

Artículo Corto

EVALUACIÓN DE CONSERVANTES PARA LIMITAR EL RECuento DE MOHOS EN AREPAS BAJO DOS CONDICIONES AMBIENTALES

EVALUATION OF PRESERVATIVE TO LIMIT THE MOLDS COUNT IN AREPAS USING TWO ENVIRONMENTAL CONDITIONS

AVALIAÇÃO DE CONSERVANTES PARA LIMITAR O CONTAGEM DE FUNGOS EM AREPAS USANDO DUAS CONDIÇÕES AMBIENTAIS

EDUARDO JAVID CORPAS I.¹, OMAR ALBERTO TAPASCO A.²

RESUMEN

La arepa es un producto de consumo masivo en Colombia, con un vencimiento limitado principalmente por la aparición de mohos, cuyo deterioro visualmente apreciable genera rechazo del consumidor, detrimento de la imagen empresarial y pérdidas económicas por devoluciones.

La presente investigación se centró en comparar el efecto de cuatro conservantes bajo dos condiciones ambientales diferentes, y cinco momentos temporales de análisis, con el objetivo de determinar, cuál de los conservantes ejercía mayor limitación sobre el recuento de mohos en la arepa. El análisis estadístico exploratorio indicó que el ácido sórbico y el propionato de sodio ejercen una limitación importante del recuento de mohos en los ambientes administrados, con promedios

Recibido para evaluación: 19/03/2012. **Aprobado para publicación:** 04/05/2012

1 Bacteriólogo. Esp. Microbiología Industrial. Docente Investigador del Instituto de investigación en Microbiología y Biotecnología Agroindustrial., Universidad Católica de Manizales. Manizales – Colombia.

2 Ingeniero Químico. MSc. Enseñanza de la Matemática. Línea de Estadística. Docente Investigador de la Facultad de Ciencias Exactas. Universidad de Caldas. Manizales – Colombia.

Correspondencia: eduardocorpas@hotmail.com

entre 7 y 37 UFC/g de producto. Dado el no cumplimiento de los supuestos subyacentes al método paramétrico del análisis de varianza, se recurrió al diseño no paramétrico de Wilson, cuya aplicación no arrojó diferencias significativas entre los conservantes utilizados ni entre las condiciones ambientales bajo estudio

ABSTRACT

The arepa is a product of massive consumption in Colombia, with an expiration date mainly limited by the appearance of molds, whose visually appreciable deterioration generates consumer rejection, detriment of the company's image and economic losses due to product returns.

This research focused on comparing the effect of four preservatives under two different environmental conditions and five time points of analysis, in order to determine, which of the preservatives exercised greater restraint upon the mold count in the arepa. Exploratory analyzes indicated that both, the sorbic acid and sodium propionate, exert a important limitation of the mold count in managed environments, with mean between 7 and 37 UFC/gr of product. Since non-compliance with the assumptions underlying the parametric method of analysis of variance, was used to design nonparametric of Wilson, whose implementation does not yield significant differences between the investigated preservatives or between the environmental conditions under study.

RESUMO

A arepa é um produto de o consumo em massa na Colômbia, com uma data de validade limitada principalmente pela aparição de fungos, cuja deterioração visualmente apreciável gera rejeição pelo consumidor, e detrimento da a imagem da companhia, e prejuízos econômicos pelas devoluções.

Esta investigação centrou-se em comparar o efeito de quatro conservantes sob duas diferentes condições ambientais e e cinco pontos temporais de análise, a fim de determinar, qual dos conservantes exercida uma maior retenção sobre a contagem de fungos na arepa. A análise exploratória indicou que o ácido sórbico e propionato de sódio exercem uma limitação importante da contagem de fungos nos ambientes fornecidos, com médias entre 7 e 37 UFC/gr de produto. Dado o não cumprimento dos pressupostos subjacentes ao método paramétrico da análise de variância, foi utilizado o desenho não paramétrico de Wilson, cuja aplicação não mostrou diferenças significativas entre os conservantes utilizados ou entre as condições ambientais em estudo.

PALABRAS CLAVES:

Arepa, Conservantes, Contaminación cruzada, Inocuidad, Método de Wilson, Vida útil.

KEYWORDS:

Arepa, Cross contamination, Preservatives, Safety, Shelf life, Wilson`s method.

PALAVRAS CHAVE:

Arepa, Conservantes, Contaminação cruzada, Método de Wilson, Segurança, Vida de prateleira.

INTRODUCCIÓN

La materia prima exclusiva para la fabricación de la arepa es el maíz, uno de los cereales más importantes del mundo [1], y uno de los alimentos básicos de nuestra alimentación [2]. Anualmente en el país se demandan cerca de 3.100.000 toneladas de maíz [3] y dentro de sus destinaciones está la producción de arepa, producto de elevado consumo en Colombia [4], el cual se obtiene mediante la elaboración de una masa homogénea posterior al proceso de cocción parcial del grano [5]. Durante el 2008 el tamaño del mercado de arepas precocidas alcanzó en Colombia 3,69 billones de pesos, y el consumo por hogar (de cuatro personas promedio) fue de 339.767 pesos anuales [6].

En Venezuela, la arepa es un plato usualmente preparado a partir de harina de maíz precocida mezclada con agua (pasta adhesiva) [7] [8], que contiene 45 g de almidón potencialmente disponible [9]. En este país se han realizado estudios tendientes a mejorar la calidad del producto a partir del uso de harinas compuestas de endospermo [4], sustitución parcial de la harina de maíz con harina de quinchoncho (*Cajanus cajan*) [10], adición de salvado de arroz [5] y el enriquecimiento con hierro y vitamina A [8] como estrategia para favorecer el sostenimiento nutricional, principalmente en poblaciones vulnerables.

En Colombia, las empresas de pequeña y mediana industria de arepas se enfrentan en su devenir cotidiano a la dificultad para garantizar que el producto pueda ser adquirido y consumido por el cliente durante el tiempo de vencimiento sin que sufra deterioro por crecimiento de mohos, que llegan al producto a partir de la contaminación cruzada durante el proceso productivo. Como condición concomitante, subyace el manejo intermitente de la cadena de frío, que a su vez se relaciona con la ausencia de control térmico en los refrigeradores, fallas técnicas en los equipos, sobresaturación de productos en exhibición, sanitización deficiente de los refrigeradores y circunstancias de manejo inapropiado, como ocurre cuando el producto, después de ser adquirido en el supermercado, permanece durante un número indeterminado de horas sin refrigeración. La aparición de mohos filamentosos en el producto, principalmente de los géneros *Alternaria*, *Rhizopus*, *Aspergillus*, *Cladosporium*, *Mucor*, *Trichothecium*, *Fusarium*, *Penicillium* [11] [12], antes del vencimiento

del producto, implica consecuencias como el rechazo por parte del consumidor, deterioro de la imagen del producto y la empresa, y pérdidas económicas por devoluciones.

Una de las estrategias que utilizan las empresas productoras de arepas para garantizar la durabilidad del producto durante un periodo razonable de tiempo es el uso de conservantes, amparado en la resolución Número 4125 de 1991 que establece la lista de conservantes permitidos en los alimentos y sus respectivas concentraciones [13]. Estos compuestos químicos limitan la actividad de los microorganismos [14] mediante la destrucción o impermeabilización de su membrana celular [15]. Algunas empresas productoras utilizan diferentes conservantes e incluso, mezclas de estos para retardar el desarrollo de mohos en la arepa.

Así mismo, los avances normativos tendientes a mantener condiciones de inocuidad en los productos alimentarios se fundamentan en estudios científicos, y para el caso de las arepas de maíz fabricadas industrialmente, se tiene como referencia la norma NTC 5372, que establece un índice máximo permisible de 100 UFC (Unidades Formadoras de Colonias)/gr para identificar un nivel de buena calidad microbiológica [16]. Este referente legal sin embargo, no tiene un sustento directo de estudios de investigación sobre el recuento de mohos en el producto recién elaborado, por lo que el presente artículo, pretende constituirse en un referente para el desarrollo de la normatividad sanitaria dentro de la producción de arepas, que constituya un apoyo científico para las especificaciones inherente al recuento de mohos en el producto por parte de los entes de control como el Ministerio de Protección Social, basada en evidencia directa del comportamiento del recuento de mohos en arepas durante su fecha de consumo.

Dado el nivel de consumo, la relevancia cultural, las restricciones de durabilidad del producto en la empresa objeto de estudio y la inexistencia de un soporte científico respectivo, se planteó la necesidad de estudiar el comportamiento en el recuento de mohos durante la fase de consumo del producto elaborado con los conservantes: propionato de sodio, ácido sórbico, sorbato de potasio y una mezcla de los conservantes mencionados, conducente a establecer la existencia de diferencias significativas en cuanto a la limitación de los mohos cuando el producto es sometido a dos condiciones ambientales diferentes (18°C/80 HR y 23,3°C/73,6).

MÉTODO

Lugar de estudio

El proyecto se ejecutó en una empresa de proceso artesanal ubicada en Manizales (Caldas), la cual produce de 6.000 a 7.000 paquetes de 10 unidades / día, con un equivalente entre 1500 y 1700 Kg de producto producido diariamente. El producto es distribuido principalmente en los departamentos del eje cafetero, Valle del Cauca y Nariño.

Tipo de estudio

Esta investigación se enfocó en un estudio experimental, por medio del cual se analizó el comportamiento del recuento de mohos al adicionar cuatro diferentes conservantes en el producto “arepa blanca asada”, bajo dos condiciones ambientales diferentes y cinco momentos temporales de análisis, con el objetivo de determinar cuál de los conservantes ejercía mayor limitación en la población en cuestión. Los datos fueron analizados mediante el software estadístico SPSS versión 18®.

Desarrollo del trabajo de campo

Estudio del efecto del conservante en el recuento de mohos bajo dos condiciones ambientales, 18°C/80% HR y 23,3°C/73,6% HR. Por cada producto, elaborado con los conservantes establecidos (figura 1), se tomaron unidades de muestra (bolsas con cinco arepas tradicionales con un peso promedio de 250gr) del mismo lote por muestreo al azar, y se

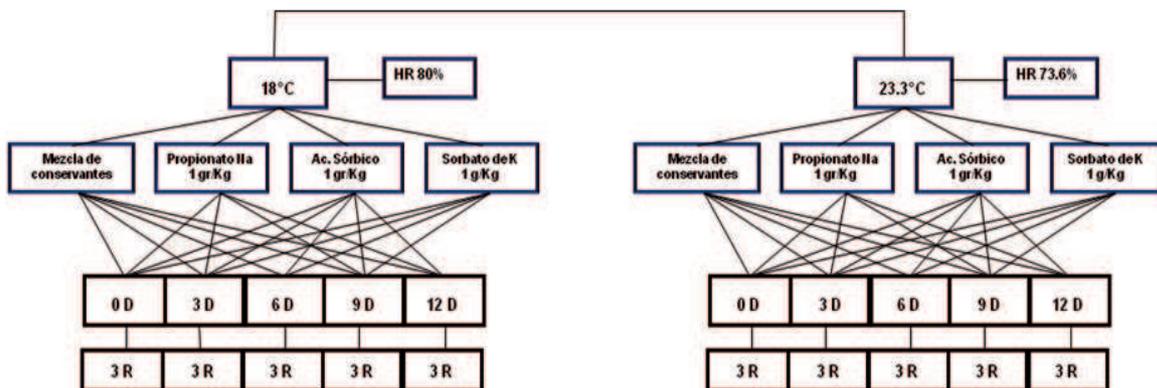
almacenaron a 18°C/80 HR y 23,3°C/73,6. Estos ambientes fueron escogidos por corresponder a las condiciones ambientales promedio de Manizales y Cali respectivamente, con el propósito de establecer, para cada ambiente, diferencias en el comportamiento del recuento de mohos al utilizar diversos conservantes durante un tiempo de doce días, periodo después del cual, el producto sufre deterioro progresivo y los recuentos pierden validez estadística gracias a la esporulación de colonias macroscópicamente visibles. Durante el periodo de almacenamiento indicado (utilizando una cámara climática), se efectuó análisis de recuento para la población de mohos en cada unidad de muestra por triplicado, durante los días 0, 3, 6, 9 y 12.

El análisis por triplicado del producto conteniendo cuatro conservantes durante cinco momentos temporales en cada ambiente derivó en un total de 120 análisis. Los datos de los recuentos de mohos obtenidos al día doce fueron sometidos a un estudio comparativo (diseño factorial en dos vías, completamente aleatorizado) para determinar la incidencia de los diferentes tipos de conservantes y los ambientes 18°C/80 HR y 23,3°C/73,6, en la contaminación de las arepas, previa evaluación de los supuestos estadísticos.

Condiciones analíticas

Toma de muestras. Para determinar el recuento de mohos en el producto se tomaron unidades de muestra al azar, las cuales fueron enviadas al laboratorio de análisis microbiológico en condiciones de refrigeración entre 4 y 6 °C para ser analizadas por medio de metodologías internacionalmente avaladas [17].

Figura 1. Esquema del proceso experimental para evaluar el comportamiento de los mohos en presencia de diversos conservantes en las condiciones ambientales de Manizales (izquierda) y las correspondientes a Cali (derecha).



Método de análisis. El método utilizado en el análisis microbiológico para el recuento de mohos se denomina **recuento en placa profunda**, y el medio de cultivo utilizado fue el agar **Rosa de Bengala**, de la casa comercial Merck de Alemania, recomendado para el aislamiento selectivo de hongos [18].

La figura 2 ilustra el crecimiento de diversos géneros de mohos en agar Rosa de Bengala, obtenidos durante la ejecución de la fase práctica del presente estudio.

RESULTADOS

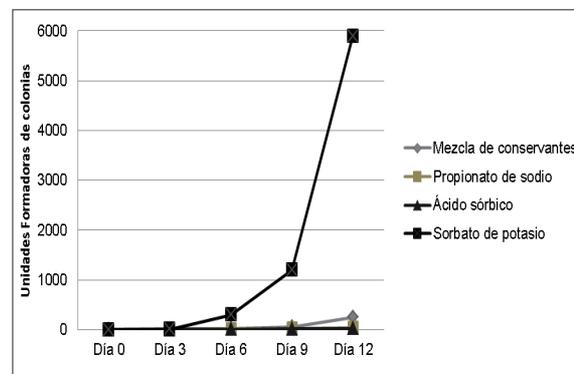
Estudio del efecto del conservante en el recuento de mohos bajo dos condiciones ambientales, 18°C/80% HR y 23,3°C/73,6% HR

Durante el almacenamiento del producto a 18°C / 80% HR, se apreció mayor inhibición del recuento de mohos por parte del ácido sórbico, con un máximo recuento promedio de 5 UFC de mohos/gr de producto (figura 3), en contraste con los demás tratamientos, que tuvieron en el mismo momento temporal un recuento promedio por encima de 15 UFC de mohos / gr de producto, e igualmente, al final de la etapa de monitoreo (día 12) el recuento promedio fue de 20 UFC de mohos / gr en el producto que contenía ácido sórbico, comparado con el producto conservado con propionato de sodio, cuyo recuento promedio en esta misma fecha fue de 36,7 UFC

Figura 2. UFC de mohos aisladas en agar Rosa de Bengala.



Figura 3. Comportamiento del recuento de mohos en el producto sometido a 18°C / 80% HR.



de mohos / gr de producto. El producto conservado con sorbato de potasio tuvo un recuento promedio de 250 UFC, mientras el sorbato de potasio fue el de menor oposición a las poblaciones de mohos con un recuento de 5900 UFC / gr de producto.

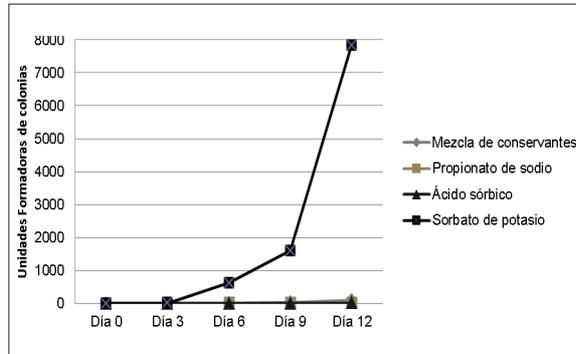
En general, y teniendo en cuenta los resultados del almacenamiento del producto a 18°C / 80% HR, se aprecia que los conservantes utilizados por si solos no ofrecen garantía suficiente para limitar el crecimiento de mohos, sino que es necesario el la refrigeración del producto como coadyuvante para la obtención de una restricción prolongada de la población microbiana utilizada como variable de respuesta.

Durante el sometimiento del producto con los diferentes conservantes administrados, a 23,3°C / 73,6% HR, se apreció una limitación notable en el recuento promedio de mohos, con 6,7 UFC/gr en el producto que contenía ácido sórbico, siendo este el de menor recuento entre los evaluados. Igualmente, y tal como sucedió con las demás condiciones de almacenamiento suministradas, el propionato fue el segundo mejor tratamiento, con un promedio de 16,7 UFC / gr y el sorbato de potasio fue el peor conservante, permitiendo la generación de un recuento de 7833 UFC / gr (figura 4).

Comportamiento del recuento promedio de mohos al día 12 en dos condiciones ambientales, 18°C/80% HR y 23,3°C/73,6% HR

El análisis descriptivo de los datos obtenidos (Cuadro 1) indica que los promedios muestrales más bajos

Figura 4. Comportamiento del recuento de mohos en el producto sometido a 23,3°C / 73,6% HR.



del recuento de mohos fueron obtenidos con el conservante ácido sórbico en ambos ambientes, seguido del propionato de sodio. Además, se aprecia una variabilidad alta, principalmente en los recuentos correspondientes al producto conservado con sorbato de potasio, lo que hace prever el posible incumplimiento de los supuestos de homocedasticidad y normalidad, y consecuentemente, la necesidad de transformar los datos.

El funcionamiento del ácido sórbico como limitante de la población de mohos en el producto, en comparación con los demás conservantes podría obedecer a su constante de disociación de $1,73 \cdot 10^{-5}$, lo que permite su utilización óptima a pH cercano a 6,5 [19], límite sobre el cual circunda el producto [16]. Igualmente, el ácido sórbico tiene un amplio espectro de acción frente a mohos, a partir de la inhibición de enzimas como la enolasa y la lactodeshidrogenasa [14], preconceptos que refuerzan los resultados obtenidos.

Cuadro 1. Estadísticos descriptivos por combinaciones de tratamientos para el recuento de mohos al día 12.

Conservante	Condiciones ambientales	Mean	Std. Deviation	N
Mezcla de conservantes	18°C / 80% HR	250.00	20.000	3
	23,3°C / 73,6% HR	96.67	15.275	3
	Total	173.33	85.479	6
Propionato de sodio	18°C / 80% HR	36.67	15.275	3
	23,3°C / 73,6% HR	16.67	5.774	3
	Total	26.67	15.055	6
Ácido sórbico	18°C / 80% HR	20.00	10.000	3
	23,3 °C/73,6% HR	6.67	2.887	3
	Total	13.33	9.832	6
Sorbato de potasio	18°C /80% HR	5900.00	400.000	3
	23,3 °C/73,6% HR	7833.33	305.505	3
	Total	6866.67	1105.743	6

Verificación de supuestos y análisis estadístico

Previo al análisis de varianza se realiza el análisis de verificación de los supuestos de normalidad (test de Shapiro-Wilks, $P=0.000$) y de homocedasticidad (prueba de Levene, $P=0.010$) y se observó el no cumplimiento de las mismas, por lo que se procede a realizar una transformación logarítmica de los datos, obteniéndose un ajuste a la normalidad (test de Shapiro-Wilks, $P=0.396$) pero no a la homocedasticidad (prueba de Levene, $P=0.013$). En consecuencia se recurre a realizar el análisis de varianza no paramétrico, mediante la aplicación del método de Wilson [20], cuyos resultados se presentan en la Cuadro 2.

Los resultados arrojados, muestran que las diferencias observadas a nivel muestral entre los distintos tipos de conservantes y las condiciones ambientales, así como su interacción no son estadísticamente significativas. Una posible explicación estadística a tales resultados podría ser que las pruebas no paramétricas presentan más baja potencia que sus análogas paramétricas, por lo que para poder detectar las posibles diferencias significativas serían necesarias la realización de un mayor número de réplicas en el diseño.

Dado que es frecuente que en este tipo de estudios se hallen datos atípicos que a su vez conllevan al no cumplimiento de los supuestos estadísticos y su consecuente análisis estadístico no paramétrico, se recomienda establecer un número mayor de réplicas que incrementen la sensibilidad de las pruebas para detectar diferencias significativas y así compensar la pérdida de potencia asociadas al uso de técnicas no paramétricas.

Cuadro 2. Resultados de la tabla anova no paramétrica usando el método de Wilson.

Fuente de Variación	G.L	Chi-2	Valor P
Conservante	3	4,4444	0,2173
Ambiente	1	0,4444	0,5050
Conserv*Amb.	3	0,0000	1,0000
Total	7	4,8888	

Además de lo anterior, al no encontrarse diferencias entre los tratamientos, la empresa productora tendría la potestad decisoria sobre el conservante a utilizar basándose en otros criterios como el valor económico de los conservantes y los menores promedios obtenidos, que correspondieron al uso de ácido sórbico y el propionato de sodio, con promedios entre 7 y 37 UFC/gr de producto respectivamente.

CONCLUSIONES

Los conservantes ácido sórbico y el propionato de sodio ejercen una limitación mayor del recuento de mohos en los ambientes administrados en términos de los recuentos promedio obtenidos, en comparación con el sorbato de potasio y la mezcla de conservantes, sin embargo, el incumplimiento del supuesto de homocedasticidad, incluso después de la transformación de los datos, no permitió evidenciar diferencias estadísticamente significativas entre los conservantes utilizados [21 - 22]. Teniendo en cuenta los resultados obtenidos, y bajo la concepción en la cual, se ha demostrado que el ácido sórbico carece de toxicidad, efecto mutágeno o tumorigeno [14], se recomienda que la empresa objeto de estudio fabrique el producto, adicionando ácido sórbico como único conservante, dada la convergencia entre su óptimo funcionamiento en el ambiente de refrigeración y su carácter inocuo.

AGRADECIMIENTOS

Al Centro Institucional de Investigación, Proyección y Desarrollo de la Universidad Católica de Manizales por la financiación brindada mediante el acuerdo N. 20 del 27 de enero de 2011 emanado del consejo académico y a la empresa Gransoli S.A en CIA por los aportes para el desarrollo de la investigación.

REFERENCIAS

- [1] FAO. El maíz en la nutrición humana. Colección de la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación. *Alimentación y nutrición*. 1993; N. 25. Roma. [online]. Available: <http://www.fao.org/docrep/T0395S/T0395S02.htm#Capitulo%201%20Introducción> [citado 18 de enero de 2010].
- [2] VÉLEZ, G. Cultivos y Alimentos Transgénicos Colombia: se inicia en la Revolución Genética. Programa Semillas Fundación Swissaid. *Revista Semillas*. 1999; N. 13. [online]. Bogotá: Grupo semillas. Available: <http://www.semillas.org.co/sitio.shtml?apc=p1f-20154758-20154758&volver=1> [citado 19 de enero de 2010].
- [3] El País. Foro: Las arepas de maíz, un reglón en crecimiento. Cali, 2009. [online]. Available: <http://foros.elpais.com/lofiversion/index.php/t21701.html> [citado 18 de enero de 2010].
- [4] HERNÁNDEZ, B., GUERRA, M. y RIVERO, F. Obtención y caracterización de harinas compuestas de endospermo — germen de maíz y su uso en la preparación de arepas. *Revista Ciencia y tecnología de alimentos*. 1999; 19 (2). [online]. Available: http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0101-20611999000200007&lng=en&nrm=iso&tlng=es [citado 19 de enero de 2010].
- [5] PACHECO, E. & PENA, J. Efecto del salvado de arroz sobre parámetros químicos, físicos y sensoriales de arepas precocidas y congeladas. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 2006; 23(2): 234-245. [online]. Available: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0378-78182006000200010&script=sci_arttext&tlng=es [citado 19 de enero de 2010].
- [6] LOZANO, R. Mercado de arepas precocidas alcanzó en Colombia \$3,9 billones, con un crecimiento de 3% en 2008. *Revista Portafolio*. Redacción Economía y Negocios. Bogotá, 2009. [online]. Available: http://www.portafolio.com.co/negocios/empresas/2009-03-18/ARTICULO-WEB-NOTA_INTERIOR_PORTA-4883106.html [citado 18 de enero de 2010].
- [7] PADUA, M. Rheological behavior of Venezuelan arepa dough from precooked corn flour. *Journal Cereal Chemical*. 1984; 61(1): 37-41.

- [online]. Available: http://www.aaccnet.org/cerealchemistry/backissues/1984/chem61_37.pdf [citado 18 de enero de 2010].
- [8] DEL REAL, S., PÁEZ, M., SOLANO, L., *et al.* Consumo de harina de maíz precocido y su aporte de hierro y vitamina a en preescolares de bajos recursos económicos. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*. 2002; 52(3): 274-281. [online]. Available: http://www.scielo.org.ve/scielo.php?pid=S0004-06222002000300008&script=sci_arttext&lng=pt [citado 18 de enero de 2010].
- [9] GRANFELDT, Y., DREWS, A., y BJRCK, I. Arepas Made from High Amylose Corn Flour Produce Favorably Low Glucose and Insulin Responses in Healthy Humans. *Journal Human and Clinical Nutrition*. 1995; 125(3): 459-465. [online]. Available: <http://jn.nutrition.org/cgi/reprint/125/3/459> [citado 18 de enero de 2010].
- [10] TORRES, A. & GUERRA, M. Sustitución parcial de harina de maíz precocida con harina de qinchoncho (*Cajanus cajan*) para la elaboración de arepas. *Revista INCI*. 2003; 28(11): 660-664. [online]. Available: <http://redalyc.uaemex.mx/pdf/339/33908607.pdf> [citado 18 de enero de 2010].
- [11] YOUSEF, A. & CARLSTROM, C. Microbiología de los alimentos. Manual de laboratorio. Editorial Acribia. Madrid, 2001.
- [12] ACUÑA, C., DÍAZ, G., & ESPITIA, M. Aflatoxinas en maíz: Reporte de caso en la costa atlántica colombiana. *Revista de Medicina Veterinaria y Zootecnia*. 2005; 52(2): 156-162.
- [13] Ministerio de Salud. Resolución número 4125 de 1991. Por la cual se reglamenta el título V alimentos, de la ley 02 de 1979, en lo concerniente a los conservantes utilizados en alimentos. Bogotá, 1991.
- [14] SHIBAMOTO, T. & BJELDANES, L. Introducción a la toxicología de los alimentos. Editorial Academic Press. San Diego, 1996.
- [15] LINDNER, E. Toxicología de los Alimentos. Editorial Acribia. Zaragoza, 1995.
- [16] Instituto Colombiano de Norma Técnicas ICONTEC. Norma Técnica Colombiana 5372. Primera actualización. Arepa de maíz refrigerada. Especificaciones de producto. Bogotá, 2007.
- [17] ISO 7954. Método horizontal para el recuento de levaduras y mohos. Madrid. 1988.
- [18] Merck. Manual de medios de cultivo: Indicaciones generales para el empleo de medios de cultivo deshidratados. Darmstadt, 2006. [online]. Available: <http://www.merck-chemicals.com.co/> [citado 20 de mayo, 2010].
- [19] CUBERO, N., MONFERRER, A. & VILLALTA, J. Aditivos alimentarios. Ediciones Mundi.
- [20] JIMÉNEZ, C. & PÉREZ, J. Diseños experimentales en ciencias de la conducta: un método de análisis de varianza de libre distribución. Anuario de Psicología. Núm. 42. Granada, 1989.
- [21] WALPOLE, R., MYERS, R. & MYERS, S. Probabilidad y estadística para ingenieros. 6 edición: Prentice-Hall Hispanoamericana. México, 1998.
- [22] MONTGOMERY, D. & RUNGER, G. Probabilidad y estadística. México: Mc Graw Hill. México, 1997.