

# Caracterización química y sensorial del vino artesanal de tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendth)

Chemical and sensorial characterization of artesanal tomato tree wine (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendth)

Roger ÁLVAREZ<sup>1</sup>, Juan MANZANO<sup>✉ 2</sup>, William MATERANO<sup>1</sup> y Anne VALERA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad de los Andes. Núcleo Universitario “Rafael Rangel”, Trujillo, estado Trujillo, Venezuela y

<sup>2</sup>Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (UCLA), Decanato de Agronomía, Posgrado de Horticultura, Barquisimeto, estado Lara, Venezuela. E-mails: rogeralvarez64@hotmail.com, fposcosecha@cantv.net, jmanzano@ucla.edu.ve y manzajuan46@hotmail.com ✉ Autor para correspondencia

Recibido: 30/05/2008                      Fin de primer arbitraje: 03/03/2009                      Primera revisión recibida: 22/09/2009  
Fin de segundo arbitraje: 15/12/2009                      Segunda revisión recibida: 20/12/2009                      Aceptado: 29/12/2009

## RESUMEN

El tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* Cav. Sendth) es un frutal andino altamente promisorio desde el punto de vista conservacionista para zonas de ladera y por sus usos para consumo fresco, procesado y medicinal. Con el objetivo de explorar un nuevo valor agregado a esta especie, frutos procedentes de una plantación comercial de cuatro años de edad, ubicada a 2000 m.s.n.m (San Lázaro- Trujillo), fueron cosechados a madurez fisiológica y la pulpa fue extraída cuando alcanzaron su madurez de consumo, posteriormente, para la obtención de cinco tipos de mostos, las muestras 4 y 5 fueron escaldadas y las 1, 2 y 3 no se escaldaron. Con la pulpa resultante después de la separación de las semillas, se preparó el mosto y fue corregido con adición de azúcar hasta un valor cercano a 21 °Brix, para su posterior fermentación, obteniendo una bebida alcohólica artesanal tipo vino. Se utilizaron 2,4 kg de pulpa y 2,5 kg. de azúcar en cada tipo de vino, repetidas cuatro veces. Variando la cantidad de agua 12, 15, 18, 15,5 y 15 litros respectivamente para la obtención de cinco tipos de vinos o tratamientos, cuatro rojos (muestras 1, 2, 3 y 4) y uno blanco (muestra 5). Al producto obtenido se le determinó las variables: pH, acidez total, acidez volátil y el contenido de sólidos solubles totales, siguiendo las normas de la Comisión Venezolana de Normas Industriales (COVENIN 924-83, 3286-97). Los resultados obtenidos variaron en un rango entre 5,01-5,89 de pH, 4,47-6,22 g/l de acidez total, 0,39-1,71 g/l de acidez volátil y 4,3 – 12,6 ° Brix de sólidos totales. El análisis de varianza no indicó diferencias significativas para las variables químicas entre los diferentes tipos de vino. Las características sensoriales evaluadas (aparición, color, olor y sabor) por el método de puntuaciones ponderadas indicó el mayor puntaje (24,6%) para el vino 1 y el menor (12,3 %) para el vino 5. Los resultados sugieren al vino obtenido de la muestra 1 como la mejor a nivel sensorial.

**Palabras clave:** Vino de frutas, frutas tropicales, frutos de tomate de árbol.

## ABSTRACT

Tree tomato (*Cyphomandra betaceae* Cav. Sendth, Andes fruitful highly promise from the point of view for its use in the soil conservation at zones with high slopes and for its widely use as human food as fresh fruits, in processing and in medicinal use. The objective of this study was to look for adding value of these fruits from a commercial plantation of four years old, established at 2000 m.a.s.l (San Lázaro-Trujillo), where fruits were harvested at mature green stage and tomato tree pulp were extracted when fruits reached the mature ripe stage, later on and prepared for the obtaining five types of worts, samples 4 and 5 were blanching and samples 1, 2 and 3 were unblanching. The pulp obtained after seeds separation, the wort was prepared and corrected with addition of sugar cane until values close to 21%, for its fermentation, obtaining an artesanal alcoholic beverage drink similar to grape wine. Using tomato tree pulp 2.4 Kg and with addition of 2.5 Kg sugar for each type of wine, in four replications. Different water amounts (12, 15, 18, 15.5 and 15 l) were added respectively for getting five types (treatments) of wines, four red wines (samples 1, 2, 3 and 4) and one white wine(sample 5). Determination on the fermented product obtained was made on the following variables: pH, Total acidity, Volatil acidity and Total Soluble Solid Content, through (Venezuelan Commission for Industrial Rules) COVENIN RULES 924-83, 3286-97. Results obtained ranged from 5.01-5.89 for pH, 4.47-6.22 g/l for Total acidity, 0.39-1.71 g/l for Volatile acidity and 4.3-12.6 °Brix for the content of TSS. The statistical analysis did not indicate significant differences for chemical variables between obtained wines. The sensorial characteristics evaluated (appearance, color, odor, and body) following the mode of central tendency method, showed the highest values (24.6%) for the wine 1 and the lowest value (12.3%) for the wine 5. Results suggested to wine obtained from for sample 1 as the best at the sensorial level.

**Key words:** Wine from fruits, tropical fruits, tree tomato fruits

## INTRODUCCIÓN

El tomate de árbol *Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendth, es un frutal altamente promisorio desde el punto de vista conservacionista para zonas de laderas presentes en las Cordilleras Andinas, Centrales y Orientales de Venezuela (Alvarez y Manzano, 2006). Por otra parte, las potencialidades de esta especie se derivan de su aceptación en los mercados, de precios rentables y relativamente estables, de las posibilidades de su utilización no sólo como fruta fresca, sino también en la forma de alimentos procesados (productos congelados en forma de pulpa, helados, frutos en almíbar así como mermeladas, bocadillos, néctares, como colorante vegetal y bebidas fermentadas) lo cual soluciona problemas de perecibilidad de la fruta fresca (Bernal *et al.*, 2003). En cuanto a propiedades medicinales, es considerado un fruto terapia como una de las frutas relacionadas a mejorar las afecciones de garganta y gripe, contribuye a resolver problemas hepáticos y es una fuente importante de vitaminas, minerales y aminoácidos (Reyes, 1993).

En Venezuela el tomate de árbol es un fruto que en los actuales momentos no se encuentra industrializado, su uso es generalmente doméstico y el estado de conocimiento de las posibilidades agroindustriales es bajo, precisando desarrollar esta área para disminuir pérdidas poscosecha derivadas por el corto tiempo de almacenamiento y dar valores agregados al mismo. Según Bernal *et al.* (2003), el registro de información relacionada con variables de rendimiento y con el potencial agroindustrial, en las colecciones de tomate de árbol, brinda el conocimiento necesario para ampliar las posibilidades de explotación, dando valor agregado y otras alternativas de utilización. En base a lo anterior y con el objetivo de explorar un nuevo valor adicional, artesanal o agroindustrial al tomate de árbol se realizó el presente trabajo con la finalidad de obtener una bebida similar al vino de uvas. Permitiendo fermentar el producto con levaduras del género *Saccharomyces*, a una temperatura de 25 °C durante 8 días, originando un tenor alcohólico suficiente que llegase a tener aceptación de bebida alcohólica a nivel del vino artesanal.

## MATERIALES Y METODOS

Frutos de variedades tomate de árbol con semillas de arilo rojo (muestras 1, 2, 3, 4) y criollo con semillas de arilo amarillo (muestra 5),

procedentes de una plantación comercial de 4 años de edad, ubicada en el Municipio Trujillo (San Lázaro), cuyas coordenadas son 09° 14' 15" N y 70° 27' 48" O del Estado Trujillo, Venezuela a 2000 m.s.n.m, con temperatura promedio de 15,5 °C y una precipitación media anual de 744 mm respectivamente; establecida en sectores de ladera; fueron cosechados a la madurez fisiológica (13 °Brix) y la extracción de pulpa se realizó en el momento de madurez de consumo.

Los pasos para la elaboración de los cinco vinos de tomate de árbol fue adaptada a la metodología descrita por López *et al.*, (2004), con algunas modificaciones como la de no usar escaldado en algunas muestras y fueron los siguientes (Figura 1): los frutos se seleccionaron por criterios de homogeneidad, libres de daños mecánicos y fitosanitarios, lavados y desinfectados manualmente con solución al 0,1% de hipoclorito de sodio en baldes plásticos. A 15 kg de frutos se les extrajo la pulpa sin semillas para cada tipo de vino, dividiendo posteriormente dicho producto en cuatro réplicas de 2,4 kg de pulpa/vino. Se pesaron en una balanza Ohaus Scout Pro Series Electronic Toploading de 6 kg de capacidad. Para la obtención del mosto. Procedimiento I (P-I): tratamiento de escaldado fue aplicado, los frutos de muestras 4 y 5 fueron sumergidos durante 5 a 10 minutos en agua a ebullición, para ablandar la cáscara y facilitar su eliminación, el resto del fruto (pulpa+semillas) fue cortado manualmente en pedazos más pequeños. Procedimiento II (P-II): no se aplicó tratamiento de escaldado, los frutos fueron cortados manualmente con cuchillo, perpendicular y ligeramente por debajo del punto de inserción del pedúnculo al fruto para

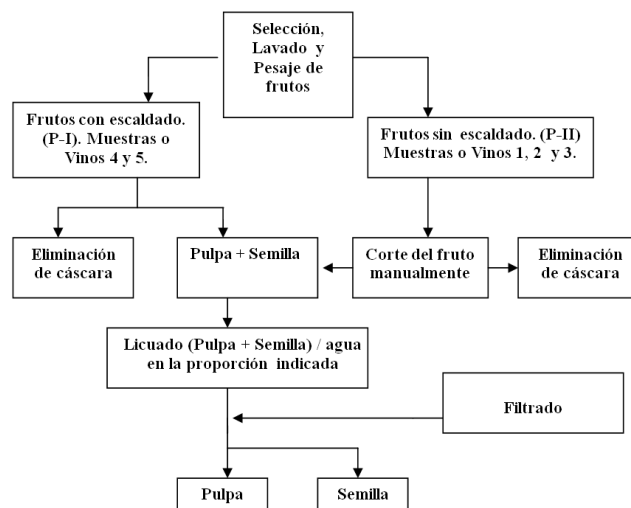


Figura 1. Tratamiento primario de los frutos de Tomate de Árbol para la obtención de pulpa.

facilitar la extracción de la (pulpa+semillas), en las muestras 1, 2 y 3; con la ayuda de una cuchara sopera se extrajo separándola de la cáscara. La pulpa+semillas provenientes de P-I y P-II, fueron homogenizadas con la ayuda de licuadora “Osterizer Classic” bajo condiciones asépticas (higienización del área de trabajo, operarios, materiales y equipos) con adición de agua en las proporciones: muestra 1 (12 l), muestra 2 (15 l), muestra 3 (18 l), muestra 4 (15,5 l) y la muestra 5 (15 l).

Posteriormente se filtraron con lienzo de poro mediano para separar la pulpa de las semillas obteniendo así la cantidad de pulpa requerida. La pulpa así obtenida fue usada para la preparación del mosto a fermentar (Figura 2). Fue necesario aumentar el contenido de sólidos solubles totales (SST), motivado al bajo contenido de azúcares en los frutos como consecuencia de la dilución realizada, aunada al principio que estas frutas ácidas son de bajo dulzor, el mosto fue enriquecido con sacarosa refinada proveniente de la caña de azúcar, en cantidades determinadas sobre la base del peso del mosto, corrigiendo hasta alcanzar valores cercanos al de 21 °Brix, lo cual se estandarizó con 2,5 kg de azúcar, obteniendo así el mosto listo para ser fermentado al adicionarle el pie de cuba en una relación 10-12% del volumen total a fermentar, el cual fue elaborado con levaduras del género *Saccharomyces cerevisiae* L. “levaduras activa seca” para panificación de la marca comercial “Levapan” y activadas a 30°C por 15 minutos en agua de azúcar (12 °Brix).

Las muestras se prepararon por cuadruplicado en las siguientes proporciones 2,4 kg de pulpa y 2,5 kg de azúcar en las muestras, para la obtención de cinco tipos de vino cuatro rojos (muestras 1 , 2 , 3 y

4) y uno blanco (muestra 5), variando la cantidad de agua adicionada 12, 15, 18 , 15,5 y 15 litros respectivamente (cuadro 1); la fermentación se efectuó a una temperatura de 20 a 25 °C en envases de vidrio con una capacidad de 19 litros, con tapa que permitió el escape del CO<sub>2</sub> producido por la fermentación.

El proceso de embotellado (Figura 3), una vez transcurridos 8 a 10 días de iniciado el proceso fermentativo, se dejó reposar por 5 días el líquido fermentado (sin disturbar), permitiendo sedimentar los sólidos suspendidos, para facilitar el primer trasiego del mosto fermentado, el cual se realizó con una manguera esterilizada a los 15 días de terminado el proceso fermentativo y posteriormente a los 45 días después del primer trasiego, se realizó un segundo trasiego, manteniendo el líquido previamente almacenado a temperatura de 8 °C, estando el vino artesanal listo para ser embotellado. Luego se procedió con el proceso manual de llenado de las botellas de vidrio y el taponeado, manteniendo las botellas en refrigeración entre 4 y 5 °C. Es de hacer notar que al producto obtenido no se le adicionó en

Cuadro 1. Composición de las muestras del vino artesanal de tomate de árbol obtenido.

Tipo de Vino	Escaldado	Agua (l)
Muestra 1 Rojo	No	12,0
Muestra 2 Rojo	No	15,0
Muestra 3 Rojo	No	18,0
Muestra 4 Rojo	Si	15,5
Muestra 5 Amarillo	Si	15,0

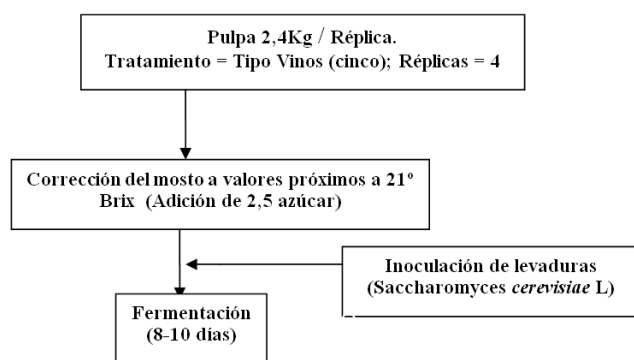


Figura 2. Preparación de mosto y fermentación.

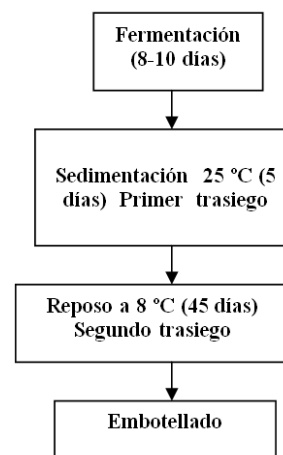


Figura 3. Proceso de embotellado.

alguna parte del proceso metabisulfito de potasio ( $K_2S_2O_5$ ), ni dióxido de azufre ( $SO_2$ ), sustancias usadas normalmente para evitar oxidaciones y crecimiento de microorganismos en estos productos. A los vinos obtenidos se les realizó análisis de las siguientes variables químicas: el pH, la Acidez total (COVENIN 3286-97), por titulación con NaOH 0,1 N hasta alcanzar un pH de 8,1 expresada en (g/l) de  $H_2SO_4$  y Acidez volátil expresada en términos de ácido acético en g/l (Bordeu y Scarpa, 1998). Igualmente se efectuaron determinaciones de sólidos solubles totales por refractometría, expresando los resultados en °Brix, realizando las correcciones de temperatura correspondientes. (COVENIN, 924-83).

El análisis estadístico de las variables químicas se realizó bajo un diseño completamente aleatorizado con un nivel de confiabilidad del 95% (ANAVAR de una sola vía), considerando como tratamiento los cinco vinos obtenidos en cuatro replicas, para un total de veinte observaciones. Las características sensoriales fueron evaluadas por el método de puntuaciones ponderadas. Para el análisis organoléptico de las muestras se realizó una evaluación sensorial de preferencia con un panel no entrenado de 15 personas a las propiedades de: apariencia, color, olor, sabor; siendo la moda el criterio de análisis estadístico. La evaluación se realizó mediante la escala hedónica: Muy bueno=5,

Bueno=4, Algo Bueno=3, Algo malo=2 y Malo=1 (Lyon, 2000; Ibáñez y Barcina, 2000; Amerine *et al.*, 1965). Los datos fueron procesados con el paquete estadístico SAS 2001.

## RESULTADOS

El análisis de la varianza indicó que no hubo diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ) entre las variables químicas evaluadas a nivel de los diferentes tipos de vino obtenidos. Los rangos variaron de 5,01-5,89 para el pH, 4,47-6,22 g/l para la Acidez total, de 0,39-1,71 g/l para la Acidez volátil y 4,3-1,6 para los SST (Cuadro 2). Las características organolépticas evaluadas (apariencia, color, olor y sabor) por el método de puntuaciones ponderadas (Cuadro 3) reportó el mayor puntaje (4) en el vino proveniente de la muestra 1 y el menor (2) en el vino de la muestra 5.

Los resultados sugieren a la muestra 1 como la mejor a nivel sensorial y a la muestra 5 en las características químicas. Los vinos elaborados en este estudio resultaron rojos semisecos en la muestra 1 y secos las restantes muestras de los vinos, incluyendo al vino artesanal blanco según el criterio establecido en las NORMAS COVENIN 3342-97.

Cuadro 2. Caracterización química del vino artesanal de tomate de árbol obtenido.

Tipo de Vino	Acidez Total g/l $H_2SO_4$	Acidez Volátil g/l Ac Acético	pH Final	SST °Brix Final
Muestra 1 Rojo	4,47 a	1,20 a	5,16 a	5,2 a
Muestra 2 Rojo	5,06 a	1,71 a	5,06 a	4,9 a
Muestra 3 Rojo	4,91 a	0,66 a	5,09 a	4,3 a
Muestra 4 Rojo	6,22 a	0,39 a	5,89 a	4,3 a
Muestra 5 Amarillo	4,64 a	0,98 a	5,01 a	4,4 a

Letras iguales indican que no existieron diferencias significativas ( $p \leq 0,05$ ).

Cuadro 3. Caracterización organoléptica del vino artesanal de tomate de árbol en el análisis sensorial de las muestras. Valor entre paréntesis representa el porcentaje

Tipo de Vino	Apariencia	Color	Olor	Sabor	Total (Media)
Muestra 1 Rojo	4 (26,7)	4 (21,1)	4 (25,0)	4 (26,7)	4,00 (24,6)
Muestra 2 Rojo	4 (26,7)	5 (26,3)	3 (18,8)	3 (20,0)	3,50 (23,1)
Muestra 3 Rojo	3 (20,0)	3 (15,8)	3 (18,8)	2 (13,3)	2,75 (16,9)
Muestra 4 Rojo	2 (13,3)	5 (26,3)	4 (25,0)	4 (26,7)	3,50 (23,1)
Muestra 5 Amarillo	2 (13,3)	2 (10,5)	2 (12,5)	2 (13,3)	2,00 (12,3)

Evaluación: Muy Bueno 5; Bueno 4; Algo Bueno 3; Algo Malo 2; Malo 1

## DISCUSIÓN

El tratamiento de escaldado solamente facilitó el pelado del fruto concordando con los reportados por López *et al.*, (2004). La acidez total reportados en este trabajo para los vinos artesanales de tomate de árbol son muy similares a los obtenidos por Vargas *et al.*, (1994), en vinos provenientes de trece variedades de vid, creciendo en zonas tropicales, la cual fue expresada como acidez sulfúrica, mientras las normas COVENIN 3286 -97, la acidez total es expresada como acidez tártrica y debe tener un valor de 4 g/l como mínimo, concordando con Mora (1999) en valores del orden de 5,0 g/l, expresado como ácido tártrico o de 3,25 g/l expresado como ácido sulfúrico, lo cual difiere de los valores reportados en este estudio. El alto contenido de los valores puede ser debido al crecimiento de flora microbiana secundaria que aumentaría la cantidad de ácidos orgánicos durante el proceso de fermentación. La acidez volátil fue expresada como ácido acético y su máximo valor de 1,0 g/l (COVENIN 3342 -97). Los vinos procedentes de las muestras de mostos 3, 4 y 5, alcanzaron valores por debajo de lo máximo permitido, mientras que para los vinos de las muestras 1 y 2, fue lo contrario. Esto es aparentemente contradictorio debido a que estos últimos fueron unos de los mejores evaluados en las pruebas de catación. Los valores reportados de pH fueron muy altos y sus valores deben estar entre 3,2 a 3,9 (Pérez, 2003), mientras que el contenido final de los SST fue relativamente bajo en comparación a la Norma COVENIN (3342-97) donde reporta unos valores de hasta 5 g/l para vinos secos y entre valores mayores de 5 hasta 55 g/l para vinos semisecos. López *et al.*, (2004) reportaron resultados finales del producto fermentado con valores mas bajos en el pH y en la acidez total, mientras que el contenido de SST valores mayores. Esta variabilidad del parámetro acidez total puede ser debido a que sus valores están expresados como ácido cítrico y en este trabajo se realizó en base al ácido sulfúrico.

Los atributos de las evaluaciones sensoriales (apariencia, color, olor y sabor) fueron determinantes en conocer la aceptación del producto obtenido por un panel no entrenado. Para la discusión del análisis de calidad sensorial realizado en el laboratorio de catación, se puede decir que el vino proveniente de la muestra 1 (Cuadro 3) alcanzando el mayor valor registrado de 4,0 (o 24,6% de aceptación), lo cual significa que fue muy apetecible por el panel con buen bouquet, con material colorante estable, de un

sabor afrutado característico con aptitudes para el añejamiento por su buen cuerpo y aceptabilidad, con un sabor a vino seco y con un contenido de azúcar muy bajo (Cuadro 2).

En este caso los indicadores más importantes en las evaluaciones sensoriales fueron color, cuerpo y bouquet. Todo ello confirma la importancia de la aplicación de este tipo de análisis antes de que cualquier nuevo producto sea ofertado al mercado.

## CONCLUSIONES

Debido al desequilibrio entre los contenidos de azúcares y ácidos en los frutos de tomate de árbol con la tendencia de ser bajos en los primeros y de altos valores en el segundo, los resultados obtenidos indican la posibilidad de usar la adición de azúcar refinada en la elaboración de vinos artesanales. El vino elaborado proveniente de la técnica de escaldado o no en los frutos de tomate de árbol fue de probada aceptabilidad por los catadores, los cuales no teniendo entrenamiento en la catación de vinos resultaron con acertadas decisiones en los parámetros estudiados. Con la tecnología rudimentaria artesanal usada en este ensayo es técnicamente factible la elaboración de una bebida alcohólica del tipo vino a partir del fruto del tomate de árbol.

Este vino con características químicas y sensoriales parecidas a los vinos provenientes de frutos de uva, puede obtenerse de mostos fermentado de tomate de árbol. Dependiendo del contenido de SST y de la acidez podremos tener vinos artesanales provenientes del tomate de árbol de semillas de arilo rojos para vinos tintos y los provenientes de semillas con arilo amarillo para vinos blancos secos y semisecos. Con otras técnicas metodológicas como son el uso de inhibidores del crecimiento de microorganismo indeseables tal como el agregar metabisulfito de potasio en el mosto antes de la fermentación; y/o el uso de acondicionadores nutritivos tales como el fósforo ácido diamónico, que ayuda tanto al crecimiento de las levaduras como en el acelerar el proceso fermentativo y la utilización de levaduras secas seleccionadas de probado poder fermentativo (productoras de alcohol), como la *Saccharomyces cerevisiae* L. var. *ellipsoideus*, se puede mejorar la calidad del vino artesanal del tomate de árbol.

## AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen el financiamiento del proyecto “Tomate de árbol (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendth., fruto promisorio para la diversificación del agro Andino FT/RF-01-04/RG” a las instituciones IICA, FONTAGRO, PROCIANDINO, Universidad Centroccidental Lisandro Alvarado (Barquisimeto), Universidad de Los Andes (Trujillo).

## LITERATURA CITADA

- Álvarez. R. y J. E. Manzano. 2006, Poda de Recuperación en Plantas de Tomate de Arbol (*Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendth). Proceedings of the International Society for Tropical Horticulture . 50: 79-82.
- Amerine M. A.; R. M, Pangborn and E. B. Roessler, 1965. Principles of Sensory Evaluation of Food . New York . Academic Press. p. 445-449.
- Bernal, J. A.; A. D. Cipriano, A. Amaya y F. Vanegas. 2003. Tecnología para el cultivo del Tomate de Arbol. Manual Técnico 3. Ecorregion Andina . Centro de Investigaciones “La Selva” Río Negro , Antioquia , Colombia .144 pp.
- Bordeu, E. y J. Scarpa. 1998. Análisis Químico del Vino. Ediciones Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. 253 p.
- Ibáñez, F. C. e Y. Barcina. 2000. Análisis sensorial de alimentos: Métodos y Aplicaciones. Editorial Springer. España. 180 p.
- López, I.; N. C. Paredes y M. Paredes. 2004. Obtención de una bebida tipo vino de Tomate de Arbol (*Cyphomandra betaceae* ) y ensilado del residuo . Alimentos, Ciencia e Ingeniería 13 (2): 52-62.
- Lyon, D. H. 2000. Guidelines for Sensory Analysis in Food Product Development and Quality Control. Frederick ( EUA). Aspen Publisher Inc.
- Norma Venezolana, 1977, COVENIN 3342, Vino y sus Derivados. Requisitos. Publicación de Fondonorma. I. C. S: 67.160.10, ISBN 980-06-1956-9. Caracas, Venezuela. 10 p.
- Norma Venezolana, 1983, COVENIN 924, Frutos y productos derivados. Determinación de sólidos soluble por refractometría. 1ra Revisión. Ed. Rosales H. Publicaciones. Fondonorma. Caracas, Venezuela. 20 p.
- Norma Venezolana, 1997, COVENIN 3286, Vino y sus Derivados. Determinación de Acidez Total y Acidez Volátil. Publicación de Fondonorma . I .C . S: 67.160.10, ISBN 980-06-1845-7. Caracas 6 p.
- Reyes Chilpa, R. y O. L. Sanabria Diago. 1993, Tomate de Árbol, *Cyphomandra betaceae* (Cav.) Sendtn. Etnobotanica N° 2 Septiembre. GELA-Perfiles. <http://www.ibiologia.unam.mx /jardin/gela/page13.html>.
- Statistical Analysis System. (SAS). 2001. SAS Institute Inc. 8<sup>th</sup> Edition. Cary , NC. SAS Institute , Inc. Cary NC.