

## Desarrollo y optimización de una metodología analítica para la determinación de sedimento en bebida de mesa derivada del cacao

Juliana A. Torres B.<sup>1</sup>, Myriam E. Tello C.<sup>2</sup>, Sandra Ostos A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Correo electrónico: [bustamante.juliana@gmail.com](mailto:bustamante.juliana@gmail.com)

<sup>2</sup> Departamento de Farmacia, Universidad Nacional de Colombia, Correo electrónico: [metelloc@unal.edu.co](mailto:metelloc@unal.edu.co)

<sup>3</sup> Casa Luker S.A., Correo electrónico: [sostos@casaluker.com.co](mailto:sostos@casaluker.com.co)

Recibido para evaluación: agosto 11 de 2008

Aceptado para publicación: noviembre 10 de 2008

### RESUMEN

Se realizó un estudio encaminado a desarrollar y optimizar una metodología analítica que permita determinar la cantidad de sedimento que presenta una bebida derivada del cacao (chocolate de mesa), para ser aplicada como prueba rutinaria de control de calidad indicadora del proceso, con base en los principios de la sedimentación. Para la caracterización del sedimento, se hizo la distribución de tamaños de partícula, porcentaje de grasa y peso del sedimento en seco. El desarrollo de la metodología y su optimización se llevó a cabo con una muestra patrón (licor de cacao), y posteriormente con el producto en proceso (licor de cacao con lecitina) y con el producto terminado (chocolate con azúcar), provenientes de dos procesos diferentes. Los resultados muestran que la metodología permite diferenciar las muestras durante el proceso, con el producto terminado y con productos obtenidos mediante diferentes procesos.

**Palabras clave:** control de calidad, metodología analítica, chocolate, sedimento.

### SUMMARY

#### Development and optimization of an analytical methodology for sediment determination in a drink derived from the cacao

A directed study was realized to develop and optimize an analytical methodology that allowed to determine the amount of sediment presents in a drink derived from the cacao (dinking chocolate), to be applied as routine test of indicating quality control of the process, support in the sedimentation principles. For the characterization of sediment, were realized the distribution particle size, fat percentage and

dry weight of sediment. The development of the methodology and its optimization were realized with a sample patron (cacao liquor), then the methodology was defied with product in process (cacao liquor with lecithin) and finished product (chocolate with sugar), of the same process and a different process. The results show that the methodology allows differentiation the samples during the process, finished product and products obtained by different processes.

**Key words:** quality assurance, analytical methodology, chocolate, sediment.

## INTRODUCCIÓN

El chocolate se obtiene a partir de la plantación y cosecha de las semillas de *Theobroma cacao*, perteneciente a la familia *Sterculiaceae*. Una vez obtenido el fruto, se procede a la fermentación, la cual se realiza en dos etapas: etapa de hidrólisis (o fase alcohólica) y etapa de oxidación. Posteriormente se secan las almendras –llamadas nibs– y por último se almacenan bajo condiciones controladas. Obtenidas las almendras, se inicia el proceso industrial, mediante la limpieza y separación de los granos por medio de mallas, utilizando corrientes de aire. Luego se tuestan, proceso mediante el cual se desarrollan sus cualidades organolépticas, y a continuación se descascarillan para finalmente conducirlos a una molienda donde se obtiene el licor de cacao, al cual se le adiciona la cantidad de lecitina requerida para emulsificar. En un proceso a temperatura controlada, se adicionan los ingredientes según la fórmula del producto.

Para terminar, la mezcla se dosifica en moldes que son sometidos a bajas temperaturas (6 °C) con posterior desmolde y empaque (1).

### Sedimentación

Se entiende por sedimentación la remoción por efecto gravitacional de las partículas en suspensión presentes en un fluido, las cuales deberán tener un peso específico mayor que dicho fluido.

Está relacionada exclusivamente con las propiedades de caída de las partículas en el agua. Cuando se produce sedimentación de una suspensión de partículas, el resultado final será siempre un fluido clarificado y una suspensión más concentrada. Las partículas en suspensión sedimentan en diferente forma, dependiendo de las características de las partículas, así como de su concentración. Es así que podemos referirnos a la sedimentación de partículas discretas, sedimentación de partículas floculentas y sedimentación de partículas por caída libre e interferida.

En la sedimentación libre (es decir, sin interferencia entre las partículas), las partículas son sostenidas por fuerzas hidráulicas y su caída se puede describir mediante la ley de Stokes.

Los sólidos sedimentables se definen como aquellos que sedimentan en el fondo de un recipiente de forma cónica (Cono de Imhoff) y son expresados en unidades de mL/L (2).

### Sedimentación de partículas discretas

Las partículas discretas son aquellas que no cambian de características (forma, tamaño, densidad) durante la caída. El proceso de depósito de estas partículas por caída libre se denomina sedimentación o sedimentación simple. Cuando la concentración de sólidos en suspensión es baja, es decir, una fracción volumétrica menor que 0.15 ( $\beta < 0.15$ ), la fracción volumétrica es: volumen de sólidos / volumen de la suspensión (3).

**Tabla 1.** Métodos tradicionales para determinación de distribución de tamaño de partícula.

<b>Método</b>	<b>Clase</b>	<b>Rango de tamaño de partícula (micrones)</b>
Tamizado	Seco	>10
	Húmedo	2 a 500
Determinación microscópica	Óptica	1.0 a 500
	Electrónica	0.01 a 500
Zona Sensing	Resistividad	0.8 a 500
	Óptica	1 a 500
Elutriación	Flujo laminar	3 a 75
	Ciclón	8 a 50
Sedimentación por gravedad	Pipeta e hidrómetro	1 a 100
	Foto extinción	0.5 a 100
	Rayos X	0.1 a 130
Sedimentación por centrifugación	Acumulación de masa	0.05 a 25
	Foto-extinción	0.05 a 100
	Rayos X	0.1 a 5
	Clasificación por centrifugación	0.5 a 500
Cromatografía hidrodinámica	Columna empacada	0.03 a 2
	Tubo capilar	0.1 a 5
Permeabilidad de gas		0.1 a 40
Adsorción de gas		0.005 a 50
Movimiento browniano		0.003 a 5
Intrusión de mercurio		0.01 a 200
Cascada de presión		0.05 a 30

### Métodos tradicionales para determinación de distribución de tamaño de partícula

Los procesos que se emplean para medir o clasificar las partículas consisten básicamente en dos técnicas: directas e indirectas. Las primeras miden las dimensiones

reales de las partículas por medio de una escala de calibración, como la microscopia y el tamizado. Las mediciones indirectas, a su vez, aprovechan alguna característica de la partícula que pueda relacionarse con su tamaño, por ejemplo la velocidad de sedimentación, la permeabilidad y las propiedades ópticas. Varios métodos tradicionales de determinación de tamaño de partícula se mencionan en la Tabla 1. Dentro de ellos, los más usados son los métodos de tamizado, microscopia y sedimentación (4).

## METODOLOGÍA

Durante el desarrollo de la metodología, las variables se definieron de acuerdo con los siguientes parámetros: facilidad de observación, estabilidad de la suspensión-emulsión, repetibilidad de los resultados y mantener en lo posible las condiciones en las cuales el consumidor observa el sedimento (7). Teniendo en cuenta que la principal intención del presente trabajo es establecer una metodología analítica que permita determinar el parámetro que observa hoy el consumidor, se debe tener un instrumento que mida en condiciones similares –mensurables– el defecto percibido. Por esto se establece que el cono de Imhoff es la metodología que permite una fácil visualización de la caída de las partículas, así como la medición del sedimento y la remoción de los lodos para su identificación. Posteriormente, para la caracterización, lo más indicado es realizar una revisión microscópica para tener una estadística de la distribución del tamaño de partícula y el tamizado húmedo, lo cual permite una adecuada distribución; adicionalmente, se requiere una determinación del contenido de grasa.

### Optimización

Para la optimización de la metodología se fijaron las siguientes condiciones:

Equipo de agitación: Heidolph RZR 2051 control, agitador de hoja BR10.

Equipo de medición: conos de sedimentación según Imhoff, de plástico, capacidad 1000mL.

Muestra patrón: licor de cacao, Mezcla B-22.

Para cada ensayo se definieron las condiciones y los factores que podían afectar los resultados, de acuerdo con la determinación.

### *Medida volumen de sólidos sedimentables*

Con base en la fracción volumétrica ( $\beta = 0.002$ ) de la muestra patrón, la determinación de sólidos sedimentables se realiza por sedimentación libre, fijando las condiciones volumen de agua (1000 mL), temperatura de preparación (agua a 92 °C de ebullición, Bogotá) y peso de muestra 12,50 g de licor de cacao, licor de cacao con lecitina y 36,05 g de producto terminado (chocolate con azúcar).

Las variables para optimizar, según las consideraciones para el desarrollo de la metodología, son: velocidad de agitación, tiempo de agitación y tiempo de lectura final de sedimento. La velocidad de agitación se estudia en un rango de 0-10.000 revoluciones por minuto, en intervalos de 500 r.p.m., cada uno con diez réplicas. El tiempo de agitación para revoluciones superiores a 3.500 r.p.m. fue de 10 segundos, y para revoluciones menores, dependiendo de la dispersión completa de la muestra.

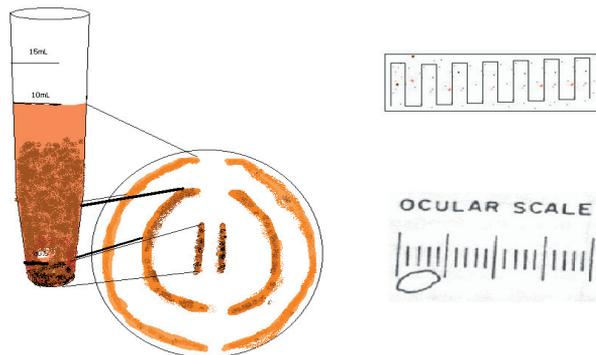
Para la lectura final del volumen de sedimentación se realizaron observaciones a tiempos de 1, 2, 3, 5, 10 y 15 minutos.

Después de establecidas las condiciones óptimas, se realizaron 30 réplicas para cada muestra, obteniendo los volúmenes de sedimento para cada una.

## Caracterización del sedimento

### *Distribución de tamaño de partículas del sedimento*

**Método óptico.** Establecidas las condiciones en la determinación del volumen de sedimento, y luego de realizar la medida, se retiró el sobrenadante dejando 10 mL de residuo en el cono de Imhoff, evitando generar turbulencia en el seno del líquido. Este residuo es transvasado a un tubo cónico para centrifuga de 15 mL, realizando 7 lavados con agua en ebullición, con el fin de retirar el contenido de grasa que generan los aglomerados de partículas. El sedimento fue retirado con pipeta Pasteur y se colocó sobre un papel de filtro, como se muestra en la Figura 1, dejando el ambiente hasta sequedad. Sobre una laminilla portaobjetos se tomaron muestras de diferentes puntos buscando representatividad, realizando la observación del diámetro de Martin en un microscopio óptico que tiene adaptado un micrómetro de escala 10.7  $\mu\text{m}$ , en una trayectoria en zigzag rectangular, garantizando no repetir la observación, hasta completar 900 partículas. Se realizaron 6 réplicas por cada muestra.



**Figura 1.** Esquema para la determinación de tamaños de partícula por método óptico.

Mediante histogramas para distribución de partículas, se determina el número de clases por la ley de Sturges y se grafican las frecuencias contra los rangos de tamaño, obteniendo las distribuciones de tamaño.

**Método de tamizado en húmedo.** Se realizó la prueba de sedimentación y se retiró el sobrenadante como se enunció anteriormente. Para la distribución de tamaño por microscopía, teniendo una batería de tamices (25 - 710 $\mu\text{m}$ -, 40 -425 $\mu\text{m}$ -, 80 -180 $\mu\text{m}$ -, 100 -150 $\mu\text{m}$ -, 200 -75 $\mu\text{m}$ -, 325 -45 $\mu\text{m}$ -, 400 -38 $\mu\text{m}$ - y 500 -25 $\mu\text{m}$ -) previamente tarados, se depositaron los 10 mL de sedimento en el centro de los tamices, dejando caer la muestra completamente. Se realizaron 7 lavados con agua en ebullición, para evitar la aglomeración de partículas por la grasa presente en el sedimento; se lavó el residuo de cada tamiz (interna y externamente) con agua en ebullición, retirando el primer tamiz y lavando la parte inferior dejando caer el líquido del lavado en el segundo. Se hizo lo mismo con todos los demás, se dejaron escurrir y se llevó la batería a secado en estufa, aproximadamente durante 1 hora, a 100 °C  $\pm$  0.1 °C. Posteriormente se colocaron en un desecador durante media hora y se pesaron, obteniendo el peso retenido en cada tamiz, por diferencia de peso.

### **Determinación del porcentaje de grasa y peso de sedimento seco**

Se aplica la prueba de sedimentación y, una vez retirado el sobrenadante del cono de sedimentación de Imhoff, se filtran los 10 mL en los cuales se encuentra contenido el sedimento. Con un papel de filtro Watman N° 2, se deja secar a temperatura ambiente, se determina el peso del sedimento seco por diferencia de peso y se determina el porcentaje de grasa por el método Soxhlet.

### **Peso de sedimento seco**

Una vez retirado el sobrenadante del cono de sedimentación de Imhoff, se filtran los 10 mL en los cuales se encuentra contenido el sedimento, por medio de un papel de filtro Watman N° 2, se dejan secar a temperatura ambiente y se determina el peso del sedimento por diferencia de peso.

### **Caracterización del sobrenadante**

#### ***Determinación de densidad del sobrenadante***

El sobrenadante se lleva a una temperatura de 70 °C, se homogeniza la muestra y se determina la densidad por picnómetro, el cual es pesado vacío y seco; luego se adiciona agua a 70 °C y se pesa, se lava, se seca y se adiciona el sobrenadante; se pesa y se determina la densidad del sobrenadante con referencia al agua.

#### ***Determinación de la viscosidad del sobrenadante***

El sobrenadante se lleva a una temperatura de 70 °C, se homogeniza la muestra y se determina la viscosidad, con un viscosímetro Brookfield Synchro-Lectric modelo RVT serie 60709.

### **Aplicación de la metodología a diferentes lotes**

Luego de estandarizadas las condiciones, se aplica la metodología a diferentes lotes de producto terminado y de procesos productivos con diferentes mecanismos de molienda y variedad de materias primas.

### **Aplicación de la metodología a lotes con diferente porcentaje de cascarilla en nibs**

Para determinar la incidencia del porcentaje de cascarilla en nibs en el sedimento, se realiza un ensayo con la mezcla patrón, con diferente porcentaje de cascarilla en nibs (c/n) (0.05 % y 2%). La premolienda se efectúa en un molino casero y posteriormente se traspasa al molino de bolas, a temperatura 70 °C; se descarga el molino a diferentes tiempos y se determina su granulometría.

### **Resultados**

#### ***Optimización***

En el análisis de la incidencia de las variables para la optimización de la metodología se encontró, según las consideraciones para su desarrollo:

Velocidad de agitación: 2.500 r.p.m.

Tiempo de agitación: 5 minutos

Tiempo de lectura de volumen de sedimento: 15 minutos.

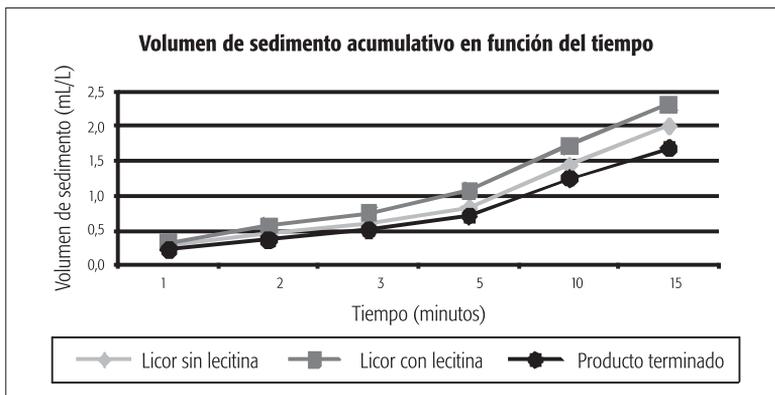
Condiciones donde se evidencia el mejor comportamiento de la emulsión-suspensión, repetitibilidad de las mediciones.

### **Medida volumen de sólidos sedimentables**

Luego de aplicada la metodología optimizada a las muestras de licor de cacao, licor de cacao con lecitina y producto terminado, se obtuvo un volumen de 2.0 mL con una desviación estándar de cero para licor sin lecitina (Tabla 3), lo cual se debe, posiblemente, a la graduación de la escala, la cual no permite realizar una lectura con mayor precisión que 0.5. La muestra con mayor variación es la muestra de licor con lecitina, y la de menor volumen de sedimento es la muestra producto terminado, lo que se explica por la presencia de azúcar, que modifica las características del medio dispersante, y la fuerte unión que tiene la lecitina por el azúcar, evitando la formación de micelas, que aumenten tanto el volumen de sedimento como el porcentaje de grasa en el azúcar. En la muestra de licor con lecitina, el aumento en volumen de sedimento puede ser generado por la formación de dichas micelas, ocasionado por la adición de lecitina (8). Teniendo en cuenta que la muestra de licor de cacao tiene un volumen de sedimento intermedio y su variación es la menor, podemos hablar de estabilidad de la emulsión, en las condiciones de trabajo. Los patrones de volumen de sedimento para las tres muestras siguen una tendencia clara y similar en las diferentes observaciones realizadas (1, 9, 10).

**Tabla 3.** Resultados de volumen de sedimento para las muestras.

	Licor sin lecitina	Licor con lecitina	Producto terminado
<b>Media</b>	2,0 mL/L	2,5 mL/L	1,6 mL/L
<b>S</b>	0.000	0.727	0.399
<b>n</b>	30	30	30
<b>Límites</b>	(2.5-1.9)	(3.0-1.6)	(2.0-1.3)

**Figura 2.** Gráfica de volumen de sedimento acumulado en el tiempo de las diferentes muestras.

## Caracterización del sedimento

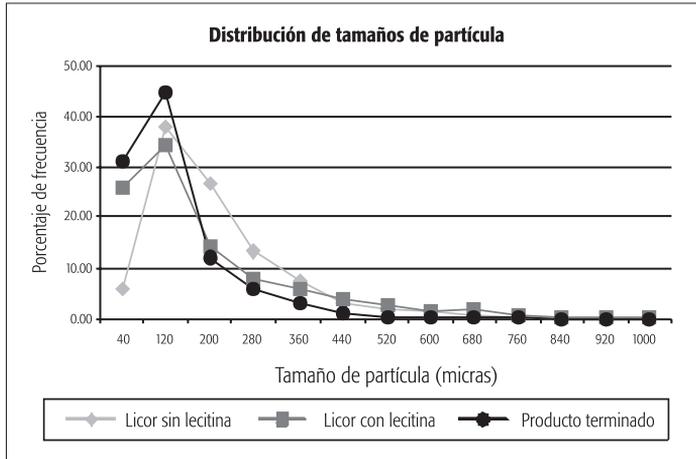
### Distribución de tamaño de partículas

**Método óptico.** Las distribuciones de tamaño de partícula son sometidas a tratamiento estadístico con el programa SAS. Según los resultados, se puede afirmar que no existe evidencia estadística de diferencia significativa entre las 6 réplicas de una misma muestra, pero sí existe diferencia estadísticamente significativa entre las diferentes muestras, lo cual nos permite tomar las seis réplicas como la población total de cada muestra de estudio.

Aunque las partículas más grandes están presentes en la muestra, en la distribución de los tamaños en el histograma su frecuencia es muy baja; además, la Figura 3 no muestra una distribución normal, debido a que las partículas de tamaños menores a las escala mínima del micrómetro (10.7 micras) no son observables. Adicionalmente, estas partículas, por su tamaño, demoraran más en sedimentar, con lo cual se puede asegurar que su presencia en la muestra es baja. La distribución por tamaño contra frecuencia muestra nuevamente, para licor con lecitina, una mayor dispersión en los datos, aun cuando su media no es la más grande en comparación con las otras muestras (Tabla 4).

**Tabla 4.** Resultados de distribuciones de tamaño de partícula por método óptico.

Muestra	Desviación típica	Media
Licor sin lecitina	133,61	208,4
Licor con lecitina	170,51	189,6
Producto terminado	109,57	132,5



**Figura 3.** Grafica de porcentajes de frecuencia en función de tamaño de partícula.

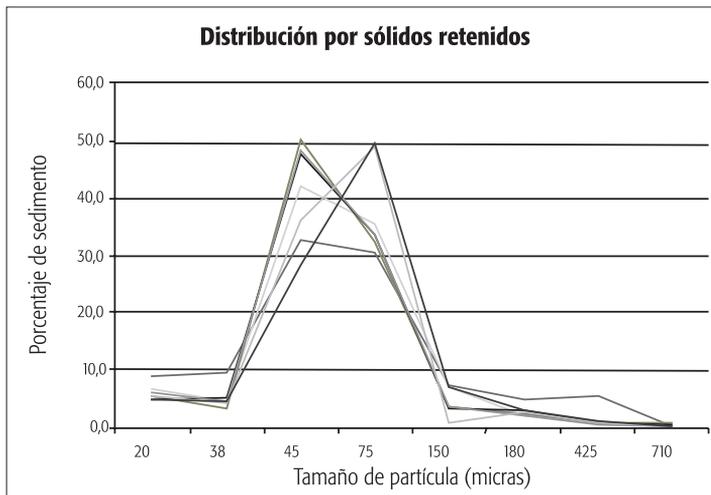
**Distribución de tamaños de partícula según peso retenido en malla**

Se realizó tamizado en húmedo para el sedimento proveniente de la muestra patrón (licor sin lecitina), como prueba que permita relacionar la distribución de tamaño de partícula de masa y número. Los porcentajes de sólidos retenidos en los diferentes tamices muestran relación con la distribución de tamaño de partícula por el método óptico. La mayoría de las partículas quedan retenidas en los tamices 400, 325, 200 y 100, mostrando entre ellas una similitud en tendencia. Si se tiene en cuenta que el tamaño máximo de partícula varía mucho para una misma tableta de chocolate (1), se puede afirmar que el método de granulometría no es una medida suficientemente específica, debido a que un mismo porcentaje de sólidos retenidos puede mostrar una distribución diferente de los tamaños de partícula.

**Determinación del porcentaje de grasa**

En cuanto al porcentaje de grasa, la muestra con un mayor valor es el licor con lecitina, que a su vez presenta mayor variación en el volumen de sedimento. Esto puede ser explicado por cuanto al presentarse una mayor tendencia a la aglomeración de partículas recubiertas con grasa, el volumen de sedimento observado aumenta con respecto a las otras muestras. Por otra parte, el emulsificante adicionado puede que-

dar libre, uniéndose a sí mismo y formando micelas que generan un aumento en volumen de sedimento y mayor contenido de grasa en éste. Si se considera que la lecitina es una mezcla de fosfolípidos naturales y triacilgliceroles, que se encuentra en una fase continua acuosa, la formación de micelas es altamente probable (8).



**Figura 4.** Grafica de porcentajes de peso de sedimento en función del tamaño de partícula.

**Tabla 5.** Resultado de porcentaje de grasa en sedimento de las diferentes muestras.

	<b>Licor sin lecitina</b>	<b>Licor con lecitina</b>	<b>Producto terminado</b>
<b>Media</b>	33,8 %	40,8 %	36,4 %
<b>S</b>	0.8622	1.1910	1.7224
<b>n</b>	9	9	9
<b>Límites</b>	(37,0-32,6)	(42,4-39,2)	(41,8-32,3)

### *Peso de sedimento seco*

Para cada muestra se encontró una relación entre el contenido de grasa y el peso del sedimento. La muestra que presenta mayor porcentaje de grasa, a su vez, presenta mayor peso del sedimento seco y también es la muestra que presenta mayor variación en el volumen de sedimento. Aun cuando las relaciones peso-porcentaje de grasa se mantienen, éstas no se encuentran relacionadas en la misma forma con el volumen de sedimento. Como el producto terminado es la muestra que menor volumen de sedimento presenta, pero su porcentaje de grasa y el peso del sedimento seco se encuentran entre las otras dos muestras, esto puede ser indicador de un efecto modificador en la velocidad de sedimentación debido a la presencia de azúcar en el sobrenadante (10).

**Tabla 6.** Resultado de peso seco del sedimento en las diferentes muestras.

	Licor sin lecitina	Licor con lecitina	Producto terminado
<b>Media</b>	0,4997	0,8360	0,5633
<b>S</b>	0,0302	0,0544	0,0328
<b>n</b>	8	8	8
<b>Límites</b>	(0.5652-0.4686)	(1.0756-0.7972)	(0.6102-0.4752)

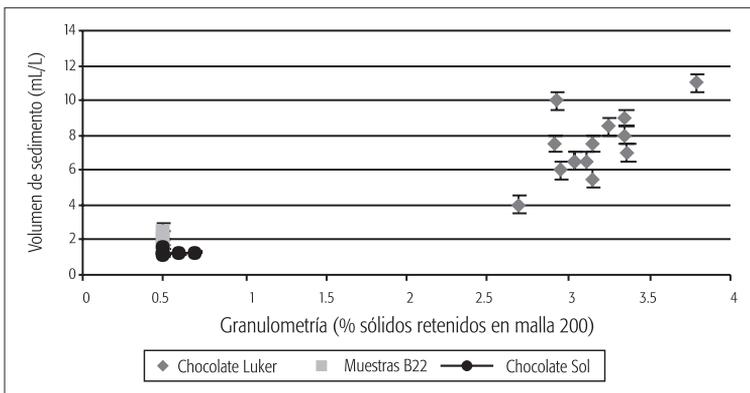
### Caracterización del sobrenadante

#### *Determinación de densidad y viscosidad del sobrenadante*

En la variable densidad y viscosidad del medio no se encuentra evidencia estadística de diferencia entre las medias y las varianzas de las muestras que permita relacionar estas medidas con el volumen de sólidos sedimentables, lo cual indica que estas pruebas no son indicadoras en las condiciones de estandarización de la metodología.

#### *Aplicación de la metodología a diferentes lotes*

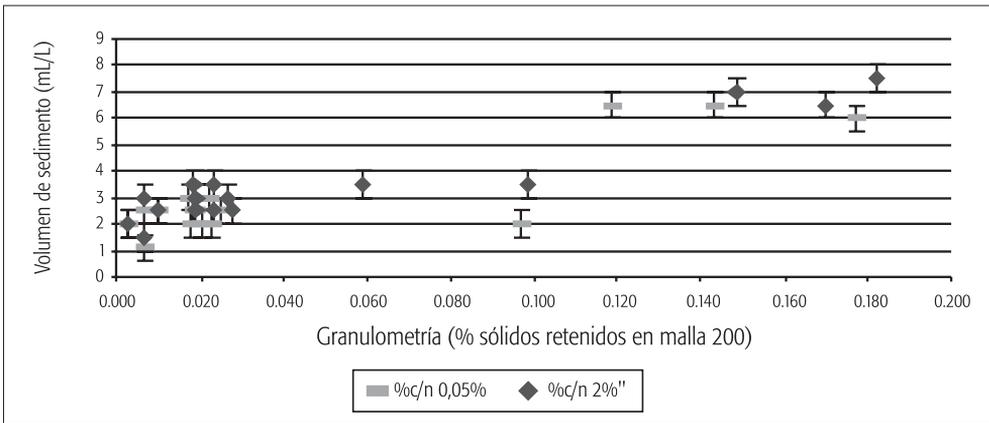
La metodología aplicada a diferentes lotes de producto terminado con la mezcla patrón presenta valores cercanos y dentro de los límites esperados para el producto terminado, mientras que al aplicar la metodología a diferentes lotes de producto terminado con un proceso productivo diferente y materias primas de otra variedad, se observa una tendencia en cuanto a volúmenes de sedimento en función de la granulometría. Sin embargo, los valores obtenidos se encuentran fuera de los límites determinados para la muestra licor con lecitina, que es el producto análogo con el cual se establecieron los límites.



**Figura 5.** Grafica de volumen de sedimento en función de la granulometría, para diferentes lotes de producto.

### Aplicación de la metodología a lotes con diferente porcentaje de cascarilla en nibs

La metodología muestra diferencias con respecto a las granulometrías; sin embargo, las muestras no son muy estables y se observa migración de la grasa, por la etapa de atemperado. Los resultados no son confiables en cuanto a extrapolación con el proceso industrial, pues las muestras no fueron sometidas al mismo mecanismo de premolienda y la migración de grasa, por un inadecuado atemperado, influye en la estabilidad de la emulsión.



**Figura 6.** Gráfica de volumen de sedimento en función de la granulometría, para diferentes lotes de producto.

## CONCLUSIONES

La metodología desarrollada para la determinación de volumen del sedimento y la caracterización de dicho sedimento, según las consideraciones y las variables fijas establecidas, proporciona una respuesta diferenciable para cada una de las muestras en las condiciones de optimización y, por tanto, puede ser aplicada como prueba rutinaria en control de calidad, indicadora del proceso de producción de una bebida derivada del cacao.

La caracterización del sedimento se realiza por método óptico y tamizado, observando una relación entre los dos métodos y una concentración de la mayoría de las partículas entre valores de 45 - 150 micras.

En las muestras de licor sin lecitina, el volumen de sedimento muestra una relación con el porcentaje de grasa y con su peso seco. No se observa el mismo comportamiento para el producto terminado con azúcar.

Las variables densidad y viscosidad del medio en las concentraciones de muestra trabajadas no son pruebas indicativas de una respuesta correlacionable con el volumen de sedimento.

La metodología es sometida a muestras provenientes de dos procesos productivos, con diferencias en la respuesta, por lo cual se debe estudiar la influencia que presentan las etapas de tosti3n y molienda, as3 como la influencia de las materias primas sobre la cantidad de sedimento, pues son las etapas del proceso productivo que difieren en las dos plantas de producci3n.

### AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecemos la colaboraci3n de Casa Luker S.A. por la facilitaci3n de las instalaciones y los equipos empleados en esta investigaci3n.

### BIBLIOGRAF3A

1. S. Beckett. *La ciencia del chocolate*. Editorial Acribia, S.A. 2000.
2. Metcalf & Eddy. *Ingenier3a de aguas residuales*, volumen 1. Tratamiento vertido y reutilizaci3n, tercera edici3n, Mc-Graw Hill, Espa3a 1995. p 50-61.
3. A. Torres. *Operaciones de transferencia de momentum y manejo de s3lidos - Aplicaciones*, Universidad Nacional de Colombia, Facultad de Ingenier3a, cap3tulo 4, *Sedimentaci3n*. pp. 53-106.
4. H. Schenk y Peschar R. (2004) "Understanding the structure of chocolate". *Radiation Physics and Chemistry*, **71**, 829-835.
5. A. Martin. "Physical Pharmacy", Cap. 16, *Micromeritics*. pp. 423-436.
6. T. Allen. "Powder sampling and particle size determination", *Elsevier*, 2003. pp.142-207.
7. M. Cortissoz. "Estandarizaci3n de los procedimientos para la determinaci3n del tama3o de part3culas de materias primas definidas como cr3ticas en los procesos de fabricaci3n empleando el analizador Beckman Coulter LS200". Tesis Qu3mico Farmac3utico, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Colombia, 2002. pp. 20-33.
8. B. Schantz y H. Rohm (2005). "Influence of lecithin - PGPR blends on the rheological properties of chocolate". *Lebensm - Wiss. U. Technol.* **38**, 41-45.

9. S. Saeseaw, J. Shiowatana y A. Siripinyanond (2005). "Sedimentation field-flow fractionation: size characterization of food materials. *Journal of Food Engineering*, **38**, 777-786.
10. D. Dhonsi y A. Stapley (2005) "The effect of shear rate, temperature, sugar and emulsifier on the tempering of cocoa butter". *Journal of Food Engineering*, Accepted 2, Augusta, 2005.
11. C. Servais, R. Jones y I. Roberts (2002). "The influence of particle size distribution on the processing of food". *Journal of Food Engineering*, **51**, 201-208.