50.0	49.5	43.5	76.7	75.1	70.9	100	81.3
101	113.7	49.5	54.4	52.0	50.5	50.0	44.0	77.4	75.8	71.6		
102	114.8	50.0	54.9	52.5	51.0	50.5	44.5	78.2	76.6	72.3	102	83.0
103	116.0	50.6	55.5	53.0	51.6	51.1	45.1	79.0	77.3	73.1		
104	117.1	51.1	56.0	53.6	52.1	51.6	45.6	79.7	78.1	73.8	104	84.7
105	118.2	51.6	56.6	54.1	52.6	52.1	46.1	80.5	78.8	74.5		
106	119.3	52.1	57.1	54.6	53.1	52.7	46.7	81.3	79.6	75.2	106	86.3
107	120.5	52.6	57.7	55.2	53.7	53.2	47.2	82.1	80.4	76.0		
108	121.6	53.1	58.2	55.7	54.2	53.7	47.7	82.8	81.1	76.7	108	88.0
109	122.7	53.6	58.8	56.2	54.7	54.2	48.3	83.6	81.9	77.4		

(Continued)

REFERENCE TABLES

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose^a, with values for maltose from the Munson and Walker table^b; values expressed as mg
 --Continued.

Cu ^c	Cu ₂ O ^d	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₂ O ^d	Maltose H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose H ₂ O	1 Lactose 4 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
110	123.8	54.1	59.3	56.7	55.3	54.8	48.8	84.4	82.6	78.1	110	89.7
111	125.0	54.6	59.9	57.3	55.8	55.3	49.3	85.1	83.4	78.9		
112	126.1	55.1	60.4	57.8	56.3	55.8	49.9	85.9	84.1	79.6	112	91.3
113	127.2	55.6	61.0	58.3	56.9	56.4	50.4	86.7	84.9	80.3		
114	128.3	56.1	61.6	58.9	57.4	56.9	50.9	87.4	85.6	81.0	114	93.0
115	129.5	56.7	62.1	59.4	57.9	57.4	51.5	88.2	85.4	81.8		
116	130.6	57.2	62.7	59.9	58.5	58.0	52.0	89.0	87.1	82.5	116	94.7
117	131.7	57.7	63.2	60.4	59.0	58.5	52.5	89.8	87.9	83.2		
118	132.8	58.2	63.8	61.0	59.5	59.0	53.1	90.5	88.6	84.0	118	96.4
119	134.0	58.7	64.3	61.5	60.1	59.6	53.6	91.3	89.4	84.7		
120	135.1	59.2	64.9	62.0	60.6	60.1	54.1	92.1	90.2	85.4	120	98.0
121	136.2	59.7	65.4	62.6	61.2	60.7	54.7	92.8	90.9	86.1		
122	137.4	60.2	66.0	63.1	61.7	61.2	55.2	93.6	91.7	86.9	122	99.7
123	138.5	60.7	66.5	63.6	62.2	61.7	55.8	94.4	92.4	87.6		
124	139.6	61.3	67.1	64.2	62.8	62.3	56.1	95.2	93.2	88.3	124	101.4
125	140.7	61.8	67.7	64.7	63.3	62.8	56.8	95.9	93.9	89.0		
126	141.9	62.3	68.2	65.2	63.8	63.3	57.4	96.7	94.7	89.8	126	103.0
127	143.0	62.8	68.8	65.8	64.4	63.9	57.9	97.5	95.5	90.5		
128	144.1	63.3	69.3	66.3	64.9	64.4	58.4	98.2	96.2	91.2	128	104.7
129	145.2	63.8	69.9	66.8	65.4	64.9	59.0	99.0	97.0	92.0		
130	146.4	64.3	70.4	67.4	66.0	65.5	59.5	99.8	97.7	92.7	130	106.4
131	147.5	64.9	71.0	67.9	66.5	66.0	60.1	100.6	98.5	93.4		
132	148.6	65.4	71.6	68.4	67.1	66.6	60.6	101.3	99.2	94.1	132	108.0
133	149.7	65.9	72.1	69.0	67.6	67.1	61.1	102.1	100.0	94.9		
134	150.9	66.4	72.7	69.5	68.1	67.6	61.7	102.9	100.7	95.6	134	109.7
135	152.0	66.9	73.2	70.0	68.7	68.2	62.2	103.6	101.5	96.3		
136	153.1	67.4	73.8	70.6	69.2	68.7	62.8	104.4	102.3	97.1	136	113.4
137	154.2	68.0	74.3	71.1	69.8	69.3	63.3	105.2	103.0	97.8		
138	155.4	68.5	74.9	71.6	70.3	69.8	63.9	106.0	103.8	98.5	138	113.0
139	156.5	69.0	75.5	72.2	70.8	70.3	64.4	106.7	104.5	99.3		
140	157.6	69.5	76.0	72.7	71.4	70.9	64.9	107.5 ₁	105.3	100.0	140	114.7
141	158.7	70.0	76.6	73.2	71.9	71.4	65.5	108.3	106.0	100.7		
142	159.9	70.5	77.1	73.8	72.5	72.0	66.0	109.0	106.8	101.4	142	116.4
143	161.0	71.1	77.7	74.3	73.0	72.5	66.6	109.8	107.5	102.2		
144	162.1	71.6	78.3	74.9	73.5	73.0	67.1	110.6	108.3	102.9	144	118.0
145	163.2	72.1	78.8	75.4	74.1	73.6	67.7	111.4	109.1	103.6		
146	164.4	72.6	79.4	75.9	74.6	74.1	68.2	112.1	109.8	104.4	146	119.3
147	165.5	73.1	80.0	76.5	75.2	74.7	68.7	112.9	110.6	105.1		
148	166.6	73.7	80.5	77.0	75.7	75.2	69.3	113.7	111.3	105.8	148	121.4
149	167.8	74.2	81.1	77.6	76.3	75.7	69.8	114.4	112.1	106.6		
150	168.9	74.7	81.6	78.1	76.8	76.3	70.4	115.2	112.8	107.3	150	123.8
151	170.0	75.2	82.2	78.6	77.3	76.8	70.9	116.0	113.6	108.0		
152	171.1	75.7	82.8	79.2	77.9	77.4	71.5	116.8	114.4	108.8	152	124.7
153	172.3	76.3	83.3	79.7	78.4	77.9	72.0	117.5	115.1	109.5		
154	173.4	76.8	83.9	80.3	79.0	78.5	72.6	118.3	115.9	110.2	154	126.4
155	174.5	77.3	84.4	80.8	79.5	79.0	73.1	119.1	116.6	111.0		
156	175.6	77.8	85.0	81.3	80.1	79.6	73.7	119.9	117.4	111.7	156	128.0
157	176.7	78.3	85.6	81.9	80.6	80.1	74.2	120.5	118.2	112.4		
158	177.9	78.9	86.1	82.4	81.2	80.6	74.8	121.4	118.9	113.2	158	129.7
159	179.0	79.4	86.7	83.0	81.7	81.2	75.3	122.2	119.7	113.9		

(Continued)

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose^a, with values for maltose from the Munson and Walker table^b; values expressed as mg
 —Continued.

Cu ^a	Cu ₂ O ^a	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₂ O ^a	Maltose H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose H ₂ O	1 Lactose 4 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
160	180.1	79.9	87.3	83.5	82.2	81.7	75.9	122.9	120.4	114.6	160	131.4
161	181.3	80.4	87.8	84.0	82.8	82.3	76.4	123.7	121.2	115.4		
162	182.4	81.0	88.4	84.6	83.3	82.8	77.0	124.5	121.9	116.1	162	133.0
163	181.5	81.5	89.0	85.1	83.9	83.4	77.5	125.3	122.7	116.8		
164	184.6	82.8	89.5	85.7	84.4	83.9	78.1	126.0	123.5	117.6	164	134.7
165	185.8	82.5	90.1	86.2	85.0	84.5	78.6	126.8	124.2	118.3		
166	186.9	83.1	90.6	86.8	85.5	85.0	79.2	127.6	125.0	119.1	166	136.4
167	188.8	83.6	91.2	87.3	86.1	85.6	79.7	128.4	125.7	119.8		
168	189.1	84.1	91.8	87.8	86.6	86.1	80.3	129.1	126.5	120.5	168	138.0
169	190.3	84.6	92.3	88.4	87.2	86.7	80.8	129.9	127.3	121.3		
170	191.4	85.2	92.9	88.9	87.7	87.2	81.4	130.7	128.0	122.0	170	139.7
171	192.5	85.7	93.5	89.5	88.3	87.8	81.9	131.5	128.8	122.7		
172	193.6	86.2	94.0	90.0	88.8	88.3	82.5	132.2	129.5	123.5	172	141.4
173	194.8	86.7	94.6	90.6	89.4	88.9	83.0	133.0	130.3	124.2		
174	195.9	87.3	95.2	91.1	89.9	89.4	83.6	133.8	131.1	124.9	174	143.0
175	197.0	87.8	95.7	91.7	90.5	90.0	84.1	134.6	131.8	125.7		
176	198.1	88.3	96.3	92.2	91.0	90.5	84.7	135.3	132.6	126.4	176	144.7
177	199.3	88.9	96.9	92.8	91.6	91.1	85.2	136.1	133.4	127.2		
178	200.4	89.4	97.4	93.3	92.1	91.6	85.8	136.9	134.1	127.9	178	146.4
179	201.5	89.9	98.0	93.8	92.7	92.2	86.3	137.7	134.9	128.6		
180	202.7	90.4	98.6	94.4	93.2	92.7	86.9	138.4	135.6	129.4	180	148.0
181	203.8	91.0	99.2	94.9	93.8	93.3	87.4	139.2	136.4	130.1		
182	204.9	91.5	99.7	95.5	94.3	93.8	88.0	140.0	137.2	130.8	182	149.7
183	206.0	92.0	100.3	96.0	94.9	94.4	88.6	140.8	137.9	131.6		
184	207.2	92.6	100.9	96.6	95.4	94.9	89.1	141.5	138.7	132.3	184	151.4
185	208.3	93.1	101.4	97.1	96.0	95.5	89.7	142.3	139.4	133.1		
186	209.4	93.6	102.0	97.7	96.5	96.0	90.2	143.1	140.2	133.8	186	153.0
187	210.5	94.2	102.6	98.2	97.1	96.6	90.8	143.9	141.0	134.5		
188	211.7	94.7	103.1	98.8	97.6	97.1	91.3	144.6	141.7	135.3	188	154.7
189	212.8	95.2	103.7	99.3	98.2	97.7	91.9	145.4	142.5	136.0		
190	213.9	95.7	104.3	99.9	98.7	98.2	92.4	146.2	143.3	136.8	190	156.4
191	215.0	96.3	104.8	100.4	99.3	98.8	93.0	147.0	144.0	137.5		
192	216.2	96.8	105.4	101.0	99.9	99.4	93.6	147.7	144.8	138.2	192	158.0
193	217.3	97.3	106.0	101.5	100.4	99.9	94.1	148.5	145.5	139.0		
194	218.4	97.9	106.6	102.1	101.0	100.5	94.7	149.3	146.3	139.7	194	159.7
195	219.5	98.4	107.1	102.6	101.5	101.0	95.2	150.1	147.1	140.5		
196	220.7	98.9	107.7	103.2	102.1	101.6	95.8	150.8	147.8	141.2	196	161.4
197	221.8	99.5	108.3	103.7	102.6	102.1	96.4	151.6	148.6	142.0		
198	222.9	100.0	108.8	104.3	103.2	102.7	96.9	152.4	149.3	142.7	198	163.0
199	224.0	100.5	109.4	104.8	103.7	103.2	97.5	153.2	150.1	143.4		
200	225.2	101.1	110.0	105.4	104.3	103.8	98.0	153.9	150.9	144.2	200	164.7
201	226.3	101.6	110.6	106.0	104.9	104.4	98.6	154.7	151.6	144.9		
202	227.4	102.2	111.1	106.5	105.4	104.9	99.2	155.5	152.4	145.7	202	166.4
203	228.5	102.7	111.7	107.1	106.0	105.5	99.7	156.3	153.2	146.4		
204	229.7	103.2	112.3	107.6	106.5	106.0	100.3	157.0	153.9	147.1	204	168.0
205	230.8	103.8	112.9	108.2	107.1	106.6	100.9	157.8	154.7	147.9		
206	231.9	104.3	113.4	108.7	107.6	107.2	101.4	158.6	155.5	148.6	206	169.7
207	233.1	104.8	114.0	109.3	108.2	107.7	102.0	159.4	156.2	149.4		
208	234.2	105.4	114.6	109.8	108.8	108.3	102.5	160.2	157.0	150.1	208	171.4
209	235.3	105.9	115.2	110.4	109.3	108.8	103.1	160.9	157.7	150.9		

(Continued)

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose*, with values for maltose from the Munsund and Walker table; values expressed as mg
—Continued.

Cof	C ₁₂ O ₁₁	Glu- cose	Fruc- tose	Invert Sugar	Invert Sugar and Sucrose			Lactose, H ₂ O and Sucrose			C ₁₂ O ₁₁	Maltose H ₂ O
					0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose H ₂ O	1 Lactose 1 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
210	236.4	106.5	115.7	110.9	109.9	109.4	103.7	161.7	158.5	151.6	210	173.0
211	237.6	107.0	116.3	111.5	110.4	110.0	104.2	162.1	159.3	152.4		
212	238.7	107.5	116.9	112.1	111.0	110.5	104.8	162.3	159.0	153.1	212	174.7
213	239.8	108.1	117.5	112.6	111.6	111.1	105.4	162.6	159.8	153.8		
214	240.9	108.6	118.0	113.2	112.1	111.6	105.9	162.8	160.6	154.6	214	176.4
215	242.1	109.2	118.6	113.7	112.7	112.2	106.5	163.1	161.3	155.3		
216	243.1	109.7	119.2	114.3	113.2	112.8	107.1	163.4	162.1	156.1	216	178.0
217	244.1	110.2	119.8	114.9	113.8	113.3	107.6	163.7	162.9	156.8		
218	245.4	110.8	120.3	115.4	114.4	113.9	108.2	164.0	163.6	157.6	218	179.7
219	246.6	111.3	120.9	116.0	114.9	114.4	108.8	164.3	164.4	158.3		
220	247.7	111.9	121.5	116.5	115.5	115.0	109.3	164.6	165.2	159.1	220	181.4
221	248.8	112.4	122.1	117.1	116.1	115.6	109.9	164.9	165.9	159.8		
222	249.9	112.9	122.6	117.6	116.6	116.1	110.5	165.2	166.7	160.6	222	183.0
223	251.1	113.5	123.2	118.2	117.2	116.7	111.0	165.5	167.5	161.3		
224	252.2	114.0	123.8	118.8	117.7	117.3	111.6	165.8	168.2	162.1	224	184.7
225	253.4	114.6	124.4	119.3	118.3	117.8	112.2	166.1	169.0	162.8		
226	254.4	115.1	125.0	119.9	118.9	118.4	112.7	166.4	169.8	163.6	226	186.4
227	255.6	115.7	125.5	120.4	119.4	119.0	113.3	166.7	170.5	164.3		
228	256.7	116.2	126.1	121.0	120.0	119.5	113.9	167.0	171.3	165.1	228	188.0
229	257.8	116.7	126.7	121.6	120.6	120.1	114.4	167.3	172.1	165.8		
230	258.9	117.3	127.3	122.1	121.1	120.7	115.0	167.6	172.8	166.5	230	189.7
231	260.1	117.8	127.9	122.7	121.7	121.2	115.6	167.9	173.6	167.3		
232	261.2	118.4	128.4	123.3	122.3	121.8	116.2	168.1	174.3	168.0	232	191.2
233	262.3	118.9	129.0	123.8	122.8	122.4	116.7	168.4	175.1	168.8		
234	263.4	119.5	129.6	124.4	123.4	122.9	117.3	168.7	175.9	169.5	234	193.0
235	264.6	120.0	130.2	124.9	124.0	123.5	117.9	169.0	176.6	170.3		
236	265.7	120.6	130.8	125.5	124.5	124.1	118.4	169.3	177.4	171.0	236	194.7
237	266.8	121.1	131.3	126.1	125.1	124.6	119.0	169.6	178.2	171.8		
238	268.0	121.7	131.9	126.6	125.7	125.2	119.6	169.9	179.0	172.5	238	196.3
239	269.1	122.2	132.5	127.2	126.2	125.8	120.2	170.2	179.7	173.3		
240	270.2	122.7	133.1	127.8	126.8	126.3	120.7	170.5	180.5	174.0	240	198.0
241	271.3	123.1	133.7	128.3	127.4	126.9	121.1	170.8	181.3	174.8		
242	272.5	123.6	134.2	128.9	127.9	127.5	121.6	171.1	182.0	175.5	242	199.7
243	273.6	124.1	134.8	129.5	128.5	128.0	122.1	171.4	182.8	176.3		
244	274.7	124.6	135.4	130.0	129.1	128.6	122.6	171.7	183.5	177.0	244	201.3
245	275.8	125.1	136.0	130.6	129.6	129.2	123.1	172.0	184.3	177.8		
246	277.0	125.6	136.6	131.2	130.2	129.8	123.6	172.3	185.1	178.5	246	203.0
247	278.1	126.1	137.2	131.7	130.8	130.3	124.1	172.6	185.9	179.3		
248	279.2	126.7	137.8	132.3	131.3	130.9	124.6	172.9	186.7	180.1	248	204.7
249	280.3	127.2	138.3	132.9	131.9	131.5	125.1	173.2	187.4	180.8		
250	281.5	127.8	138.9	133.4	132.5	132.0	125.6	173.5	188.2	181.6	250	206.3
251	282.6	128.3	139.5	134.0	133.1	132.6	126.1	173.8	189.0	182.3		
252	283.7	128.9	140.1	134.6	133.6	133.2	126.6	174.1	189.7	183.1	252	208.1
253	284.8	129.4	140.7	135.3	134.2	133.8	127.1	174.4	190.5	183.8		
254	286.0	130.0	141.3	135.9	134.8	134.4	127.6	174.7	191.3	184.6	254	209.7
255	287.1	130.6	141.8	136.5	135.3	134.9	128.1	175.0	192.1	185.3		
256	288.2	131.1	142.4	137.1	135.9	135.5	128.6	175.3	192.9	186.1	256	211.1
257	289.3	131.7	143.0	137.6	136.5	136.1	129.1	175.6	193.7	186.8		
258	290.5	132.2	143.6	138.0	137.1	136.6	129.6	175.9	194.5	187.6	258	213.1
259	291.6	132.8	144.2	138.6	137.6	137.2	130.1	176.2	195.3	188.3		

(Continued)

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and Invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose*, with values for maltose from the Munson and Walker table^b; values expressed as mg
 —Continued.

Cu ^a	Cu ₂ O ^c	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₂ O ^d	Maltose H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose H ₂ O	1 Lactose 4 Su-crose	1 Lactose 12 Su-crose		
268	292.7	133.8	144.8	139.1	138.2	137.8	132.3	200.7	196.9	189.1	260	214.7
261	293.8	134.3	145.4	139.7	138.8	138.3	132.9	201.4	197.6	189.8		
262	295.0	134.9	145.9	140.3	139.4	138.9	133.4	202.2	198.4	190.6	262	216.3
263	296.1	135.4	146.5	140.8	139.9	139.5	134.0	203.0	199.2	191.4		
264	297.2	136.0	147.1	141.4	140.5	140.1	134.6	203.8	199.9	192.1	264	218.0
265	298.3	136.5	147.7	142.0	141.1	140.7	135.2	204.6	200.7	192.9		
266	299.5	137.1	148.3	142.6	141.7	141.2	135.8	205.3	201.5	193.6	266	219.7
267	300.6	137.7	148.9	143.1	142.2	141.8	136.3	206.1	202.2	194.4		
268	301.7	138.2	149.5	143.7	142.8	142.4	136.9	206.9	203.0	195.1	268	221.3
269	302.9	138.8	150.1	144.3	143.4	143.0	137.5	207.7	203.8	195.9		
270	304.0	139.3	150.6	144.8	144.0	143.5	138.1	208.5	204.6	196.7	270	223.0
271	305.1	139.9	151.2	145.4	144.5	144.1	138.7	209.2	205.3	197.4		
272	306.2	140.4	151.8	146.0	145.1	144.7	139.3	210.0	206.1	198.2	272	224.6
273	307.4	141.0	152.4	146.6	145.7	145.3	139.8	210.8	206.9	198.9		
274	308.5	141.6	153.0	147.1	146.3	145.9	140.4	211.6	207.6	199.7	274	226.3
275	309.6	142.1	153.6	147.7	146.8	146.4	141.0	212.4	208.4	200.4		
276	310.7	142.7	154.2	148.3	147.4	147.0	141.6	213.2	209.2	201.2	276	228.0
277	311.9	143.2	154.8	148.9	148.0	147.6	142.2	214.0	210.0	202.0		
278	313.0	143.8	155.4	149.4	148.6	148.2	142.8	214.7	210.7	202.7	278	229.6
279	314.1	144.4	156.0	150.0	149.2	148.8	143.4	215.5	211.5	203.5		
280	315.2	144.9	156.5	150.6	149.7	149.3	143.9	216.3	212.3	204.2	280	231.3
281	316.4	145.5	157.1	151.2	150.2	149.9	144.5	217.1	213.0	205.0		
282	317.5	146.0	157.7	151.8	150.9	150.5	145.1	217.9	213.8	205.7	282	233.0
283	318.6	146.6	158.3	152.3	151.5	151.1	145.7	218.7	214.6	206.5		
284	319.7	147.2	158.9	152.9	152.1	151.7	146.3	219.4	215.4	207.3	284	234.6
285	320.9	147.7	159.5	153.5	152.6	152.2	146.9	220.2	216.1	208.0		
286	322.0	148.3	160.1	154.1	153.2	152.8	147.5	221.0	216.9	208.8	286	236.3
287	323.1	148.8	160.7	154.6	153.8	153.4	148.1	221.8	217.7	209.5		
288	324.2	149.4	161.3	155.2	154.4	154.0	148.6	222.6	218.4	210.3	288	238.0
289	325.4	150.0	161.9	155.8	155.0	154.6	149.2	223.3	219.2	211.1		
290	326.5	150.5	162.5	156.4	155.5	155.2	149.8	224.1	220.0	211.8	290	239.6
291	327.6	151.1	163.1	157.0	156.1	155.7	150.4	224.9	220.8	212.6		
292	328.7	151.7	163.7	157.5	156.7	156.3	151.0	225.7	221.5	213.4	292	241.3
293	329.9	152.2	164.3	158.1	157.3	156.9	151.6	226.5	222.3	214.1		
294	331.0	152.8	164.9	158.7	157.9	157.5	152.2	227.3	223.1	214.9	294	242.9
295	332.1	153.4	165.4	159.3	158.5	158.1	152.8	228.0	223.9	215.6		
296	333.3	153.9	166.0	159.9	159.0	158.7	153.4	228.8	224.6	216.4	296	244.6
297	334.4	154.5	166.6	160.5	159.6	159.3	154.0	229.6	225.4	217.2		
298	335.5	155.1	167.2	161.0	160.2	159.9	154.6	230.4	226.2	217.9	298	246.3
299	336.6	155.6	167.8	161.6	160.8	160.4	155.2	231.2	227.0	218.7		
300	337.8	156.2	168.4	162.2	161.4	161.0	155.7	232.0	227.7	219.5	300	247.9
301	338.9	156.8	169.0	162.8	162.0	161.6	156.3	232.7	228.5	220.2		
302	340.0	157.3	169.6	163.4	162.5	162.2	156.9	233.5	229.3	221.0	302	249.6
303	341.1	157.9	170.2	164.0	163.1	162.8	157.5	234.3	230.1	221.7		
304	342.3	158.5	170.8	164.5	163.7	163.4	158.1	235.1	230.8	222.5	304	251.3
305	343.4	159.0	171.4	165.1	164.3	164.0	158.7	235.9	231.6	223.3		
306	344.5	159.6	172.0	165.7	164.9	164.6	159.3	236.7	232.4	224.0	306	252.9
307	345.6	160.2	172.6	166.3	165.5	165.1	159.9	237.4	233.1	224.8		
308	346.8	160.7	173.2	166.9	166.1	165.7	160.5	238.2	233.9	225.6	308	254.6
309	347.9	161.3	173.8	167.5	166.7	166.3	161.1	239.0	234.7	226.3		

(Continued)

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose^a, with values for maltose from the Munson and Walker table^b; values expressed as mg
—Continued.

Cu ^c	Cu ₂ O ^d	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₂ O ^d	Maltose H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose H ₂ O	1 Lactose 4 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
310	349.0	161.9	174.4	168.0	167.2	166.9	161.7	239.8	235.5	227.1	318	256.3
311	350.1	152.5	175.0	168.6	167.8	167.5	162.3	240.6	236.3	227.9		
312	351.3	163.0	175.6	169.2	168.4	168.1	162.9	241.4	237.0	228.6	312	257.9
313	352.4	161.6	176.2	169.8	169.8	169.7	163.5	242.2	237.8	229.4		
314	351.5	164.2	176.8	170.4	169.6	169.3	164.1	243.8	238.6	230.2	314	259.6
315	354.6	164.7	177.4	171.0	170.2	169.9	164.7	243.7	239.4	230.9		
316	355.8	165.3	178.8	171.6	170.8	170.5	165.3	244.5	240.1	231.7	316	261.2
317	356.9	165.9	178.6	172.2	171.4	171.1	165.9	245.3	240.9	232.5		
318	358.0	166.5	179.2	172.8	172.0	171.7	166.5	246.1	241.7	233.2	318	262.9
319	359.1	167.8	179.8	173.3	172.6	172.2	167.1	246.9	242.5	234.0		
320	360.1	167.6	180.4	173.9	173.1	172.8	167.7	247.7	243.2	234.8	320	264.6
321	361.4	168.2	181.0	174.5	173.7	173.4	168.3	248.5	244.8	235.5		
322	362.5	168.8	181.6	175.1	174.3	174.8	168.9	249.2	244.8	236.3	322	266.2
323	361.6	169.1	182.2	175.7	174.9	174.6	169.5	249.0	245.6	237.1		
324	364.8	169.9	182.8	176.3	175.5	175.2	170.1	250.8	246.3	237.8	324	267.9
325	365.9	178.5	183.4	176.9	176.1	175.8	170.7	251.6	247.1	238.6		
326	367.0	171.1	184.8	177.5	176.7	176.4	171.3	252.4	247.9	239.4	326	269.6
327	368.2	171.6	184.6	178.1	177.3	177.0	171.9	253.2	248.7	240.1		
328	369.3	172.2	185.2	178.7	177.9	177.6	172.5	253.9	249.5	240.9	328	271.2
329 ^e	378.4	172.0	185.8	179.2	178.5	178.2	173.1	254.7	250.2	241.7		
330	371.5	173.4	186.4	179.8	179.1	178.8	173.7	255.5	251.0	242.4	330	272.9
331	372.7	173.9	187.0	180.4	179.7	179.4	174.3	256.3	251.8	243.2		
332	373.8	174.5	187.6	181.0	180.3	180.0	174.9	257.1	252.6	244.8	332	274.6
333	374.9	175.1	188.2	181.6	180.9	180.6	175.5	257.9	253.3	244.8		
334	376.8	175.7	188.8	182.2	181.5	181.2	176.1	258.7	254.1	245.5	334	276.2
335	377.2	176.3	189.4	182.8	182.1	181.8	176.7	259.4	254.9	246.3		
336	378.3	176.8	190.1	183.4	182.6	182.4	177.3	260.2	255.7	247.1	336	277.9
337	379.4	177.4	190.7	184.0	183.2	183.0	178.0	261.0	256.5	247.8		
338	380.5	178.0	191.3	184.6	183.8	183.6	178.6	261.8	257.2	248.6	338	279.5
339	381.7	178.6	191.9	185.2	184.4	184.2	179.2	262.6	258.0	249.4		
348	382.8	179.2	192.5	185.8	185.0	184.8	179.8	263.4	258.8	250.2	348	281.2
341	383.9	179.7	193.1	186.4	185.6	185.4	180.4	264.2	259.6	250.9		
342	385.8	180.3	193.7	187.0	186.2	186.0	181.0	265.0	260.4	251.7	342	282.9
343	386.2	180.9	194.3	187.6	186.8	186.6	181.6	265.8	261.1	252.5		
344	387.3	181.5	194.9	188.2	187.4	187.2	182.2	266.6	261.9	253.3	344	284.5
345	388.4	182.1	195.5	188.8	188.0	187.8	182.8	267.4	262.7	254.0		
346	389.5	182.7	196.1	189.4	188.6	188.4	183.4	268.1	263.5	254.8	346	286.2
347	390.7	183.2	196.7	190.0	189.2	189.0	184.0	268.9	264.2	255.6		
348	391.8	183.8	197.3	190.6	189.8	189.6	184.6	269.7	265.0	256.4	348	287.9
349	392.9	184.4	197.9	191.2	190.4	190.2	185.3	270.5	265.8	257.1		
350	394.0	185.0	198.5	191.8	191.0	190.8	185.9	271.3	266.6	257.9	350	289.5
351	395.2	185.6	199.2	192.4	191.6	191.4	186.5	272.1	267.4	258.7		
352	396.3	186.2	199.8	193.8	192.2	192.0	187.1	272.9	268.2	259.4	352	291.2
353	397.4	186.9	200.4	193.6	192.8	192.6	187.7	273.7	268.9	260.2		
354	398.5	187.3	201.0	194.2	193.4	193.2	188.3	274.4	269.7	261.0	354	292.8
355	399.7	187.9	201.6	194.8	194.0	193.8	188.9	275.2	270.5	261.8		
356	400.8	188.5	202.2	195.4	194.6	194.4	189.5	276.0	271.3	262.6	356	294.5
357	401.9	189.1	202.8	196.0	195.2	195.0	190.2	276.8	272.1	263.3		
358	403.1	189.7	203.4	196.6	195.8	195.7	190.8	277.6	272.8	264.1	358	296.2
359	404.2	190.3	204.0	197.2	196.4	196.3	191.4	278.4	273.6	264.9		

(Continued)

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose^a, with values for maltose from the Munson and Walker table^b; values expressed as mg
—Continued.

Cu ^a	Cu ₂ O ^d	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₂ O ^d	Maltose H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose H ₂ O	1 Lactose 4 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
360	405.3	190.9	204.7	197.8	197.1	196.9	192.0	279.2	274.4	265.7	360	297.8
361	406.4	191.5	205.3	198.4	197.7	197.5	192.6	280.0	275.2	266.4		
362	407.6	192.0	205.9	199.0	198.3	198.1	193.2	280.8	276.0	267.2	362	299.5
363	408.7	192.6	206.5	199.6	198.9	198.7	193.9	281.6	276.8	268.0		
364	409.8	193.2	207.1	200.2	199.5	199.3	194.5	282.4	277.5	268.8	364	301.2
365	410.9	193.8	207.7	200.8	200.1	199.9	195.1	283.2	278.3	269.6		
366	412.1	194.4	208.3	201.4	200.7	200.5	195.7	284.0	279.1	270.3	366	302.8
367	413.2	195.0	209.0	202.0	201.3	201.1	196.3	284.8	279.9	271.1		
368	414.3	195.6	209.6	202.6	201.9	201.7	196.9	285.6	280.7	271.9	368	304.5
369	415.4	196.2	210.2	203.2	202.5	202.4	197.6	286.3	281.5	272.7		
370	416.6	196.8	210.8	203.8	203.1	203.0	198.2	287.1	282.2	273.5	370	306.1
371	417.7	197.4	211.4	204.4	203.7	203.6	198.8	287.9	283.0	274.2		
372	418.8	198.0	212.0	205.0	204.3	204.2	199.4	288.7	283.8	275.0	372	307.8
373	419.9	198.5	212.6	205.6	204.9	204.8	200.0	289.5	284.6	275.8		
374	421.1	199.1	213.3	206.3	205.6	205.4	200.7	290.3	285.4	276.6	374	309.5
375	422.2	199.7	213.9	206.9	206.2	206.0	201.3	291.1	286.2	277.4		
376	423.3	200.3	214.5	207.5	206.8	206.6	201.9	291.9	286.9	278.2	376	311.1
377	424.4	200.9	215.1	208.1	207.4	207.3	202.5	292.7	287.7	278.9		
378	425.6	201.5	215.7	208.7	208.0	207.9	203.1	293.5	288.5	279.7	378	312.8
379	426.7	202.1	216.3	209.3	208.6	208.5	203.8	294.3	289.3	280.5		
380	427.8	202.7	217.0	209.9	209.2	209.1	204.4	295.0	290.1	281.3	380	314.5
381	428.9	203.3	217.6	210.5	209.8	209.7	205.0	295.8	290.8	282.1		
382	430.1	203.9	218.2	211.1	210.4	210.3	205.6	296.6	291.7	282.9	382	316.1
383	431.2	204.5	218.8	211.8	211.1	211.0	206.3	297.4	292.4	283.6		
384	432.3	205.1	219.5	212.4	211.7	211.6	206.9	298.2	293.2	284.4	384	317.8
385	433.5	205.7	220.1	213.0	212.3	212.2	207.5	299.0	294.0	285.2		
386	434.6	206.3	220.7	213.6	212.9	212.8	208.1	299.8	294.8	286.0	386	319.4
387	435.7	206.9	221.3	214.2	213.5	213.4	208.8	300.6	295.6	286.8		
388	436.8	207.5	221.9	214.8	214.1	214.0	209.4	301.4	296.4	287.6	388	321.1
389	438.0	208.1	222.6	215.4	214.7	214.7	210.0	302.2	297.2	288.4		
390	439.1	208.7	223.2	216.0	215.4	215.3	210.6	303.0	298.0	289.2	390	322.8
391	440.2	209.3	223.8	216.7	216.0	215.9	211.3	303.8	298.8	290.0		
392	441.3	209.9	224.4	217.3	216.6	216.5	211.9	304.6	299.5	290.7	392	324.4
393	442.5	210.5	225.1	217.9	217.2	217.1	212.5	305.4	300.3	291.5		
394	443.6	211.1	225.7	218.5	217.8	217.8	213.2	306.2	301.1	292.3	394	326.1
395	444.7	211.7	226.3	219.1	218.5	218.4	213.8	307.0	301.9	293.1		
396	445.8	212.3	226.9	219.8	219.1	219.0	214.4	307.8	302.7	293.9	396	327.7
397	447.0	212.9	227.6	220.4	219.7	219.6	215.1	308.6	303.5	294.7		
398	448.1	213.5	228.2	221.0	220.3	220.3	215.7	309.4	304.3	295.5	398	329.4
399	449.2	214.1	228.8	221.6	220.9	220.9	216.3	310.2	305.1	296.3		
400	450.3	214.7	229.4	222.2	221.5	221.5	217.0	311.0	305.9	297.1	400	331.1
401	451.5	215.3	230.1	222.9	222.2	222.1	217.6	311.8	306.7	297.9		
402	452.6	215.9	230.7	223.5	222.8	222.8	218.2	312.6	307.5	298.7	402	332.7
403	453.7	216.5	231.3	224.1	223.4	223.4	218.9	313.4	308.3	299.5		
404	454.8	217.1	232.0	224.7	224.0	224.0	219.5	314.2	309.1	300.3	404	334.4
405	456.0	217.8	232.6	225.4	224.7	224.7	220.1	315.0	309.9	301.1		
406	457.1	218.4	233.2	226.0	225.3	225.3	220.8	315.9	310.7	301.9	406	336.0
407	458.2	219.0	233.9	226.6	225.9	225.9	221.4	316.7	311.5	302.7		
408	459.3	219.6	234.5	227.2	226.6	226.5	222.0	317.5	312.3	303.5	408	337.7
409	460.5	220.2	235.1	227.9	227.2	227.2	222.7	318.3	313.1	304.3		

(Continued)

940.39 Hammond table for calculating glucose, fructose, and invert sugar and lactose alone and in the presence of sucrose¹, with values for maltose from the Munson and Walker table²; values expressed as mg —Concluded.

Cu ^a	Cu ₃ O ^a	Invert Sugar and Sucrose						Lactose, H ₂ O and Sucrose			Cu ₃ O ^d	Maltose .H ₂ O
		Glucose	Fructose	Invert Sugar	0.3 g Total Sugar	0.4 g Total Sugar	2.0 g Total Sugar	Lactose .H ₂ O	1 Lactose 4 Su- crose	1 Lactose 12 Su- crose		
410	461.6	220.8	235.8	238.5	227.8	227.8	223.3	319.1	313.9	305.1	410	339.4
411	462.7	221.4	236.4	239.1	228.4	228.4	224.0	319.9	314.7	305.9	412	341.0
412	463.8	222.0	237.1	239.7	229.1	229.1	224.6	320.7	315.5	306.7	412	341.0
413	465.0	222.6	237.7	239.4	229.7	229.7	225.3	321.6	316.3	307.6	414	342.7
414	466.1	223.3	238.4	231.0	230.4	230.4	225.9	322.4	317.1	308.4	414	342.7
415	467.2	223.9	239.0	231.7	231.0	231.0	226.6	323.2	317.9	309.2	416	344.4
416	468.4	224.5	239.7	232.3	231.6	231.7	227.2	324.0	318.7	310.0	416	344.4
417	469.5	225.1	240.3	232.9	232.3	232.3	227.8	324.9	319.5	310.8	418	346.0
418	470.6	225.7	241.0	233.6	232.9	232.9	228.5	325.7	320.3	311.7	418	346.0
419	471.7	226.3	241.6	234.2	233.5	233.6	229.1	326.5	321.2	312.5		
420	472.9	227.0	242.2	234.8	234.2	234.2	229.8	327.4	322.0	313.4	420	347.7
421	474.0	227.6	242.9	235.5	234.8	234.9	230.4	328.2	322.8	314.2	422	349.3
422	475.1	228.2	243.6	236.1	235.5	235.5	231.1	329.1	323.6	315.0	422	349.3
423	476.2	228.8	244.3	236.8	236.2	236.2	231.8	329.9	324.5	315.9	424	351.0
424	477.4	229.5	244.9	237.5	236.8	236.9	232.4	330.8	325.3	316.8	424	351.0
425	478.5	230.1	245.6	238.1	237.5	237.5	233.1	331.7	326.2	317.6	426	352.7
426	479.6	230.7	246.3	238.8	238.1	238.2	233.8	332.6	327.0	318.5	426	352.7
427	480.7	231.4	247.0	239.5	238.4	238.9	234.5	333.5	327.9	319.4	428	354.3
428	481.9	232.0	247.8	240.2	239.5	239.6	235.1	334.4	328.8	320.4	428	354.3
429	483.0	232.7	248.5	240.8	240.2	240.3	235.8	335.3	329.7	321.3		
430	484.1	233.3	249.2	241.5	240.9	241.0	236.5	336.3	330.6	322.3	430	356.0
431	485.2	234.0	250.0	242.3	241.7	241.7	237.2	337.2	331.5	323.3	432	357.6
432	486.4	234.7	250.8	243.0	242.4	242.5	238.0	338.1	332.5	324.4	432	357.6
433	487.5	235.3	251.6	243.8	243.2	243.3	238.7	339.4	333.5	325.5	434	359.3
434	488.6	236.1	252.7	244.7	244.1	244.2	239.6	340.7	334.6	326.7	434	359.3
435	489.7	236.9	253.7	245.6	245.1	245.1	240.4	342.0	335.8	328.1	436	361.0
											438	362.6
											440	364.3
											442	365.9
											444	367.6
											446	369.3
											448	370.9
											450	372.6
											452	374.2
											454	375.9
											456	377.6
											458	379.2
											460	380.9
											462	382.5
											464	384.2
											466	385.9
											468	387.5
											470	389.2
											472	390.8
											474	392.5
											476	394.2
											478	395.8
											480	397.5
											482	399.1
											484	400.8
											486	402.4
											488	404.1
											490	405.8

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

ANEXO II.

Preparación de medios de cultivo.

Medios de cultivo.

Agar bills y Rojo Violeta.

Ingredientes	Gramos/litro de agua.
Extracto de levadura	3.0
Peptona de gelatina	7.0
Mezcla de sales biliares	1.5
Lactosa	10.0
Cloruro de sodio	5.0
Agar	15.0
Rojo neutro	0.03
Cristal violeta	0.002

pH final 7.4 +/- 0.2

Suspender 41.4g de medio deshidratado en un litro de agua destilada. Remojar de 10 a 15 min. Calentar agitando frecuentemente y hervir durante un minuto; esterilizar a 121°C por 15 min. Una vez esterilizado enfriar a 45°C y vaciar en cajas petri.

a.2. Preparación de la muestra.

Inocular las cajas petri con diluciones decimales de la muestra. Ya preparado y enfriado el medio, se prosigue a distribuir de 15 a 20ml en cada una de las cajas petri. Agitar las cajas con cuidado mediante un movimiento circular uniforme y una vez solidificado el medio, se incuba en posición invertida a 37°C.

Agar Papa Dextrosa.

Ingredientes.	gramos/ litro de agua.
Infusión de papa	200
Dextrosa	20
Agar	15

pH final 5.6 +/-0.2

Suspender el medio en un litro de agua destilada. Remojar de 10-15 min. Calentar agitando frecuentemente y hervir 1 min. Esterilizar a 121°C/15min, se enfría en un baño de agua. Adicionar 14ml de una muestra de ácido trarácico al 10% para obtener un pH aproximado a 3.5.

b.2. Preparación de la muestra:

A las cajas petri previamente inoculadas con la dilución problema, se le agraga 20ml del medio agar papa dextrosa enfriado y acidificado; se agitan cuidadosamente las cajas a obtener una mezcla homogénea, se enfría para solidificar el medio y se incuba en posición invertida a 37°C durante aproximadamente 5 días, para posteriormente leer el número de colonias en un cuentacolonias Quebec.

Caldo Lauril Sulfato.

Ingredientes	gramos/litro de agua.
Lauril Sulfato de sodio	0.10
Lactosa	5.0
fosfato dipotásico	2.75
Fosfato monopotásico	2.75
Cloruro de sodio	5.0
Peptona tripticase	20.0

pH final 6.8 +/- 0.2

Se prepara el medio con agua destilada. Se esteriliza a 121°C durante 15 minutos y se enfría.

Caldo Bilis Verde Brillante.

Ingredientes	gramos/litro de agua.
Bilis de buey deshidratada	20.0
Lactosa	10.0
Peptona de gelatina	10.0
Verde brillante	0.0133

Se prepara el medio y se esteriliza a 121°C durante 15 minutos y se enfría en un baño de agua.

c.2.Preparación de la muestra:

En un matraz de 100ml se colocan 10ml de la muestra en donde hay 90 ml de agua destilada; se agita perfectamente para homogenizar; del matraz se toma 1ml de la solución y se pasa al tubo no.1 el cual contiene 9ml de agua, se agita perfectamente y de ese tubo se toma 1ml para transferir al tubo dos que contiene 9ml de agua, y así sucesivamente hasta llegar al tubo no.4.

De las diluciones 10-1, 10-2 y 10-3 se toma 1ml de cada una y se colocan por separado en tres tubos de ensaye que contiene caldo lauril sulfato, con el fin de establecer en número más probable, la producción de ácido y de gas es una prueba indicadora positiva. Esta prueba puede confirmarse haciendo una resembra a partir de los tubos de lauril sulfato a un caldo bilis verde brillante, este medio inhibe el desarrollo de los fermentadores de lactosa diferentes a los coliformes y así la formación de gas. Tanto los tubos de lauril sulfato como los de caldo bilis verde brillante se incuban a 35°C durante 24-48 horas.

Agar soya tripticaseina.

Ingredientes:

Esterilizar a 121°C durante 15min. Mantenerse fundido en baño de agua a 45°C. El tiempo transcurrido para su utilización no debe ser mayor a 20min.

Solución concentrada de fosfatos (0.25M).

Pesar 34g de fosfato monobásico de potasio. Colocarlos en un matraz volumétrico de 1000ml. Agregar 500ml de agua destilada, disolver. Ajustar el pH a 7.2+/- 0.1 con NaOH 1N. Aferrar a 1000ml con agua y mezclar. Esterilizar a 121°C, 15 minutos.

Solución diluida de fosfatos.

Transferir 1.0ml de solución concentrada de fosfatos en un matraz que contiene 800ml de agua destilada. Egitar y esterilizar 121°C, 15min. Enfriar.

d.2.Preparación de la muestra.

Medir 10ml de muestra y depositarlo en un matraz que contiene 90ml de solución diluida de fosfatos. Agitar hasta homogenizar la muestra. Si se considera necesario hacer diluciones con factor de dilución de 10. Inocular una caja de Petri con 10ml de o de las diluciones de la muestra. Adicionar a cada caja Petri de 12-15ml de Agar soya tripticaseína fundido y a temp aproximada de 45°C. Mezclar la muestra con el medio de cultivo hasta lograr la incorporación de la muestra con el medio. Correr una muestra de blanco utilizando una alícuota de diluyente en lugar de la muestra. Dejar solidificar a temperatura ambiente e incubar a 35°C+/- 1°C durante 48hrs.

ANEXO III.

Tablas estadísticas.

TABLA F.2. Continuación

Número de ensayos (n)	Niveles de probabilidad						
	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
44	29	30	30	30	31	32	34
45	30	30	31	31	32	33	34
46	31	31	31	32	33	33	35
47	31	31	32	32	33	34	36
48	32	32	32	33	34	35	36
49	32	33	33	34	34	35	37
50	33	33	34	34	35	36	37
60	39	39	39	40	41	42	44
70	44	45	45	46	47	48	50
80	50	50	51	51	52	53	56
90	55	56	56	57	58	59	61
100	61	61	62	63	64	65	67

TABLA
les de p

Núm. de
ensayos

- 5
- 6
- 7
- 8
- 9
- 10
- 11
- 12
- 13
- 14
- 15
- 16
- 17
- 18
- 19
- 20
- 21
- 22
- 23
- 24
- 25
- 26
- 27
- 28
- 29
- 30
- 31
- 32
- 33
- 34
- 35
- 36
- 37

* Valores

III. Puntos porcentuales* de la distribución Z

v	α								
	.975	.990	.975	.950	.500	.050	.025	.010	.005
1	0.00 +	0.00 +	0.00 +	0.00 +	0.45	3.84	5.02	6.63	7.88
2	0.01	0.02	0.05	0.10	1.39	5.99	7.38	9.21	10.60
3	0.07	0.11	0.22	0.35	2.37	7.81	9.35	11.34	12.84
4	0.21	0.30	0.48	0.71	3.36	9.49	11.14	13.26	14.86
5	0.41	0.55	0.83	1.15	4.35	11.07	12.38	15.09	16.75
6	0.60	0.87	1.24	1.64	5.35	12.59	14.45	16.81	18.55
7	0.99	1.24	1.69	2.17	6.35	14.07	16.01	18.46	20.28
8	1.34	1.65	2.18	2.73	7.34	15.51	17.53	20.09	21.96
9	1.73	2.09	2.70	3.33	8.34	16.92	19.02	21.67	23.59
10	2.16	2.56	3.25	3.94	9.34	18.31	20.48	23.21	25.19
11	2.60	3.05	3.82	4.57	10.34	19.68	21.92	24.72	26.76
12	3.07	3.57	4.40	5.23	11.34	21.03	23.34	26.27	28.30
13	3.57	4.11	5.01	5.89	12.34	22.36	24.74	27.69	29.82
14	4.07	4.66	5.63	6.57	13.34	23.68	26.12	29.14	31.32
15	4.60	5.23	6.27	7.26	14.34	25.00	27.49	30.50	32.80
16	5.14	5.81	6.91	7.96	15.34	26.30	28.85	32.00	34.27
17	5.70	6.41	7.56	8.67	16.34	27.59	30.19	33.41	35.77
18	6.26	7.01	8.23	9.39	17.34	28.87	31.53	34.81	37.16
19	6.84	7.63	8.91	10.12	18.34	30.14	32.85	36.19	38.53
20	7.43	8.26	9.59	10.85	19.34	31.41	34.17	37.57	40.00
25	10.52	11.52	13.12	14.61	24.34	37.65	40.65	44.31	46.93
30	13.79	14.95	16.79	18.49	29.34	43.77	46.93	50.69	53.62
40	20.71	22.16	24.43	26.51	39.34	55.76	59.34	63.69	66.77
50	27.99	29.71	32.36	34.76	49.33	67.50	71.42	76.15	79.49
60	35.53	37.48	40.48	43.19	59.33	79.08	83.30	88.38	91.95
70	43.28	45.44	48.76	51.74	69.33	90.53	95.02	100.42	104.22
80	51.17	53.54	57.15	60.39	79.33	101.83	106.63	112.33	116.32
90	59.20	61.75	65.65	69.13	89.33	113.14	118.74	124.12	128.30
100	67.33	70.05	74.22	77.93	99.33	124.34	129.56	135.81	140.17

v = grado de libertad

*Adaptado, con permiso, de *Biometrika Tables for Statisticians*, Vol. 1, 1a. ed., por E. S. Pearson y H. O. Hartley, Cambridge University Press, Cambridge, 1966.

TABLA F. 2. Numero mínimo de juicios correctos para establecer significancia a varios niveles de probabilidad para pruebas de preferencia por pares (dos colas, $p = 1/2$)^a.

Número de ensayos (n)	Niveles de probabilidad						
	0.05	0.04	0.03	0.02	0.01	0.005	0.001
7	7	7	7	7			
8	8	8	8	8	8		
9	8	8	9	9	9	9	
10	9	9	9	10	10	10	
11	10	10	10	10	11	11	11
12	10	10	11	11	11	12	12
13	11	11	11	12	12	12	13
14	12	12	12	12	13	13	14
15	12	12	13	13	13	14	14
16	13	13	13	14	14	14	15
17	13	14	14	14	15	15	16
18	14	14	15	15	15	16	17
19	15	15	15	15	16	16	17
20	15	16	16	16	17	17	18
21	16	16	16	17	17	18	19
22	17	17	17	17	18	18	19
23	17	17	18	18	19	19	20
24	18	18	18	19	19	20	21
25	18	19	19	19	20	20	21
26	19	19	19	20	20	21	22
27	20	20	20	20	21	22	23
28	20	20	21	21	22	22	23
29	21	21	21	22	22	23	24
30	21	22	22	22	23	24	25
31	22	22	22	23	24	24	25
32	23	23	23	23	24	25	26
33	23	23	24	24	25	25	27
34	24	24	24	25	25	26	27
35	24	25	25	25	26	27	28
36	25	25	25	26	27	27	29
37	25	26	26	26	27	28	29
38	26	26	27	27	28	29	30
39	27	27	27	28	28	29	31
40	27	27	28	28	29	30	31
41	28	28	28	29	30	30	32
42	28	29	29	29	30	31	32
43	29	29	30	30	31	32	33

Continúa

^a Los valores que no aparecen en la tabla pueden calcularse de:

$$k = t_{\alpha/2} \sqrt{n} + n + 1/2$$